



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université ABOUBEKR BELKAÏD- Tlemcen  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de  
l'Univers  
Département de Biologie  
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à  
l'Environnement « LAMAABE »



## MEMOIRE

Présenté par

Melle BASSAID Rania

Mme HADJ MORTHAR Aya

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Microbiologie Fondamentale

**Thème**

**L'inhibition de la formation du biofilm bactérien d'origine hospitalière par des nanoparticules biosynthétisées**

Soutenu le 26/06/2025, devant le jury composé de :

Présidente	Mme HASSAINE Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme KARA TERKI IbtiSEM	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	Mme BELLIFA Samia	MCA	Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2024-2025**

## Remerciements

Au terme de ce travail de mémoire, il nous est particulièrement agréable d'exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui, par leur contribution, ont rendu sa réalisation possible.

Ce mémoire a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université ABOUBEKR BELKAID - Tlemcen, sous la direction bienveillante de Monsieur le Professeur REBIAHI Sidahmed, à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent, en premier lieu, à notre directrice de mémoire, Madame BELLIFA Samia, Maître de Conférences de classe A, à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université ABOUBEKR BELKAID – Tlemcen. Nous la remercions pour sa confiance, son encadrement scientifique rigoureux, sa disponibilité constante et ses conseils avisés qui nous ont guidés et encouragés tout au long de cette recherche.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus respectueux aux membres du jury. Nous exprimons toute notre gratitude à Madame la Professeure HASSAINE Hafida, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury, ainsi qu'à Madame KARA TERKI Ibtissem, Maître de Conférences de classe A, à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université ABOUBEKR BELKAID – Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Leurs lectures attentives et leurs remarques constructives ont été essentielles à la finalisation de cette recherche.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur BENAMAR Ibrahim, Maître de Conférences de Classe B à l'Université de l'Aghouat, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail en acceptant d'en être l'un des rapporteurs. Sa contribution, ses conseils pertinents et le temps qu'il nous a consacré ont grandement enrichi ce manuscrit.

Notre reconnaissance va également à toute l'équipe du laboratoire LAMAABE. Une pensée particulière à CHIALI Amel, BOUSHABA Mohamed Soufiane et DOULI Zahra pour leur aide précieuse, leur bienveillance et leur esprit d'entraide, qui ont grandement contribué à créer une ambiance de travail exceptionnelle.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur SELLES ainsi qu'à Monsieur BENMANSOUR(CRAPC) pour leur précieuse assistance technique et leur constante disponibilité

Nos remerciements s'adressent aussi à l'ensemble de nos enseignants pour la qualité de leur enseignement, leur disponibilité et leur engagement, qui ont largement contribué à la richesse de notre formation.

En dernier lieu, nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à celles et ceux dont le soutien moral a été un véritable pilier tout au long de ce parcours. Nos remerciements les plus sincères vont aussi à nos amis et collègues BENDIMERAD Hidayet et ABDELLAHI Sidi, pour leur présence rassurante, leur entraide et leur soutien amical constant.

## Dédicace

**Je dédie ce travail,**

**À mon passé et à mes épreuves,**

Car sans eux, je n'aurais jamais su ce dont j'étais réellement capable.

**À mes deux précieuses filles,**

Malak et Bayane, douce lumière de mes jours.

**À ma famille, véritable pilier de mon chemin,**

**À SEDDIKI Abdelkader et SEDDIKI Aïcha,**

Mes grands-parents de cœur avec qui j'ai grandi et qui m'ont offert un amour inoubliable. Ils ne sont plus là, mais je leur dois beaucoup.

**À mon père, Ahmed, et à ma mère, CHENNOUF Latifa,**

Pour leur présence et leur soutien dans les moments où j'en ai eu besoin.

**À mes chers frères et sœurs Djihad et sa petite famille, Oussama, Housseem Eddine et**

**Sara** qui ont toujours cru en moi, même lorsque je doutais de moi-même.

**Je dédie enfin ce travail à tous ceux qui m'ont soutenue, de près ou de loin, tout au long de ce parcours.**

**HADJ MOKHTAR Aya**

**Dédicace**

**Je dédie ce travail,**

**Tout d'abord, à celle qui m'a appris la force dans la douceur et la patience dans le  
silence, ma chère maman METAICHE Nouria,**

Source intarissable d'amour et de courage.

**À mon père Mustapha,**

Exemple de persévérance et de sagesse,

**À mes trois frères, Ahmed, Ilyas et Djawad,**

Piliers de mon équilibre,

**À ma sœur Sakina,**

Pour sa présence, son écoute et ses encouragements,

**Enfin, à tous ceux qui ont contribué à mon parcours et à ma réussite.**

**BASSAID Rania**

## **Abstract**

Bacterial biofilms are complex structures that provide bacteria with strong resistance and persistence in various environments, particularly in medical settings. These microorganisms can adhere to medical devices, such as urinary catheters, and cause chronic infections that are difficult to eradicate. In response to the growing emergence of antibiotic resistance, new anti-biofilm strategies are being explored, notably the use of nanoparticles biosynthesized by microorganisms. The objective of this study was to produce nanoparticles from hospital-derived bacteria and to evaluate their antibacterial and anti-biofilm activities against these same strains. Five bacterial strains isolated from urinary catheters were identified through morphological examinations and biochemical tests. The biofilm-forming capacity was assessed using Congo Red Agar (CRA) and the tissue culture plate (TCP) methods. Under controlled experimental conditions, silver, copper, and zinc nanoparticles were biosynthesized by these strains. Finally, the antibacterial and anti-biofilm activities of the obtained nanoparticles were tested against the strain with the highest nanoparticle production yield as well as the one with the strongest biofilm-forming ability. The results revealed a significant activity of these nanoparticles, highlighting their potential as a promising alternative for the prevention and treatment of infections associated with bacterial biofilms. This study thus opens encouraging perspectives in the fight against healthcare-associated infections.

**Keywords:** Anti-biofilm strategy, Antibiotic resistance, Biofilm, Nanoparticles, Urinary catheters.

## ملخص

تُعدّ الأغشية الحيوية البكتيرية تراكيب معقدة تمنح البكتيريا قدرة عالية على المقاومة و البقاء في بيئات متعددة، لا سيما في الوسط الطبي. يمكن لهذه الكائنات الدقيقة أن تلتصق بالأجهزة الطبية مثل القساطر البولية، مسببةً التهابات مزمنة يصعب التخلص منها. و نظرًا للتزايد المستمر في مقاومة المضادات الحيوية، تُستكشف حاليًا استراتيجيات بديلة لمكافحة الأغشية الحيوية، من بينها استخدام الجسيمات النانوية المُنتجة حيويًا بواسطة الكائنات الدقيقة. هدفت هذه الدراسة إلى إنتاج جسيمات نانوية من سلالات بكتيرية ذات منشأ استشفائي، ثم تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا و المضاد لتكوين الأغشية الحيوية ضد السلالات نفسها. تم عزل خمس سلالات بكتيرية من القساطر البولية، و تحديدها باستخدام الفحوصات الشكلية و الاختبارات الكيميائية الحيوية. كما تم تقييم قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي باستخدام وسط أجار الكونغو الأحمر و طريقة أطباق زراعة الأنسجة. تحت ظروف تجريبية مضبوطة، أُنجزت عملية إنتاج جسيمات نانوية من الفضة، النحاس و الزنك بواسطة هذه السلالات. و أُجري اختبار النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للغشاء الحيوي لهذه الجسيمات على السلالة الأعلى إنتاجًا للجسيمات النانوية، و كذلك السلالة الأكثر قدرة على تكوين الغشاء الحيوي. و قد كشفت النتائج عن فعالية ملحوظة للجسيمات النانوية المنتجة، مما يؤكد إمكانيتها كخيار واعد للوقاية و العلاج من الالتهابات المرتبطة بالأغشية الحيوية البكتيرية. تفتح هذه الدراسة آفاقًا واعدة في مجال مكافحة العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية.

**الكلمات المفتاحية:** الجسيمات النانوية، استراتيجية مكافحة الغشاء الحيوي البكتيري، الغشاء الحيوي البكتيري، القساطر البولية، مقاومة المضادات الحيوية.

## **Résumé**

Les biofilms bactériens sont des structures complexes conférant aux bactéries une forte résistance et une grande persistance dans divers environnements, notamment en milieu médical. Ces microorganismes peuvent adhérer aux dispositifs médicaux, tels que les sondes urinaires, et provoquer des infections chroniques difficiles à éradiquer. Face à l'émergence croissante de la résistance aux antibiotiques, de nouvelles stratégies anti-biofilm sont explorées, notamment l'utilisation de nanoparticules biosynthétisées par des microorganismes. L'objectif de cette étude était de produire des nanoparticules à partir de bactéries d'origine hospitalière, puis d'évaluer leur activité antibactérienne et anti-biofilm contre ces mêmes souches. Cinq souches bactériennes, isolées de sondes urinaires, ont été identifiées par des examens morphologiques et des tests biochimiques. La capacité de formation de biofilm a été évaluée à l'aide du milieu Congo Red Agar (CRA) et de la méthode des plaques de culture tissulaire (TCP). Dans des conditions expérimentales contrôlées, la biosynthèse de nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc a été réalisée par ces souches. Enfin, l'activité antibactérienne et anti-biofilm des nanoparticules obtenues a été testée contre la souche présentant le rendement le plus élevé en production de nanoparticules ainsi que celle montrant la plus forte capacité de formation de biofilm. Les résultats ont révélé une activité notable de ces nanoparticules, mettant en évidence leur potentiel en tant qu'alternative prometteuse pour la prévention et le traitement des infections associées aux biofilms bactériens. Cette étude ouvre ainsi des perspectives encourageantes dans la lutte contre les infections liées aux soins.

**Mots clés :** Biofilm, Nanoparticules, Résistance aux antibiotiques, Sondes urinaires, Stratégie anti-biofilm.

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	4
Chapitre 1 : Biofilms bactériens d'origine hospitalière : Un défi thérapeutique.....	5
1 Historique et émergence du concept de biofilm bactérien .....	5
2 Définition des biofilms bactériens .....	5
3 Composition de la matrice extracellulaire .....	5
4 Etapes de formation d'un biofilm .....	6
4.1 Attachement initial.....	6
4.2 Formation de la matrice extracellulaire .....	6
4.3 Maturation.....	6
4.4 Détachement et dissémination .....	7
5 Biofilms et complications liées aux implants médicaux .....	7
5.1 Prothèses articulaires .....	8
5.2 Dispositifs cardiovasculaires implantables.....	8
5.3 Implants mammaires .....	8
5.4 Cathéter veineux centraux .....	8
5.5 Sondes urinaires : agents pathogènes, formation et risques cliniques .....	9
6 Impact clinique des biofilms dans les infections liées aux dispositifs médicaux : résistance aux antibiotiques.....	9
7 Stratégies de lutte contre les biofilms .....	10
7.1 Agents antiadhésifs .....	10
7.2 Bactériophages.....	11

7.3	Inhibiteurs du quorum sensing.....	11
7.4	Nanoparticules .....	11
Chapitre 2 : Nanoparticules : Des agents antibactériens et anti-biofilm .....		12
1	Nanotechnologie .....	12
2	Rôle de la nanotechnologie en microbiologie médicale .....	12
3	Généralités sur les nanoparticules .....	12
3.1	Définition des nanoparticules .....	12
3.2	Classification des nanoparticules.....	13
3.2.1	Nanoparticules carbonées.....	13
3.2.2	Nanoparticules métalliques .....	13
3.2.3	Nanoparticules céramiques.....	13
3.2.4	Nanoparticules semi-conductrices.....	13
3.2.5	Nanoparticules polymériques .....	13
3.2.6	Nanoparticules lipidiques .....	14
3.3	Sources de nanoparticules.....	14
3.3.1	Nanoparticules accidentelles .....	14
3.3.2	Nanoparticules manufacturées .....	14
3.3.3	Nanoparticules naturelles .....	14
3.4	Synthèse des nanoparticules .....	14
3.4.1	Approche descendante (top-down).....	15
3.4.1.1	Broyage mécanique .....	15
3.4.1.2	Ablation laser.....	15
3.4.1.3	Pulvérisation cathodique.....	16
3.4.1.4	Lithographie.....	16
3.4.2	Approche ascendante (bottom-up) .....	16
3.4.2.1	Dépôt chimique en phase vapeur (Chemical Vapor Deposition/CVD).....	16
3.4.2.2	Méthode de fabrication sol-gel .....	17

3.4.2.3	Co-précipitation .....	17
3.4.2.4	Méthode hydrothermale .....	17
3.4.2.5	Synthèse verte de nanoparticules .....	17
3.5	Activité biologique des nanoparticules .....	18
3.5.1	Mécanisme antibactérien .....	18
3.5.1.1	Stress oxydatif .....	19
3.5.1.2	Ions métalliques dissous .....	19
3.5.1.3	Mécanisme non oxydatif .....	19
3.5.2	Interaction nanoparticules-biofilm .....	20
3.5.3	Transfert des nanoparticules à proximité du biofilm .....	20
3.5.3.1	Fixation à la surface du biofilm .....	21
3.5.3.2	Pénétration et migration des nanoparticules au sien du biofilm .....	21
<b>MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
1	Lieu d'étude .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2	Origine des souches bactériennes .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
3	Revivification des souches bactériennes .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4	Identification des souches bactériennes .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1	Caractères macroscopiques des souches .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.2	Caractères biochimiques des souches par la galerie API 20E .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5	Profil de sensibilité et/ou de résistance aux antibiotiques .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.1	Méthode de diffusion en disques .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.1.1	Technique .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
5.1.2	Lecture .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6	Etude de la formation de biofilm .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.1	Méthode de la culture sur Rouge Congo Agar (RCA) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.1.1	Technique .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

6.1.2	Lecture.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.2	Méthode de la plaque de culture de tissus (TCP) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.2.1	Technique .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
6.2.2	Lecture.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7	Biosynthèse des nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc par voie microbienne	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
	<b>Bookmark not defined.</b>	
7.1	Biosynthèse des nanoparticules d'argent.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.1.1	Préparation de milieu de culture.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.1.2	Préparation des cultures bactériennes.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.1.3	Préparation de la solution d'argent.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.1.4	Production des nanoparticules d'argent .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.1.5	Récupération des nanoparticules .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.2	Biosynthèse des nanoparticules de cuivre .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
7.3	Biosynthèse des nanoparticules de zinc.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8	Caractérisation des nanoparticules biosynthétisées .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.1	La spectrophotométrie UV-visible .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
8.2	La spectrométrie infrarouge à transformée de fourier (FTIR)	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
	<b>defined.</b>	
8.3	La microscopie électronique à balayage (MEB) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
9	Activité biologique des nanoparticules biosynthétisées.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
9.1	Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
	<b>Bookmark not defined.</b>	
9.2	Activité anti-biofilm des nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
	<b>Bookmark not defined.</b>	
	<b>RESULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1	Identification des souches bactériennes .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.1	Caractères macroscopiques des souches.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.2	Caractères biochimiques des souches .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

- 2 Profil de sensibilité et/ou de résistance aux antibiotiques..**Error! Bookmark not defined.**
  - 2.1 Profil de sensibilité et/ou de résistance aux antibiotiques d'*Enterobacteraerogenes*  
**Error! Bookmark not defined.**
  - 2.2 Profil de sensibilité et/ou de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* .....**Error! Bookmark not defined.**
- 3 Etude de la formation de biofilm .....**Error! Bookmark not defined.**
  - 3.1 Méthode de la culture sur Rouge Congo Agar (RCA)**Error! Bookmark not defined.**
  - 3.2 Méthode de la plaque de culture de tissus (TCP) .....**Error! Bookmark not defined.**
- 4 Biosynthèse des nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc par voie microbienne**Error! Bookmark not defined.**
  - 4.1 Préparation des cultures bactériennes .....**Error! Bookmark not defined.**
  - 4.2 Préparation de la solution d'argent, de cuivre et de zinc**Error! Bookmark not defined.**
  - 4.3 Biosynthèse des nanoparticules .....**Error! Bookmark not defined.**
  - 4.4 Récupération des nanoparticules .....**Error! Bookmark not defined.**
- 5 Caractérisation des nanoparticules biosynthétisées .....**Error! Bookmark not defined.**
  - 5.1 La spectrophotométrie UV-visible .....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.1.1 Nanoparticules d'argent .....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.1.2 Nanoparticules de cuivre .....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.1.3 Nanoparticules de zinc .....**Error! Bookmark not defined.**
  - 5.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.2.1 Nanoparticules d'argent .....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.2.2 Nanoparticules de cuivre .....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.2.3 Nanoparticules de zinc .....**Error! Bookmark not defined.**
  - 5.3 Microscopie Électronique à Balayage (MEB).....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.3.1 Nanoparticules d'argent .....**Error! Bookmark not defined.**
    - 5.3.2 Nanoparticules de Cuivre et de zinc .....**Error! Bookmark not defined.**

- 6 Activité biologique des nanoparticules biosynthétisées.....**Error! Bookmark not defined.**
- 6.1 Activité antibactérienne des nanoparticules biosynthétisées**Error! Bookmark not defined.**
- 6.1.1 Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent**Error! Bookmark not defined.**
- 6.1.2 Activité antibactérienne des nanoparticules de cuivre**Error! Bookmark not defined.**
- 6.1.3 Activité antibactérienne des nanoparticules de zinc**Error! Bookmark not defined.**
- 6.2 Activité anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisées**Error! Bookmark not defined.**

<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	60
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	25
<b>ANNEXES</b> .....	37
Abstract .....	80
ملخص .....	43
Résumé .....	44

## Liste des abréviations

**Ag NPs** : Nanoparticules d'argent

**AK** : Amikacine

**AMP** : Ampicilline

**AMPs** : Antimicrobial Peptides

**API** : Appareillage et Procédé d'Identification

**AT** : Aztréonam

**AUG** : Amoxicilline-Acide clavulanique

**BHIB** : Brain Heart Infusion Broth

**CFM** : Céfixime

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CN** : Céfalexine

**CRO** : Ceftriaxone

**CTX** : Céfotaxime

**Cu NPs** : Nanoparticules de cuivre

**CVD** : Chemical Vapor Deposition

**DO** : Densité Optique

**DOt** : Densité Optique de témoin

***E. aerogenes*** : *Enterobacter aerogenes*

***E. cloacae*** : *Enterobacter cloacae*

**EPS** : Extracellular Polymeric Substances

**F** : Nitrofurantoïne

**FEP** : Céfépime

**FF** : Fosfomycine

**FOX** : Céfoxitine

**FTIR** : Fourier Transform Infrared Spectroscopy

**IPM** : Imipénème

**LB** : Lysogeny Broth

**MEB** : Microscopie Électronique à Balayage

**MgO NPs** : Nanoparticules d'oxyde de magnésium

**NA** : Acide nalidixique

**NPs** : Nanoparticules

***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*

**PRL** : Pipéracilline

**QS** : Quorum Sensing

**QSs** : Quorum Sensing Inhibitors

**RCA** : Rouge Congo Agar

**ROS** : Reactive Oxygen Species

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*

**SPR** : Surface Plasmon Resonance

**STX** : Triméthoprime-sulfaméthoxazole

**TCP** : Tissue Culture Plate

**TOB** : Tobramycine

**Zn NPs** : Nanoparticules de zinc

## Liste des figures

Figure 1: Processus de formation du biofilm sur une surface appropriée .....	7
Figure 2: Mécanisme de résistance aux antibiotiques des biofilms .....	10
Figure 3: Approche descendante .....	15
Figure 4: Approche ascendante .....	16
Figure 5: Mécanisme antibactérien des nanoparticules.....	20
Figure 6: Lecteur ELISA.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 7: Spectrophotométrie UV-visible (Perkin Elmer Lambda 25)	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 8: Spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourier (Perkin Elmer Spectrum version 10.4.0).....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 9: Microscope électronique à balayage (Hitachi TM-1000)	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 10: Aspect morphologique des colonies de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur gélose au cétrimide .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 11: Aspect morphologique des colonies d' <i>Enterobacter aerogenes</i> sur gélose MacConkey .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 12: Aspect morphologique des colonies d' <i>Enterobacter cloacae</i> sur gélose MacConkey .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 13: Aspect morphologique des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose Chapman .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 14: Biotype 1 – 2236042 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 15: Biotype 2 – 6334042 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 16: Biotype 3 – 7335773 d' <i>Enterobacter aerogenes</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 17: Biotype 4 – 7335573 d' <i>Enterobacter cloacae</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 18: Antibiogramme de la souche d' <i>Enterobacter aerogenes</i> 7335773 testée .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 19: Antibiogramme de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 6334042 testée .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 20: Phénotype d' <i>Enterobacter aerogenes</i> 7335773 sur RCA	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 21: Phénotype de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2236042 sur RCA	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

Figure 22: Capacité de la formation de biofilm dans la microplaque TCP **Error! Bookmark not defined.**

Figure 23: Biosynthèse des nanoparticules d'argent après incubation **Error! Bookmark not defined.**

Figure 24: Biosynthèse des nanoparticules de cuivre après incubation **Error! Bookmark not defined.**

Figure 25: Biosynthèse des nanoparticules de zinc après incubation **Error! Bookmark not defined.**

Figure 26: Solutions de nanoparticules pures.....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 27: Spectres d'absorption UV-visible des nanoparticules d'argent **Error! Bookmark not defined.**

Figure 28: Spectres d'absorption UV-visible des nanoparticules de cuivre **Error! Bookmark not defined.**

Figure 29: Spectres d'absorption UV-visible des nanoparticules de zinc **Error! Bookmark not defined.**

Figure 30: Spectre FTIR de nanoparticules d'argent .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 31: Spectre FTIR de nanoparticules de cuivre .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 32: Spectre FTIR de nanoparticules de zinc .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 33: Micrographie MEB des nanoparticules d'argent (grossissement  $\times 5000$ ) ..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 34: Micrographie MEB des nanoparticules de cuivre (grossissement  $\times 5000$ ) ..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 35: Micrographie MEB des nanoparticules de zinc (grossissement  $\times 5000$ )..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 36: Activité antibactérienne des Ag NPs contre *Pseudomonas aeruginosa* 6334042 .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 37: Activité antibactérienne des Ag NPs contre *Enterobacter aerogenes* 7335773 .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 38: Activité antibactérienne des Cu NPs contre *Pseudomonas aeruginosa* 6334042 .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 39: Activité antibactérienne des Cu NPs contre *Enterobacter aerogenes* 7335773 .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 40: Activité antibactérienne des Zn NPs contre *Pseudomonas aeruginosa* 6334042 .....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 41: Activité antibactérienne des Zn NPs contre *Enterobacter aerogenes* 7335773

.....**Error! Bookmark not defined.**

Figure 42: Activité anti-biofilm des nanoparticules (Ag NPs, Cu NPs et Zn NPs) sur

*Pseudomonas aeruginosa* 6334042.....**Error! Bookmark not defined.**

## Liste des tableaux

Tableau 1: Préparation de la solution d'argent.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 2: Préparation de la solution de cuivre .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 3: Préparation de la solution de zinc.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 4: Illustration d'une microplaque d'évaluation de l'activité antibactérienne .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 5: Illustration d'une microplaque d'évaluation de l'activité anti-biofilm .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 6: Sensibilité aux antibiotiques d' <i>Enterobacter aerogenes</i> 7335773.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 7: Sensibilité aux antibiotiques de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 6334042.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 8: Capacité de la formation de slime sur gélose Rouge Congo .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 9: Informations sur les souches bactériennes .....	38
Tableau 10: Fiche technique des galeries API 20E.....	40
Tableau 11: Souches bactériennes avec biotypes.....	41

# ***INTRODUCTION***

Les biofilms constitués de communautés bactériennes organisées au sein d'une matrice extracellulaire autogénérée, représentent un enjeu majeur en milieu clinique en raison de leur tolérance accrue aux agents antimicrobiens. Ces structures peuvent adhérer à une grande variété de surfaces, notamment aux dispositifs médicaux tels que les prothèses articulaires, les cathéters et les sondes urinaires. L'étude des mécanismes de formation des biofilms, ainsi que des stratégies visant à les prévenir ou à les éliminer, apparaît donc essentielle pour améliorer la conception et la performance des dispositifs médicaux (**Azeem et al., 2025**).

Parallèlement, l'usage intensif et souvent inapproprié des antibiotiques a favorisé l'émergence de bactéries multirésistantes, faisant de la résistance aux antimicrobiens une crise sanitaire mondiale. Ce phénomène est d'autant plus préoccupant que l'industrie pharmaceutique se désengage progressivement du développement de nouvelles molécules antimicrobiennes, rendant certaines infections de plus en plus difficiles à traiter et augmentant les risques de complications médicales (**Bo et al., 2024**).

Dans ce contexte, l'identification de nouvelles approches thérapeutiques constitue une urgence en santé publique.

La nanotechnologie offre des perspectives innovantes pour répondre à ces défis, notamment dans la prévention et le traitement des infections liées aux biofilms (**Campos et al., 2025**), ainsi que dans la lutte contre les pathogènes présentant une résistance croissante aux antimicrobiens (**Ioannou et al., 2024**). En particulier, les nanoparticules biosynthétisées, issues de la synthèse verte, à partir d'organismes vivants tels que les plantes, les bactéries ou les champignons, font l'objet d'un intérêt croissant en raison de leurs propriétés biologiques remarquables et de leur potentiel d'application dans le domaine biomédical (**Kazemi et al., 2023**).

Cela soulève une problématique centrale, les nanoparticules biosynthétisées peuvent-elles représenter une solution efficace pour limiter la formation des biofilms sur les dispositifs médicaux ?

La présente étude vise à évaluer la capacité des souches bactériennes d'origine hospitalière, isolées à partir de sondes urinaires, à former des biofilms, à produire des nanoparticules par voie biologique puis à examiner l'activité antibactérienne et anti-biofilm de ces nanoparticules biosynthétisées à l'encontre de ces mêmes souches pathogènes.

Ce travail est structuré de la manière suivante :

- La première partie présente une synthèse bibliographique portant, d'une part, sur les biofilms associés aux dispositifs médicaux et d'autre part sur l'utilisation des nanoparticules en tant qu'agents antibactériens et anti-biofilm ;
- La deuxième partie est consacrée à la description du matériel utilisé et des méthodes expérimentales mises en œuvre ;
- La troisième partie expose les résultats obtenus accompagnés d'une analyse et d'une discussion critique ;
- Enfin, une conclusion générale récapitule les principaux résultats et propose des perspectives de recherche.

***SYNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

## Chapitre 1 : Biofilms bactériens d'origine hospitalière : Un défi thérapeutique

### 1 Historique et émergence du concept de biofilm bactérien

La formation de biofilms constitue une stratégie de survie permettant aux bactéries de persister dans des environnements variés. L'existence de ces structures a été rapportée dès 1683 par Antoni van Leeuwenhoek, qui à l'aide d'un microscope rudimentaire, a décrit pour la première fois des communautés microbiennes fixées à la surface de ses dents. Néanmoins, ce mode de vie microbien n'a fait l'objet d'une réelle attention en microbiologie médicale qu'à partir des années 1970, lorsque Nils Høiby a mis en évidence une corrélation entre des infections persistantes et des agrégats bactériens chez des patients atteints de mucoviscidose (Vestby *et al.*, 2020). Parallèlement, J. William Costerton et ses collègues ont proposé en 1978 le terme « biofilm » pour désigner des communautés bactériennes attachées aux surfaces et entourées d'une matrice extracellulaire. Cette définition a posé les bases du concept actuel de biofilm en microbiologie, aussi bien dans les domaines cliniques qu'environnementaux (Chattopadhyaya *et al.*, 2022).

### 2 Définition des biofilms bactériens

Les bactéries privilégient une organisation en biofilms, des communautés structurées qui leur confèrent des avantages adaptatifs dans des environnements variables. Ces structures, présentes sur des surfaces biotiques ou abiotiques, offrent aux cellules une résistance accrue par rapport aux formes planctoniques (libres). Les biofilms constituent un microenvironnement complexe, favorisant les interactions intercellulaires et la communication avec le milieu environnant. Cette organisation permet aux bactéries, protégées par une matrice extracellulaire, de développer une tolérance élevée face à divers stress, notamment les défenses immunitaires de l'hôte, les agents antimicrobiens (antibiotiques et désinfectants), les forces mécaniques ainsi que d'autres conditions externes défavorables (Agarwal *et al.*, 2025).

### 3 Composition de la matrice extracellulaire

La formation des biofilms bactériens dépend étroitement de la production de substances polymériques extracellulaires (EPS), essentielles à l'initiation, à la cohésion et à la stabilité de ces communautés microbiennes. Ces EPS d'origine microbienne, favorisent la liaison cellulaire, la capture de particules environnantes ainsi que l'adhésion aux surfaces. Composées majoritairement de polysaccharides, protéines, acides nucléiques, lipides et autres

biomolécules, elles constituent une matrice tridimensionnelle multifonctionnelle qui assure la protection des cellules bactériennes, établit un microenvironnement physico-chimique hétérogène et facilite la diffusion des nutriments via des pores aqueux. Cette matrice se caractérise notamment par une abondance de groupements chargés négativement et de zones hydrophobes (Lu *et al.*, 2024).

#### 4 Etapes de formation d'un biofilm

La formation des biofilms bactériens repose sur un processus complexe, structuré en plusieurs phases (Figure 1). Malgré une certaine variabilité liée à la diversité des espèces, ces étapes suivent généralement un enchaînement similaire, débutant par un attachement initial à une surface, puis une adhésion bactérienne accompagnée de la sécrétion de substances polymériques extracellulaires. Ce processus se poursuit par la maturation du biofilm, caractérisée par le développement de colonies structurées et s'achève par la dissémination des cellules, favorisant la colonisation de nouveaux sites et la formation de nouveaux biofilms (Zhao *et al.*, 2023).

##### 4.1 Attachement initial

L'adhésion bactérienne débute par un contact aléatoire entre des bactéries planctoniques et une surface, suivi d'une fixation réversible facilitée par des appendices bactériens ou des forces physiques. Ce processus est modulé par divers facteurs tels que la nature de la surface, les caractéristiques cellulaires et les conditions environnementales. Plusieurs interactions physico-chimiques interviennent et leur effet combiné conduit à une adhésion irréversible et à la formation d'une monocouche bactérienne (Sharma *et al.*, 2023).

##### 4.2 Formation de la matrice extracellulaire

Après la formation de microcolonies, les bactéries produisent une matrice extracellulaire riche en substances polymériques extracellulaires, elle permet aux bactéries de survivre dans des conditions stressantes (la faible disponibilité en oxygène et en nutriments, les stress osmotiques élevés et la présence d'antibiotiques) (Shree *et al.*, 2023).

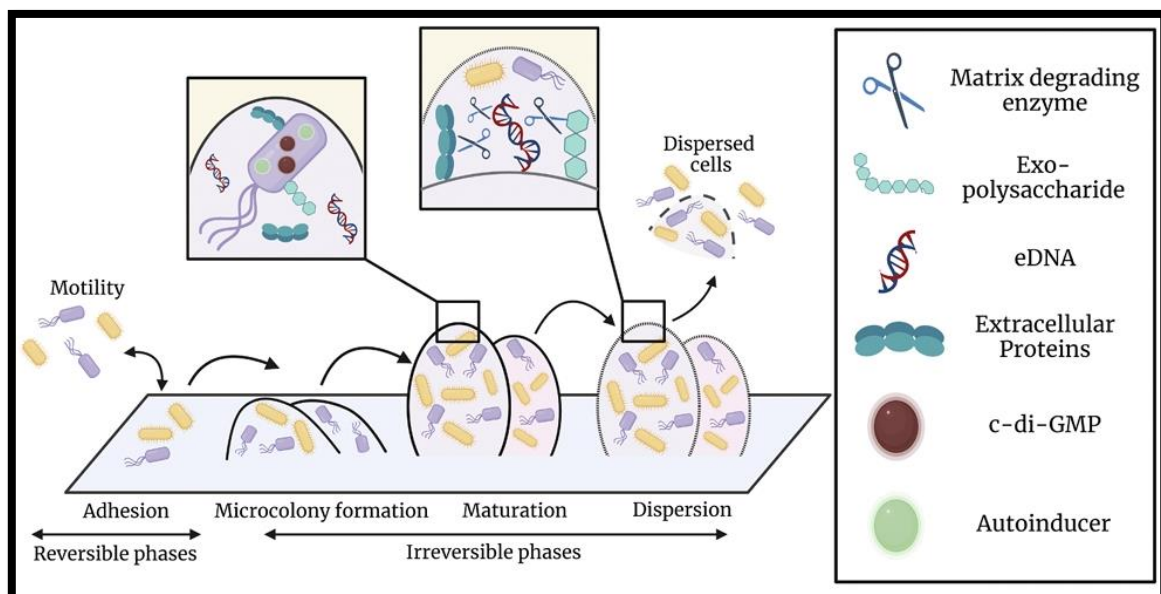
##### 4.3 Maturation

La maturation représente une étape majeure du développement du biofilm, caractérisée par la différenciation structurale et fonctionnelle des cellules bactériennes fixées. Ce processus est déclenché par la libération de signaux moléculaires, lesquels induisent l'activation de gènes

spécifiquement associés au mode de vie en biofilm, contribuant ainsi à une augmentation de la virulence bactérienne (Sharma *et al.*, 2023).

#### 4.4 Détachement et dissémination

La dernière étape correspond à la libération des bactéries du biofilm, leur permettant de coloniser de nouveaux sites. Ce détachement peut s'effectuer par différents mécanismes selon les espèces bactériennes. Il peut s'agir d'une dispersion en amas (clumping), telle que chez *Staphylococcus aureus*, dans laquelle des agrégats bactériens se détachent continuellement ou d'une dispersion individuelle (swarming/seeding), au cours de laquelle une bactérie unique est libérée suite à la dégradation enzymatique de la matrice, lui permettant de migrer et d'initier la formation d'un nouveau biofilm (Shree *et al.*, 2023).



**Figure 1:** Processus de formation du biofilm sur une surface appropriée (Agarwal *et al.*, 2025)

## 5 Biofilms et complications liées aux implants médicaux

Les infections associées aux biofilms représentent une proportion majeure des infections microbiennes, estimée à environ 80 % et sont impliquées dans un large éventail de pathologies, notamment celles liées aux dispositifs médicaux implantables. Ces implants, conçus pour assurer un soutien structurel à divers organes et fabriqués à partir de matériaux variés, sont souvent colonisés par des biofilms formés par des pathogènes à Gram positif et à Gram négatif, tels que *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. La présence de biofilms sur ces dispositifs peut entraîner des infections chroniques, l'échec des implants,

voire une mortalité élevée. Ce phénomène touche une grande diversité d'implants, notamment orthopédiques, cardiaques, mammaires, cathéters et urologiques. Ainsi, la majorité des dispositifs médicaux implantables présentent un risque élevé d'infections liées aux biofilms, avec des conséquences cliniques graves et une altération notable de la qualité de vie des patients (Kadirvelu *et al.*, 2024).

### 5.1 Prothèses articulaires

Les infections associées aux prothèses articulaires résultent de la colonisation des implants par diverses espèces bactériennes capables de former des biofilms. Ces infections représentent un défi clinique majeur en raison de la difficulté de leur diagnostic, de la persistance des agents pathogènes malgré les traitements antibiotiques et d'un taux de persistance élevé (Almasri et Dahman, 2023).

### 5.2 Dispositifs cardiovasculaires implantables

Les dispositifs cardiovasculaires implantables, tels que les cathéters intravasculaires, représentent des surfaces propices à la colonisation bactérienne et à la formation de biofilms. Ces structures microbiennes favorisent l'apparition d'infections associées aux soins, souvent graves et difficiles à traiter. La persistance du biofilm constitue un obstacle majeur à l'éradication de l'infection, en raison de sa résistance aux traitements antimicrobiens et à la réponse immunitaire de l'hôte (Bouhrour *et al.*, 2024).

### 5.3 Implants mammaires

Les implants mammaires peuvent être colonisés par des bactéries telles que *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* formant des biofilms, à l'origine de complications comme la contracture capsulaire. Le diagnostic de ces infections nécessite l'analyse microbiologique de l'implant et des tissus environnants (Di Domenico *et al.*, 2022).

### 5.4 Cathéter veineux centraux

Les cathéters veineux centraux couramment utilisés en milieu hospitalier, sont particulièrement vulnérables à la formation de biofilms. Ces structures microbiennes se développent sur les surfaces internes ou externes du cathéter, surtout après un usage prolongé (plus de 10 jours), entraînant des infections du courant sanguin, notamment causées par *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ou encore *Klebsiella pneumoniae* (Mahamuni-Badiger *et al.*, 2020).

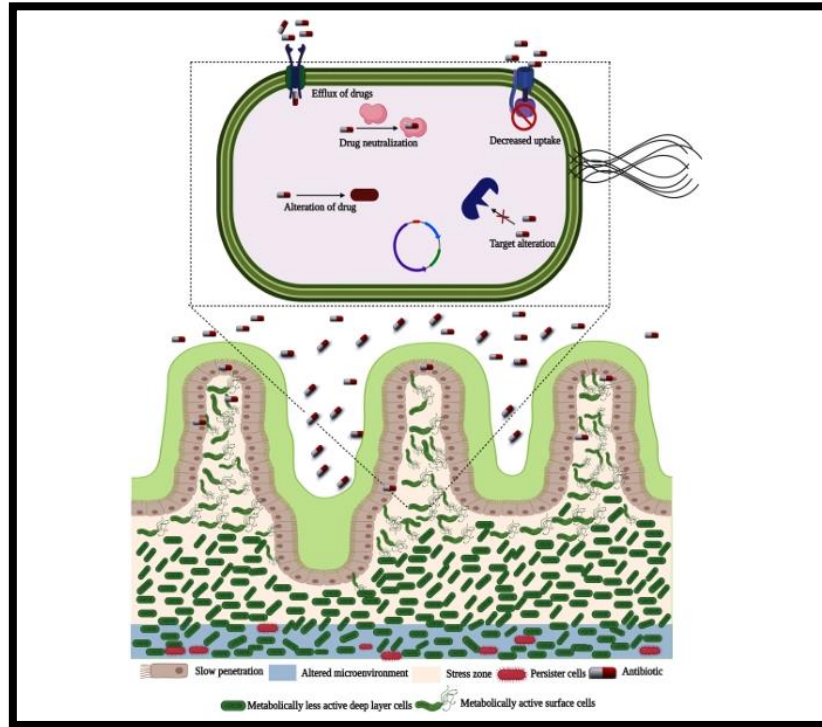
### 5.5 Sondes urinaires : agents pathogènes, formation et risques cliniques

Les sondes urinaires, généralement fabriquées en silicone ou en latex, sont des dispositifs médicaux souples introduits par l'urètre jusqu'à la vessie afin de permettre le drainage de l'urine. En milieu hospitalier, les infections urinaires sont particulièrement fréquentes, les infections associées aux sondes représentant environ 70 à 80 % de l'ensemble des cas (**Kadirvelu et al., 2024**).

Les principaux agents pathogènes responsables de ces infections sont des bactéries à Gram positif, telles que *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus* du groupe B, ainsi que des bactéries à Gram négatif, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'infection débute lorsque des uropathogènes, issus de la flore intestinale ou de la peau périnéale, migrent vers l'urètre et atteignent la vessie. Les biofilms qui se forment à la surface des sondes sont influencés par des composants de l'urine et par certaines protéines de l'hôte comme le fibrinogène, qui facilitent l'adhésion bactérienne via des protéines de surface spécifiques, capables d'interagir avec les récepteurs de l'épithélium vésical. Ces bactéries produisent également des toxines, telles que les hémolysines, qui endommagent les cellules hôtes et favorisent ainsi la colonisation des reins. Une complication fréquente lors d'un sondage prolongé est la formation de biofilms cristallins, en particulier chez les bactéries produisant l'enzyme uréase. Ce phénomène est notamment observé chez *P. aeruginosa*, dont les biofilms cristallins peuvent entraîner l'incrustation et l'obstruction de la sonde (**Kadirvelu et al., 2024**).

## 6 Impact clinique des biofilms dans les infections liées aux dispositifs médicaux : résistance aux antibiotiques

Les biofilms bactériens confèrent une résistance accrue aux antibiotiques, bien au-delà de celle observée chez les bactéries planctoniques. Cette résistance est liée à la présence de la matrice extracellulaire qui limite la pénétration des agents antimicrobiens, au microenvironnement défavorable à l'action des antibiotiques (accumulation de déchets, faible oxygénation et la variabilité du pH) ainsi qu'à la présence de cellules persistantes métaboliquement dormantes. D'autres mécanismes, tels que la production d'enzymes, l'activation de pompes d'efflux, la communication intercellulaire (quorum sensing) et le transfert horizontal de gènes, renforcent cette tolérance. Ces propriétés rendent les biofilms particulièrement résistants aux traitements classiques (**Figure 2**), ce qui explique leur rôle majeur dans les infections associées aux dispositifs médicaux (**Weber et al., 2023**).



**Figure 2:** Mécanisme de résistance aux antibiotiques des biofilms (Srinivasan *et al.*, 2021)

## 7 Stratégies de lutte contre les biofilms

En raison de cette grande résistance des biofilms, de nouvelles stratégies anti-biofilm ont été développées (Nadar *et al.*, 2022).

### 7.1 Agents antiadhésifs

Les agents antiadhésifs ciblent la phase précoce de formation du biofilm, en empêchant l'adhésion des bactéries aux surfaces. Parmi ces agents, on retrouve des peptides antimicrobiens, des polyphénols ainsi que certaines enzymes telles que les DNases. Ces composés perturbent les interactions physico-chimiques entre la surface et les cellules bactériennes, réduisant ainsi significativement la probabilité d'ancrage et de développement du biofilm (Kalia *et al.*, 2023).

Les peptides antimicrobiens (AMPs) sont de petites molécules cationiques présentant un large spectre d'activité antimicrobienne et se révèlent particulièrement prometteurs dans la lutte contre les biofilms. Leur charge positive leur permet d'interagir avec des composants membranaires bactériens chargés négativement (les lipopolysaccharides chez les bactéries à Gram négatif et les acides lipoteichoïques chez les bactéries à Gram positif). Grâce à cette interaction, les AMPs peuvent perturber l'intégrité cellulaire et inhiber efficacement la formation et le développement des biofilms (Hemmati *et al.*, 2021).

## 7.2 Bactériophages

Les bactériophages, virus spécifiques des bactéries, constituent une stratégie biologique prometteuse pour cibler les biofilms. Une fois associés à leurs hôtes bactériens, les phages provoquent leur lyse et peuvent également produire des enzymes capables de dégrader les composés de la matrice extracellulaire. Ils sont particulièrement efficaces lorsqu'ils sont utilisés en combinaison avec des antibiotiques, permettant une meilleure pénétration des agents antimicrobiens à travers le biofilm (**Kalia et al., 2023**).

## 7.3 Inhibiteurs du quorum sensing

Le quorum sensing (QS) est un système de communication bactérienne essentiel à la formation et à la maturation des biofilms, en régulant l'expression de gènes liés à la virulence. Les inhibiteurs du quorum sensing (QSIs) sont des composés naturels ou synthétiques capables de perturber ce système, empêchant ainsi la formation de biofilms. Les QSIs peuvent être utilisés seuls ou en combinaison avec des antibiotiques pour renforcer l'efficacité du traitement, réduire la résistance bactérienne et limiter la formation de biofilms, notamment chez des pathogènes comme *Pseudomonas aeruginosa* ou *Staphylococcus aureus* (**Hemmati et al., 2021**).

## 7.4 Nanoparticules

Les nanoparticules (NPs), notamment celles à base de métaux comme l'argent (Ag NPs) se sont révélées très efficaces contre les biofilms. Elles agissent par divers mécanismes, notamment par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), perturbation des membranes bactériennes, inhibition du quorum sensing et dégradation des composants de la matrice extracellulaire. De plus, les NPs peuvent améliorer l'efficacité des antibiotiques classiques, en facilitant leur diffusion dans les biofilms (**Kalia et al., 2023**).

## Chapitre 2 : Nanoparticules : Des agents antibactériens et anti-biofilm

### 1 Nanotechnologie

La nanotechnologie, un domaine de recherche en rapide progression, se concentre sur la conception, la fabrication, l'analyse de surfaces et l'utilisation de matériaux à l'échelle nanométrique. Ces matériaux, appelés nanoparticules (NPs), tirent leurs propriétés physicochimiques et biologiques spécifiques de leur taille extrêmement réduite et de leur important rapport surface/volume, ce qui les distingue de leurs homologues massifs (Gebreslassie et Gebremeskel, 2024).

Il s'agit d'un champ d'étude multidisciplinaire englobant la biologie, la chimie, la physique, la science des matériaux, l'ingénierie et l'informatique (Mayegowda *et al.*, 2023).

### 2 Rôle de la nanotechnologie en microbiologie médicale

La nanotechnologie a révolutionné la microbiologie, offrant de nouvelles méthodes pour détecter les pathogènes et lutter contre les infections bactériennes, notamment grâce aux avancées en nanotechnologie microbienne et à la synthèse verte de nanomatériaux. Face au problème croissant de la résistance aux médicaments et des biofilms, la nanotechnologie est présentée comme un outil innovant pour développer de nouveaux diagnostics et traitements efficaces (Somavarapu *et al.*, 2021).

### 3 Généralités sur les nanoparticules

#### 3.1 Définition des nanoparticules

Les nanoparticules (NPs) sont des assemblages d'atomes et de molécules dont la taille varie de 1 à 100 nm. À cette échelle, les éléments présentent des propriétés distinctes de leurs formes massives, ce qui ouvre un large éventail d'applications. Ces modifications, qu'elles soient physiques (dimensionnelles, morphologiques, optiques et électriques) ou chimiques (réactivité), sont exploitées dans divers domaines. Les NPs peuvent être composées de métaux, de polymères, d'oxydes métalliques, de céramiques ou de molécules organiques, chacune avec des caractéristiques uniques. La synthèse de nanoparticules est possible pour presque tous les métaux, et leur morphologie (sphères, bâtonnets ou fils) dépend de la méthode de fabrication (Gharpure *et al.*, 2020).

### 3.2 Classification des nanoparticules

Les nanoparticules peuvent être classées en fonction de leurs dimensions, de leurs formes, de leurs tailles et du matériau utilisé pour leur développement (**Souza et al., 2021**).

#### 3.2.1 Nanoparticules carbonées

Sont principalement constituées d'atomes de carbone à l'échelle nanométrique, présentent diverses formes et structures. Leurs propriétés uniques et leurs applications étendues attirent un grand intérêt (**Mondal et al., 2024**).

#### 3.2.2 Nanoparticules métalliques

Les nanoparticules à base de métaux, dont la taille varie de 1 à 100 nm et qui sont essentiellement composées d'atomes ou de composés métalliques, présentent des propriétés physicochimiques distinctes de leurs formes massives. Les nanoparticules antimicrobiennes, fabriquées à partir de différents matériaux aux mécanismes d'action spécifiques, incluent notamment celles à base d'argent (Ag NPs), de cuivre (Cu NPs) et de zinc (Zn NPs), qui sont parmi les plus étudiées en nanotechnologie antimicrobienne (**Mondal et al., 2024**).

#### 3.2.3 Nanoparticules céramiques

Obtenues par un cycle de chauffage et de refroidissement, les nanoparticules céramiques sont des matériaux inorganiques non métalliques, peuvent présenter des structures variées (amorphes, polycristallines, denses, poreuses ou creuses). Leur utilité dans des domaines tels que la catalyse, la photocatalyse, la dégradation photochimique des colorants et l'imagerie attire considérablement la communauté scientifique (**Pabbati et al., 2021**).

#### 3.2.4 Nanoparticules semi-conductrices

En raison de leurs caractéristiques à la fois métalliques et non métalliques, sont utilisées dans de nombreux domaines (**Pabbati et al., 2021**).

#### 3.2.5 Nanoparticules polymériques

Correspondant à des nanoparticules organiques généralement sphériques (nanosphères) ou capsulaires (nanocapsules). Dans les nanosphères, les molécules sont adsorbées à la surface d'une matrice solide, tandis que dans les nanocapsules, la matière solide est complètement enfermée. Ces nanoparticules à base de polymères sont facilement modifiables chimiquement, ce qui explique leurs nombreuses applications (**Khan et al., 2019**).

### 3.2.6 Nanoparticules lipidiques

Ces nanoparticules typiquement sphériques, avec un diamètre variant de 10 à 1000 nm, démontrent leur efficacité dans diverses utilisations biomédicales. Leur composition repose sur un cœur lipidique solide et d'une matrice contenant des molécules lipophiles stabilisés par des tensioactifs (**Khan et al., 2019**).

### 3.3 Sources de nanoparticules

Selon leur origine, les sources de nanomatériaux peuvent être classées en trois catégories principales (**Jeevanandam et al., 2018**).

#### 3.3.1 Nanoparticules accidentelles

Ces nanoparticules sont des produits secondaires issus de processus industriels, comme les émissions des véhicules, les fumées de soudage ou la combustion et parfois même de phénomènes naturels, tels que les incendies de forêt.

#### 3.3.2 Nanoparticules manufacturées

Ils sont produits par l'homme dans le but d'obtenir des propriétés spécifiques pour des applications ciblées.

#### 3.3.3 Nanoparticules naturelles

Outre les nanoparticules accidentelles et manufacturées, des nanostructures sont également présentes dans les organismes vivants, allant des microorganismes (bactéries, algues) aux organismes supérieurs (plantes, animaux et humains). Les avancées en microscopie permettent ainsi de mieux comprendre la morphologie de ces nanoparticules naturelles, ce qui est crucial pour étudier ces organismes.

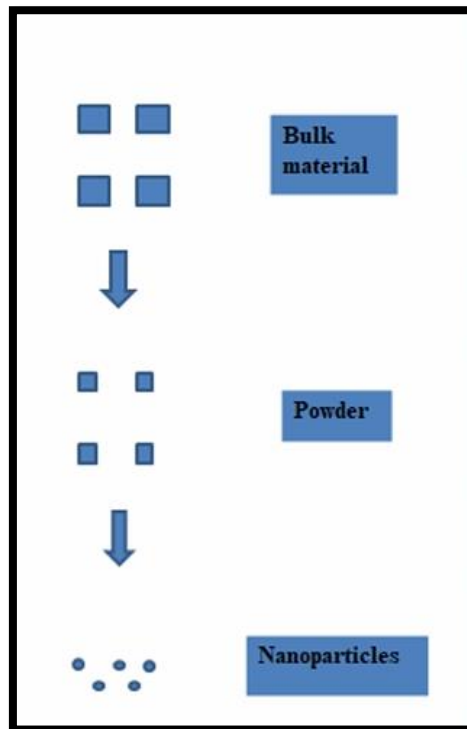
La distinction entre nanoparticules naturelles, accidentelles et manufacturées est souvent imprécise, au point que les nanomatériaux accidentels peuvent être considérés comme une sous-catégorie des nanomatériaux naturels. Ces deux types se forment et se répandent continuellement dans l'environnement. En revanche, les nanomatériaux manufacturés offrent un contrôle précis de leur structure pour exploiter leurs propriétés nanométriques spécifiques (**Jeevanandam et al., 2018**).

### 3.4 Synthèse des nanoparticules

La synthèse de nanoparticules s'effectue principalement selon deux approches. L'approche descendante (top-down), basée sur des procédés physiques, et l'approche ascendante (bottom-up), qui utilise des processus chimiques et biologiques (**Rathod et al., 2024**).

### 3.4.1 Approche descendante (top-down)

Elle consiste à fragmenter des matériaux massifs en structures nanométriques par une série d'opérations physiques, souvent par broyage (**Figure 3**). Bien qu'adaptée aux expériences en laboratoire, cette méthode nécessite des installations importantes, la rendant coûteuse et peu appropriée pour une production à grande échelle. De plus, elle n'est pas adaptée au traitement d'échantillons mous (**Patil et al., 2021**).



**Figure 3:** Approche descendante (**Patil et al., 2021**)

#### 3.4.1.1 Broyage mécanique

Le principe est d'introduire une poudre, généralement un mélange d'éléments dans un broyeur à haute énergie avec des paramètres précis. Le processus est répété jusqu'à obtenir la taille de poudre désirée, tout en conservant sa composition chimique. Ce procédé physique a pour but de diminuer la taille des particules et de modifier leur phase pour favoriser le mélange et la formation des nanoparticules, sous l'action des billes au sein du broyeur (**Nyabadza et al., 2023**).

#### 3.4.1.2 Ablation laser

Elle implique de diriger un laser intense sur un matériau cible, entraînant sa vaporisation et la formation de nanoparticules. Cette méthode est particulièrement adaptée à la production de nanoparticules de métaux nobles, de plus elle peut générer une vaste gamme de

nanomatériaux, incluant des nanoparticules métalliques, carbonées, des composites d'oxydes et des céramiques (Altammar, 2023).

### 3.4.1.3 Pulvérisation cathodique

Est l'action de diriger des ions énergétiques vers une surface cible, entraînant l'éjection de ses atomes en fonction de l'énergie des ions incidents (Nyabadza *et al.*, 2023).

### 3.4.1.4 Lithographie

Une technique utile pour créer des nanoparticules, utilise généralement un faisceau concentré de lumière ou d'électrons (Altammar, 2023).

### 3.4.2 Approche ascendante (bottom-up)

Elle consiste à miniaturiser les composants jusqu'à l'échelle atomique, puis à les assembler en nanostructures sous l'effet des forces à l'échelle nanométrique (Figure 4). Ce processus repose principalement sur l'auto-assemblage, qui est la capacité des entités similaires à réaliser une organisation spontanée (Patil *et al.*, 2021).

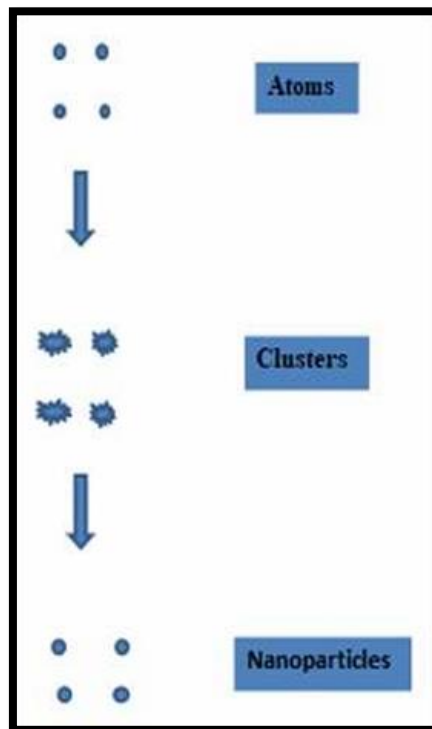


Figure 4: Approche ascendante (Patil *et al.*, 2021)

#### 3.4.2.1 Dépôt chimique en phase vapeur (Chemical Vapor Deposition/CVD)

Ce procédé chimique dépose une fine couche sur un substrat en utilisant des précurseurs gazeux volatils, purs et stables. Il permet notamment de produire des nanoparticules rigides, homogènes et résistantes (Altammar, 2023).

### 3.4.2.2 Méthode de fabrication sol-gel

L'une des plus anciennes méthodes de synthèse de nanoparticules, elle implique la formation d'un sol, une dispersion colloïdale stable de nanoparticules dans un milieu (solvant organique ou eau), qui se transforme ensuite en gel par gélification. La méthode sol-gel permet d'obtenir des nanoparticules de haute qualité, dont la taille et la forme sont contrôlables (Nyabadza *et al.*, 2023).

### 3.4.2.3 Co-précipitation

Une technique de chimie humide basée sur le déplacement de solvant. En mélangeant une solution polymère dans un solvant organique avec un non-solvant (comme l'éthanol, l'acétone ou l'hexane), La diffusion rapide du solvant dans le non-solvant génère une tension interfaciale, entraînant la formation de nanoparticules (Altammar, 2023).

### 3.4.2.4 Méthode hydrothermale

Utilise une solution aqueuse à haute pression et haute température pour former des nanoparticules métalliques à partir de précurseurs (sel métallique et agent réducteur) dans un réacteur fermé. Les conditions de réaction permettent de contrôler la taille, la forme et la structure cristalline des nanoparticules (Nyabadza *et al.*, 2023).

### 3.4.2.5 Synthèse verte de nanoparticules

La synthèse verte également appelée biosynthèse de nanoparticules, offre une alternative aux méthodes physico-chimiques classiques (Souza *et al.*, 2021). Elle utilise une variété de biomatériaux, tels que les bactéries, les levures, les champignons, les algues et les extraits de plantes, comme précurseurs écologiques et non toxiques pour une production rapide de nanoparticules aux applications diverses (Wang *et al.*, 2021). La synthèse biologique présente de nombreux avantages, elle est économique, tout en présentant une sécurité, une stabilité et une rapidité élevées pendant le processus de production des nanoparticules. Il en résulte une réduction des dangers potentiels pour la santé et l'environnement, ainsi que l'obtention de nanomatériaux aux propriétés améliorées en termes de taille, de forme et de biocompatibilité (Souza *et al.*, 2021).

#### a. La biosynthèse par extraits de plantes

Différentes parties de plantes, notamment les racines, les feuilles, les graines, les fleurs, les fruits, les écorces, les pétales et les enveloppes de graines, ont été utilisées dans la biosynthèse de nanoparticules en raison de leur riche teneur en biomolécules (les protéines, les glucides, les acides aminés, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les composés azotés). La phytosynthèse

permet d'obtenir des nanoparticules plus stables, présentant diverses formes, dont les propriétés sont principalement influencées par le type d'extrait végétal et les conditions de réaction comme la température, le pH et la durée d'incubation (**Rozina et al., 2024**).

### **b. La biosynthèse microbienne**

Les microorganismes (bactéries, levures, champignons et algues) présentent un potentiel considérable pour la synthèse de nanoparticules. Grâce à leurs enzymes, ils peuvent accumuler et convertir des ions de métaux toxiques en nanoparticules métalliques stables, par une voie extracellulaire ou intracellulaire. Pour la synthèse extracellulaire, une fois les microorganismes cultivés, la biomasse est éliminée par centrifugation, et le surnageant contenant les produits sécrétés est mélangé à une solution de sel métallique puis incubé. L'évolution de la biosynthèse peut être suivie en temps réel grâce au changement de couleur du milieu de culture. Enfin, les nanoparticules obtenues sont purifiées par centrifugation, lavage, séchage et récupération. Concernant la synthèse intracellulaire, la biomasse microbienne est isolée par centrifugation puis incubée avec la solution de sel métallique. L'élimination de la biomasse se fait par rupture mécanique ou sonication des cellules, suivie d'un lavage et d'une centrifugation pour libérer les nanoparticules, qui sont ensuite récupérées. Le contrôle précis de la température, le pH, le temps d'incubation et le rapport d'oxygène est crucial pour un système de synthèse stable des nanoparticules (**Wang et al., 2021**).

## **3.5 Activité biologique des nanoparticules**

### **3.5.1 Mécanisme antibactérien**

Les nanoparticules inhibent la croissance bactérienne en ciblant des composants essentiels tels que la paroi et la membrane cellulaires, les protéines structurales, les enzymes et le matériel génétique, ce qui perturbe leur métabolisme énergétique (**Alomari et al., 2024**). L'interaction des nanoparticules avec les bactéries varie en fonction de la composition de leur paroi cellulaire. Chez les bactéries Gram-négatives, les lipopolysaccharides présents créent des charges négatives qui attirent les nanoparticules. Inversement, chez les bactéries Gram-positives, l'acide teichoïque favorise la dispersion des nanoparticules via sa chaîne phosphate (**Wahab et al., 2023**). Après avoir interagi avec la surface de la cellule bactérienne, les nanoparticules traversent la membrane plasmique et s'accumulent le long des voies métaboliques, altérant ainsi la forme et la fonction de la membrane cellulaire. Elles interagissent ensuite avec des éléments fondamentaux comme l'ADN, les lysosomes, les ribosomes et les enzymes, induisant divers effets néfastes tels qu'un stress oxydatif, des

modifications de la perméabilité membranaire, une inhibition enzymatique, une désactivation des protéines et des changements dans l'expression génique (**wang *et al.*, 2017**), (**Figure 5**).

L'activation des propriétés antimicrobiennes des nanoparticules est habituellement décrite par l'un des trois modèles suivants, l'induction de stress oxydatif, la libération d'ions métalliques ou le mécanisme non oxydatif (**Rosli *et al.*, 2021**).

### 3.5.1.1 Stress oxydatif

Le stress oxydatif constitue l'un des mécanismes antibactériens majeurs des nanoparticules (NPs). Il repose sur la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le superoxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et les radicaux hydroxyles (OH), générés notamment par l'interaction des NPs avec la chaîne de transport d'électrons mitochondriale. Ces ROS provoquent des altérations irréversibles des structures cellulaires bactériennes, en induisant la peroxydation des membranes lipidiques, la dénaturation des protéines essentielles et des dommages oxydatifs à l'ADN et à l'ARN. Ce stress oxydatif perturbe ainsi les fonctions vitales de la cellule bactérienne, entraînant sa mort. De plus, la multiplicité des cibles des ROS limite le développement de mécanismes de résistance, renforçant l'intérêt des NPs comme agents antimicrobiens innovants (**Rosli *et al.*, 2021**).

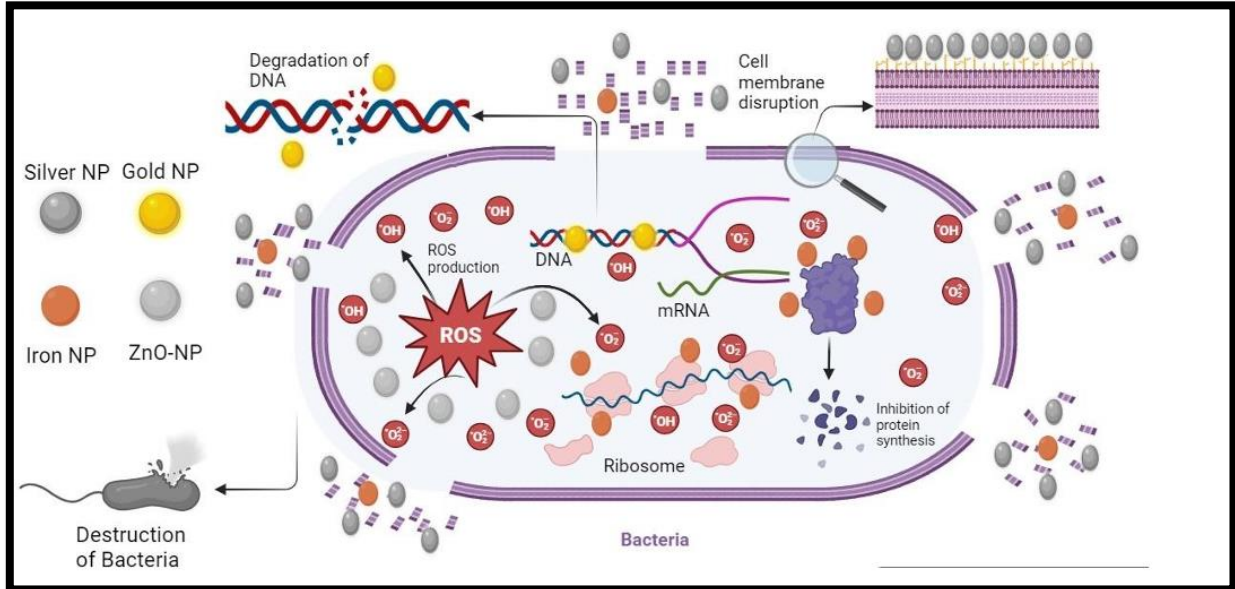
### 3.5.1.2 Ions métalliques dissous

Les ions métalliques sont lentement libérés des nanoparticules d'oxydes métalliques et sont absorbés à travers la membrane cellulaire. Ils interagissent ensuite directement avec les groupes fonctionnels des protéines et des acides nucléiques, tels que les groupes thiol (SH), amine (NH) et carboxyle (COOH), ce qui endommage l'activité enzymatique, modifie la structure cellulaire et perturbe les processus physiologiques normaux, entraînant finalement l'inhibition du microorganisme. Par conséquent, bien que la libération d'ions métalliques contribue à l'effet antimicrobien, elle n'est pas considérée comme le mécanisme principal des nanoparticules d'oxyde métallique. La pénétration directe de la membrane cellulaire et l'interférence avec le transport d'électrons représentent d'autres mécanismes importants (**wang *et al.*, 2017**).

### 3.5.1.3 Mécanisme non oxydatif

Des études montrent que l'activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde de magnésium (MgO NPs) ne provient pas d'un stress oxydatif. En effet, ces nanoparticules n'entrent pas dans les cellules endommagées, ne libèrent pas une quantité significative d'ions magnésium et n'altèrent pas les composants de la paroi ni les protéines liées au stress oxydatif. Au lieu de

cela, leur mécanisme d'action semble impliquer un dommage direct à la membrane cellulaire et une perturbation du métabolisme essentiel de la bactérie, notamment celui des acides aminés, des glucides, de l'énergie et des nucléotides (wang *et al.*, 2017).



**Figure 5:** Mécanisme antibactérien des nanoparticules (Wahab *et al.*, 2023)

### 3.5.2 Interaction nanoparticules-biofilm

Les nanoparticules offrent une opportunité essentielle pour développer de nouvelles technologies anti-biofilm efficaces (Mohanta *et al.*, 2023). La manière dont les nanoparticules interagissent avec les éléments constitutifs du biofilm, que ce soit au sein de la matrice exopolysaccharidique ou à la surface des bactéries, est dictée par leurs propriétés physicochimiques telles que la taille, la forme, la charge superficielle, l'hydrophobicité et les groupes fonctionnels (Fulaz *et al.*, 2019).

Le processus d'interaction entre les nanoparticules et le biofilm se déroule en trois étapes, d'abord les nanoparticules se rapprochent du biofilm, puis elles s'y fixent et enfin elles migrent à l'intérieur. Ces étapes sont influencées par les propriétés physicochimiques des nanoparticules, la matrice extracellulaire et les conditions environnementales (Shkodenko *et al.*, 2020).

### 3.5.3 Transfert des nanoparticules à proximité du biofilm

Lorsque les nanoparticules atteignent la périphérie du biofilm, les propriétés physicochimiques de la matrice exopolysaccharidique déterminent leur fixation initiale à la

surface du biofilm ainsi que leur déplacement ultérieur à l'intérieur de cette matrice (Shkodenko *et al.*, 2020).

### **3.5.3.1 Fixation à la surface du biofilm**

Les caractéristiques électrostatiques notamment, le potentiel zêta des nanoparticules et la charge de la matrice du biofilm, sont les principaux facteurs déterminant leur interaction (Shkodenko *et al.*, 2020). Au premier contact avec un biofilm, les nanoparticules interagissent avec un mélange complexe de macromolécules protéiques (corona), ce qui modifie leurs propriétés de surface et de forme (Fulaz *et al.*, 2019).

### **3.5.3.2 Pénétration et migration des nanoparticules au sien du biofilm**

La pénétration des nanoparticules et leur mouvement au sein du biofilm sont considérés comme étant principalement dus à la diffusion, qui peut être influencée par la taille des pores du biofilm, la charge des nanoparticules et de la matrice extracellulaire, l'hydrophobicité du milieu et le gradient chimique interne (Shkodenko *et al.*, 2020).

***CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES***

Les infections associées aux sondes urinaires, principalement dues à la formation de biofilms bactériens, représentent un défi clinique majeur en raison de leur forte prévalence et de la résistance croissante des pathogènes aux antibiotiques. Le présent travail de master s'est inscrit dans ce contexte en visant à évaluer une approche innovante et écologique : l'utilisation de nanoparticules (NPs) d'argent (Ag), de cuivre (Cu) et de zinc (Zn) biosynthétisées pour lutter contre les biofilms formés par des souches uropathogènes. L'originalité fondamentale de notre démarche a été d'utiliser ces mêmes souches cliniques, isolées de sondes urinaires, comme des "nano-usines" biologiques pour la synthèse de ces agents. Cette étude a évalué l'efficacité antibactérienne aussi anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisées d'argent, de cuivre et de zinc, à partir des souches bactériennes pathogènes d'origine hospitalière, comme solution alternative pour lutter contre les biofilms formés par ces mêmes souches responsables des infections associées aux soins.

Les résultats obtenus montrent que les nanoparticules d'argent (Ag NPs) présentent l'activité antibactérienne et anti-biofilm la plus marquée contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) faible et une capacité d'éradication du biofilm mature atteignant jusqu'à 90 % en seulement 30 minutes. Tandis que, les nanoparticules de cuivre (Cu NPs) et de zinc (Zn NPs) ont montré des effets variables selon la souche ciblée, les Cu NPs étant plus efficaces contre *Enterobacter aerogenes*, tandis que les Zn NPs ont affiché une activité modérée contre les deux souches. Ces différences d'efficacité pourraient être attribuées aux propriétés physico-chimiques spécifiques de chaque type de nanoparticule, ainsi que par les caractéristiques spécifiques des espèces bactériennes ciblées.

Ces résultats confirment le potentiel des nanoparticules biosynthétisées comme agents antimicrobiens et anti-biofilm alternatifs, en particulier dans le contexte de la résistance croissante aux antibiotiques.

Cependant, ces résultats demeurent préliminaires et méritent d'être approfondis. Plusieurs perspectives peuvent être proposées afin de renforcer la validité scientifique de cette étude :

- ✓ La mise en œuvre d'une identification moléculaire des souches bactériennes utilisées, pour une caractérisation précise des agents pathogènes ;
- ✓ La validation rigoureuse des valeurs de concentration minimale inhibitrice et de taux d'éradication de biofilm, par une réduction des incertitudes expérimentales afin d'améliorer la fiabilité des données ;

- ✓ L'évaluation de la cytotoxicité des nanoparticules biosynthétisées, indispensable pour assurer leur sécurité en vue d'une utilisation biomédicale ;
- ✓ L'étude des combinaisons entre nanoparticules et antibiotiques classiques, visant à détecter d'éventuelles synergies thérapeutiques contre les souches multirésistantes.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

1. Achek, R., Hotzel, H., Nabi, I., Kechida, S., Mami, D., Didouh, N., Tomaso, H., Neubauer, H., Ehricht, R., Monecke, S., & El-Adawy, H. (2020). Phenotypic and Molecular Detection of Biofilm Formation in *Staphylococcus aureus* Isolated from Different Sources in Algeria. *Pathogens*, 9(2), 153. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020153>
2. Aflakian, F., & Hashemitabar, G. (2025). Biosynthesized silver nanoparticles at subinhibitory concentrations as inhibitors of quorum sensing, pathogenicity, and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Heliyon*, 11(4), e42899. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42899>
3. Agarwal, H., Gurnani, B., Pippal, B., & Jain, N. (2025). Capturing the micro-communities: Insights into biogenesis and architecture of bacterial biofilms. *BBA Advances*, 7, 100133. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2024.100133>
4. Al Edhari, B., Mashreghia, M., Makhdoumi, A., & Darroudi, M. (2021). Antibacterial and antibiofilm efficacy of Ag NPs, Ni NPs and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs singly and in combination against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68, 126840. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126840>
5. Ali, A., Zhang, N., & Santos, R. M. (2023). Mineral Characterization Using Scanning Electron Microscopy (SEM): A Review of the Fundamentals, Advancements, and Research Directions. *Applied Sciences*, 13(23), 12600. <https://doi.org/10.3390/app132312600>
6. Almasri, D., & Dahman, Y. (2023). Prosthetic Joint Infections: Biofilm Formation, Management, and the Potential of Mesoporous Bioactive Glass as a New Treatment Option. *Pharmaceutics*, 15(5), 1401. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051401>
7. Alomari, S. M., Qasim, W. S., Jalal, J. M. Z., & Saadi, A. Z. (2024). The Inhibitory Effect of Nanoparticles on Antibiotic-Resistant Bacteria: A Review. *International Journal of Multidisciplinary Comprehensive Research*, 3(6), 38-43. <https://doi.org/10.54660/IJMCR.2024.3.6.38-43>
8. Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1155622. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
9. Assouma, F. F., Sina, H., Adjobimey, T., Noumavo, A. D. P., Socohou, A., Boya, B., Dossou, A. D., Akpovo, L., Konmy, B. B. S., Mavoungou, J. F., Adjanohoun,

- A., & Baba-Moussa, L. (2023). Susceptibility and Virulence of *Enterobacteriaceae* Isolated from Urinary Tract Infections in Benin. *Microorganisms*, 11(1), 213. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010213>
10. Azeem, K., Fatima, S., Ali, A., Ubaid, A., Husain, F. M., & Abid, M. (2025). Biochemistry of Bacterial Biofilm: Insights into Antibiotic Resistance Mechanisms and Therapeutic Intervention. *Life*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.3390/life15010049>
11. Bo, L., Sun, H., Li, Y. D., Zhu, J., Worpel, J. N. D., Lin, H., & Chen, Z. S. (2024). Combating antimicrobial resistance: the silent war. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1347750. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1347750>
12. Bouafia, A., Laouini, S. E., Ahmed, A. S. A., Soldatov, A. V., Algarni, H., Feng Chong, K., & Ali, G. M. A. (2025). The recent progress on silver nanoparticles: Synthesis and electronic applications. *Nanomaterials*, 11(9), 2318. <https://doi.org/10.3390/nano11092318>
13. Bouhrour, N., Nibbering, P. H., & Bendali, F. (2024). Medical Device-Associated Biofilm Infections and Multidrug-Resistant Pathogens. *Pathogens*, 13(5), 393. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050393>
14. Campos, J. V., de Pontes, J. T. C., Canales, C. S. C., Roque-Borda, C. A., & Pavan., F. R. (2025). Advancing Nanotechnology: Targeting Biofilm-Forming Bacteria with Antimicrobial Peptides. *BME Frontiers*, 6, 0104. <https://doi.org/10.34133/bmef.0104>
15. Chan, Y.L., Chee, C. F., Tang, S. N., & Tay, S. T. (2024). Unveiling genetic profiles and correlations of biofilm-associated genes, quorum sensing, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from a Malaysian Teaching Hospital. *European Journal of Medical Research*, 29, 246. <https://doi.org/10.1186/s40001-024-01831-6>
16. Chattopadhyaya, I., Banu, J. R., Usman, T. M. M., & Varjani, S. (2022). Exploring the role of microbial biofilm for industrial effluents treatment. *Bioengineered*, 13(3), 6420–6440. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2044250>
17. Di Domenico, E. G., Oliva, A., & Guembe, M. (2022). The Current Knowledge on the Pathogenesis of Tissue and Medical Device-Related Biofilm Infections. *Microorganisms*, 10(7), 1259. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071259>
18. Elshaer, S., & Shaaban, M. I. (2023). Antibiofilm activity of biosynthesized silver and copper nanoparticles using *Streptomyces* S29. *AMB Express*, 13, 139. <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01647-3>

19. Fernández-Billón, M., Llambías-Cabot, A. E., Jordana-Lluch, E., Oliver, A., & Macià, M. D. (2023). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Biofilm*, 5, 100129. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100129>
20. Filippov, S. K., Khusnutdinov, R., Murmiliuk, A., Inam, W., Zakharova, L. Y., Zhang, H., & Khutoryanskiy, V. V. (2023). Dynamic light scattering and transmission electron microscopy in drug delivery: a roadmap for correct characterization of nanoparticles and interpretation of results. *Materials Horizons*, 10(12), 5354–5370. <https://doi.org/10.1039/D3MH00717K>
21. Freeman, D.J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42, 872-874. <http://jcp.bmj.com/content/42/8/872#related-urls>
22. Fulaz, S., Vitale, S., Quinn, L., & Casey, E. (2019). Nanoparticle–Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. *Trends in Microbiology*, 27(11), 915-926. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.004>
23. Gebreslassie, Y. T., & Gebremeskel, F. G. (2024). Green and cost-effective biofabrication of copper oxide nanoparticles: Exploring antimicrobial and anticancer applications. *Biotechnology Reports*, 41, e00828. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00828>
24. Gharpure, S., Akash, A., & Ankamwar, B. (2020). A Review on Antimicrobial Properties of Metal Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 20(6), 3303-3339. <https://doi.org/10.1166/jnn.2020.17677>
25. Guedes, M., Gathara, D., López-Hernández, I., Martínez Pérez-Crespo, P. M., Pérez-Rodríguez, M. T., Sousa, A., Plata, A., Reguera-Iglesias, J. M., Boix-Palop, L., Dietl, B., Sevilla Blanco, J., Armiñanzas Castillo, C., Galán-Sánchez, F., Natera Kindelán, C., Jover-Saenz, A., Goikoetxea Aguirre, J., Alemán Alemán, A., Marrodán Ciordia, T., del Arco Jiménez, A., Fernandez-Suarez, J., Lopez-Cortes, L. E., Rodríguez-Baño, J., & PROBAC/GEIRAS-SEIMC/SAMICEI group. (2024). Differences in clinical outcomes of bloodstream infections caused by *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae*: a multicentre cohort study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 23, 42. <https://doi.org/10.1186/s12941-024-00700-8>
26. Guesmi, M., Ben Hmida, M., Smaoui, S., Ayadi, M., Maalej, S., Toumi, S., Aifa, S., Kammoun, K., Messadi-Akrout, F., & Mnif, S. (2025). A Comprehensive

- Methodology for Identifying *Pseudomonas aeruginosa* Strains Exhibiting Biofilm and Virulence Factor Traits and Assessment of Biofilm Resistance Against Commercial Disinfectant. *Microbiology Research*, 16(3), 62. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16030062>
27. Gur, T., Meydan, I., Seckin, H., Bekmezci, M., & Sen, F. (2022). Green synthesis, characterization and bioactivity of biogenic zinc oxide nanoparticles. *Environmental Research*, 204(Partie A), 111897. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111897>
28. Hafiz, T. A., Albloshi, A., Alhumaidan, O. S., Mubarak, M. A., Alyami, A. S., Alrashoudi, R., Alrabiah, M. A., & Alotaibi, F. (2023). The Epidemiological Pattern, Resistance Characteristics and Clinical Outcome of *Enterobacter cloacae*: Recent Updates and Impact of COVID-19 Pandemic. *Healthcare*, 11(3), 312. <https://doi.org/10.3390/healthcare11030312>
29. Hamouda, R. A., Alharthi, M. A., Alotaibi, A. S., Alenzi, A. M., Albalawi, D. A., & Makharita, R. R. (2023). Biogenic Nanoparticles Silver and Copper and Their Composites Derived from Marine Alga *Ulva lactuca*: Insight into the Characterizations, Antibacterial Activity, and Anti-Biofilm Formation. *Molecules*, 28(17), 6324. <https://doi.org/10.3390/molecules28176324>
30. Haque, A., Mishu, N. J., Khaleduzzaman, H. M., Shamsuzzaman, S. M., Sarker, A., Mitu, M. Z. A., Zaman, R., Kabir, R. B., & Asaduzzaman, M. (2023). Detection of Antibiotic Resistance genes of Multidrug Resistance Enterobacter Cloacae and Enterobacter Aerogenes Isolated from the Patients of Dhaka Medical College Hospital. *Archives of Microbiology and Immunology*, 7(3), 143–149. <https://doi.org/10.26502/ami.936500112>
31. Hasan, T. H., Hussein, A. A., Al-Ethari, A. S. Y., Al-Yasiri, I. K. H., & Yousif, M. G. (2024). Assessment of Antimicrobial Susceptibility and *Klebsiella aerogenes* Distribution in Urine Samples from Urinary Tract Infections Suspected Patients. *Latin American Journal of Pharmacy*, 43 (special issue, Part 6), 1936–1941. <https://www.researchgate.net/publication/381769116>
32. Hassan, A. A., & Motaweq, Z. Y. (2024). Phenotypic and genotypic study of biofilm formation in multi-drug resistance *Enterobacter* species in Al-Najaf province, Iraq. *Contents lists available at Egyptian Knowledge Bank Microbial Biosystems*, 9(2), 360258, 83-91. <https://dx.doi.org/10.21608/mb.2024.360258>

33. Hemmati, F., Rezaee, M. A., Ebrahimzadeh, S., Yousef, L., Nouri, R., Kafil, H. K., & Gholizadeh, P. (2021). Novel Strategies to Combat Bacterial Biofilms. *Molecular Biotechnology*, 63, 569–586. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00325-8>
34. Ioannou, P., Baliou, S., & Samonis, G. (2024). Nanotechnology in the Diagnosis and Treatment of Antibiotic-Resistant Infections. *Antibiotics*, 13(2), 121. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020121>
35. Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9, 1050–1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>
36. Jomehzadeh, N., & Seif Emrani, S. (2025). Assessment of biofilm formation, antibiotic resistance patterns, and the prevalence of adhesion-related genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Heliyon*, 11(1), e41537. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e41537>
37. Kadirvelu, L., Sivaramalingam, S. S., Jothivel, D., Chithiraiselvan, D. D., Govindarajan, D. K., & Kandaswamy, K. (2024). A review on antimicrobial strategies in mitigating biofilm-associated infections on medical implants. *Current Research in Microbial Sciences*, 6, 100231. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2024.100231>
38. Kalia, V. C., Patel, S. K. S., & Lee, J. K. (2023). Bacterial biofilm inhibitors: An overview. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 264, 115389. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115389>
39. Kapoor, R. T., Salvadori, M. R., Rafatullah, M., Siddiqui, M. R., Khan, M. A., & Alshareef, S. A. (2021). Exploration of Microbial Factories for Synthesis of Nanoparticles – A Sustainable Approach for Bioremediation of Environmental Contaminants. *Frontiers in Microbiology*, 12, 658294. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.658294>
40. Karakaya, F., Bülbül, A. S., Bekmezci, M., & Şen, F. (2023). Silver nanoparticle synthesis by biogenic reduction method and investigation of antimicrobial, antibiofilm, anticancer activities. *Journal of Scientific Reports-A*, 55, 1-15. <https://doi.org/10.59313/jsr-a.1277894>
41. Kara Terki, I., Hassaine, H., Kara Terki, A., Nadira, B., Kara Terki, N., Bellifa, S., Mhamedi, I., & Iachachi, M. (2020). Effects of certain disinfectants and antibiotics on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from medical

- devices at the University Hospital Center of Sidi Bel Abbes, Algeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 21(4), 304-310. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v21i4.6>
42. Kazemi, S., Hosseingholian, A., Gohari, S. D., Feirahi, F., Moammeri, F., Mesbahian, G., Moghaddam, Z. S., & Ren, Q. (2023). Recent advances in green synthesized nanoparticles: from production to application. *Materials Today Sustainability*, 24, 100500. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2023.100500>
43. Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908-931. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
44. Khan, T., Ullah, H., Nasar, A., & Ullah, M. (2023). Antibiotic Resistance and Sensitivity Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* Obtained from Clinical Samples. *Letters in Applied NanoBioScience*, 12(4), 112. <https://doi.org/10.33263/LIANBS124.112>
45. Lahiri, D., Nag, M., Sheikh, H. I., Sarkar, T., Edinur, H. A., Pati, S., & Ray, R. R. (2021). Microbiologically-Synthesized Nanoparticles and Their Role in Silencing the Biofilm Signaling Cascade. *Frontiers in Microbiology*, 12, 636588. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.636588>
46. 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. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 14(4), 100906. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2023.11.013>
47. Mahamuni-Badiger, P. P., Patil, P. M., Badiger, M. V., Patel, P. R., Thorat-Gadgil, B. S., Pandit, A., & Bohara, R. A. (2020). Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide-based nanoparticles. *Materials Science & Engineering C*, 108, 110319. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110319>
48. Mali, S. C., Dhaka, A., Sharma, S., & Trivedi, R. (2023). Review on biogenic synthesis of copper nanoparticles and its potential applications. *Inorganic Chemistry Communications*, 149, 110448. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110448>
49. Mandal, A. K., Katuwal, S., Tettey, F., Gupta, A., Bhattarai, S., Jaisi, S., Bhandari, D. P., Shah, A. K., Bhattarai, N., & Parajuli, N. (2021). Current Research on Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Biomedical Applications. *Nanomaterials*, 12(17), 3066. <https://doi.org/10.3390/nano12173066>

50. Marzban, A., Mirzaei, S. Z., Karkhane, M., Khotekar, S. K., & Danesh, A. (2022). Biogenesis of copper nanoparticles assisted with seaweed polysaccharide with antibacterial and antibiofilm properties against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 74, 103499. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103499>
51. Mayegowda, S. B., Roy, A., Manjula, N. G., Pandit, S., Alghamdi, S., Almeahmadi, M., Allahyani, M., Awwad, N. S., & Sharma, R. (2023). Eco-friendly synthesized nanoparticles as antimicrobial agents: an updated review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1224778. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1224778>
52. Mohanta, Y. K., Chakrabartty, I., Mishra, A. K., Chopra, H., Mahanta, S., Avula, S. K., Patowary, K., Ahmed, R., Mishra, B., Mohanta, T. K., Saravanan, M., & Sharma, N. (2023). Nanotechnology in combating biofilm: A smart and promising therapeutic strategy. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1028086. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1028086>
53. Mondal, K. S., Chakraborty, S., Manna, S., & Mandal, S. M. (2024). Antimicrobial nanoparticles: current landscape and future challenges. *RSC Pharmaceutics*, 1(3), 388-402. <https://doi.org/10.1039/D4PM00032C>
54. Nadar, S., Khan, T., Patching, S. G., & Omri, A. (2022). Development of Antibiofilm Therapeutics Strategies to Overcome Antimicrobial Drug Resistance. *Microorganisms*, 10(2), 303. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020303>
55. 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. *Advances in Colloid and Interface Science*, 312, 103010. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.103010>
56. O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). BIOFILM FORMATION AS MICROBIAL DEVELOPMENT. *Annual Review of Microbiology*, 54, 49-79. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>
57. Patil, N., Bhaskar, R., Vyavhare, V., Dhadge, R., Khaire, V., & Patil, Y. (2021). OVERVIEW ON METHODS OF SYNTHESIS OF NANOPARTICLES. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 13(2), 11-16.
58. Pricop, A., Negrea, A., Pascu, B., Nemes, N. S., Ciopec, M., Negrea, P., Ianaş, C., Svera, P., Muntean, D., Ivan, A., & Cristea, I. M. (2025). Copper

- Nanoparticles Synthesized by Chemical Reduction with Medical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(4), 1628. <https://doi.org/10.3390/ijms26041628>
59. Punjabi, K., Mehta, S., Chavan, R., Chitalia, V., Deogharkar, D., & Deshpande, S. (2018). Efficiency of Biosynthesized Silver and Zinc Nanoparticles Against Multi-Drug Resistant Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2207. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02207>
60. Rathod, S., Preetam, S., Pandey, C., & Bera, S. P. (2024). Exploring synthesis and applications of green nanoparticles and the role of nanotechnology in wastewater treatment. *Biotechnology Reports*, 41, e00830. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2024.e00830>
61. Rosli, N. A., Teow, Y. H., & Mahmoudi, E. (2021). Current approaches for the exploration of antimicrobial activities of nanoparticles. *Science and Technology of Advanced Materials*, 22(1), 885-907. <https://doi.org/10.1080/14686996.2021.1978801>
62. Rozina., Emmanuel, O., & Ezeji, T. C. (2024). Exploring the synergy of nanomaterials and microbial cell factories during biohydrogen and biobutanol production from different carbon sources. *Sustainable Chemistry for the Environment*, 6, 100098. <https://doi.org/10.1016/j.scenv.2024.100098>
63. Sakalauskienė, G. V., Malcienė, L., Stankevičius, E., & Radzevičienė, A. (2025). Unseen Enemy: Mechanisms of Multidrug Antimicrobial Resistance in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. *Antibiotics*, 14(1), 63. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010063>
64. Samoilova, N.A.; Krayukhina, M.A.; Korlyukov, A.A.; Klemenkova, Z.S.; Naumkin, A.V.; Mezhev, Y.O. (2023) One-Pot Synthesis of Colloidal Hybrid Au (Ag)/ZnO Nanostructures with the Participation of Maleic Acid Copolymers. *Polymers*, 15, 1670. <https://doi.org/10.3390/polym15071670>
65. 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>
66. Shakibaie, M., Alipour-Esmaceli-Anari, F., Adeli-Sardou, M., Ameri, A., Doostmohammadi, M., Forootanfar, H., & Ameri, A. (2019). Antibacterial and anti-biofilm effects of microwave-assisted biologically synthesized zinc

- nanoparticles. *Nanomedicine Journal*, 6(3), 223-231.  
<https://doi.org/10.22038/nmj.2019.06.00009>
67. Shard, A. G., Schofield, R. C., & Minelli, C. (2020). Ultraviolet-visible spectrophotometry. *Characterization of Nanoparticles*, 185-196.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00012-2>
68. Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R. (2023). Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614>
69. Shkodenko, L., Kassirov, I., & Koshel, E. (2020). Metal Oxide Nanoparticles Against Bacterial Biofilms: Perspectives and Limitations. *Microorganisms*, 8(10), 1545. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101545>
70. Shree, P., Singh, C. K., Sodhi, K. K., Surya, J. N., & Singh, D. K. (2023). Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. *Medicine in Microecology*, 16, 100084.  
<https://doi.org/10.1016/j.medmic.2023.100084>
71. Somavarapu, S., Ramesh, B., Venkatrayulu, C., & Chandra, M. S. (2021). Nanotechnology-A New Frontier in Medical Microbiology. *Nanotechnology for Advances in Medical Microbiology*, 375-392. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-9916-3\\_16#DOI](https://doi.org/10.1007/978-981-15-9916-3_16#DOI)
72. Souza, G. M., de Oliveira Vieira, K. C., Naldi, L. V., Pereira, V. C., & Winkelstroter, L. K. (2021). Green Synthesized Nanoparticles as a Promising Strategy for Controlling Microbial Biofilm. *Nanotechnology for Advances in Medical Microbiology*, 1-28. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-9916-3\\_1#DOI](https://doi.org/10.1007/978-981-15-9916-3_1#DOI)
73. Srinivasan, R., Santhakumari, S., Poonguzhali, P., Geetha, M., Dyavaiah, M., & Xiangmin, L. (2021) Bacterial Biofilm Inhibition: A Focused Review on Recent Therapeutic Strategies for Combating the Biofilm Mediated Infections. *Frontiers in Microbiology*, 12, 676458. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.676458>
74. Tabassum, M., Khan, F., Jeong, G. J., Jo, D. M., & Kim, Y. M. (2024). Silver nanoparticles synthesized from *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine: Antibiofilm and antivirulence agents. *Biofilm*, 7, 100192.  
<https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2024.100192>
75. Talank, N., Morad, H., Barabadi, H., Mojab, F., Amidi, S., Kobarfard, F., Mahjoub, M. A., Jounaki, K., Mohammadi, N., Salehi, G., Ashrafizadeh, M.,

- &Mostafavi, E.** (2022). Bioengineering of green-synthesized silver nanoparticles: In vitro physicochemical, antibacterial, biofilm inhibitory, anticoagulant, and antioxidant performance. *Talanta*, 243, 123374. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123374>
- 76. Uthra, C., Nagaraja, K., Wadaan, M. A., Karuppiah, C., Maity, P., Baabbad, A., Shah, F., & Kumar, R.** (2025). Zinc and Copper Oxide Nanoparticles: Pioneering Antibacterial and Antibiofilm Strategies for Environmental Restoration against Antibiotic-Resistant Bacteria. *Materials*, 17(14), 3444. <https://doi.org/10.3390/ma17143444>
- 77. Vakili, N., Ashengroph, M., Sharifi, A., & Zorab, M. M.** (2025). Eco-friendly synthesis of copper nanoparticles by using *Ralstonia* sp. and their antibacterial, anti-biofilm, and antivirulence activities. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 42, 101978. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2025.101978>
- 78. Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L.** (2020). Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*, 9(2), 59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>
- 79. Wahab, S., Salman, A., Khan, Z., Khan, S., Krishnaraj, C., & Yun, S. I.** (2023). Metallic Nanoparticles: A Promising Arsenal against Antimicrobial Resistance—Unraveling Mechanisms and Enhancing Medication Efficacy. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14897. <https://doi.org/10.3390/ijms241914897>
- 80. Wang, L., Hu, C., & Shao, L.** (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1227–1249. <https://doi.org/10.2147/IJN.S121956>
- 81. Wang, N., Fuh, J. Y. F., Dheen, S. T., & Kumar, A. S.** (2021). Synthesis methods of functionalized nanoparticles: a review. *Bio-Design and Manufacturing*, 4, 379–404. <https://doi.org/10.1007/s42242-020-00106-3>
- 82. Waris, A., Din, M., Ali, A., Ali, M., Afridi, S., Baset, A., & Khan, A. U.** (2021). A comprehensive review of green synthesis of copper oxide nanoparticles and their diverse biomedical applications. *Inorganic Chemistry Communications*, 123, 108369. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2020.108369>
- 83. 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>

84. Yusof, H. M., Rahman, N. A. A., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Samsudin, A. A. (2022). Optimization of biosynthesis zinc oxide nanoparticles: Desirability-function based response surface methodology, physicochemical characteristics, and its antioxidant properties. *OpenNano*, 8, 100106. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2022.100106>
85. Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1137947. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>

# ***ANNEXES***

- **Annexe 1**

**Tableau 1:** Informations sur les souches bactériennes

Souches bactériennes	Type de dispositif médical	Service d'origine
P4.R.C	Sonde urinaire	Réanimation
P4.R.M	Sonde urinaire	Réanimation
P6.R.C	Sonde urinaire	Réanimation
P6.M.M	Sonde urinaire	Maternité
P10.M.Ch	Sonde urinaire	Maternité

- **Annexe 2**

La liste des milieux de culture utilisés dans cette étude est la suivante :

- **Bouillon lysogène (Lysogeny Broth-LB)**

Le bouillon LB est un milieu de culture liquide non sélectif, riche en nutriments initialement conçu pour la culture bactérienne.

- **Bouillon de Coeur-Cervelle (Brain Heart Infusion Broth-BHIB)**

C'est un bouillon non sélectif utilisé pour cultiver une grande variété de microorganismes, notamment des bactéries, des levures et des moisissures.

- **Gélose au cétrimide**

Il s'agit d'un milieu de culture solide sélectif principalement utilisé pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* à partir d'échantillons cliniques, environnementaux ou alimentaires.

- **Gélose de MacConky**

Ce milieu de culture sélectif et différentiel est conçu pour l'isolement des entérobactéries et d'autres bactéries Gram-négatif à partir de prélèvements d'origines diverses (clinique, alimentaire, environnementaux).

- **Gélose de Chapman**

Également appelée gélose au mannitol salé, est un milieu sélectif largement utilisé en microbiologie pour l'isolement des staphylocoques, notamment *Staphylococcus aureus*.

#### – **Gélose de Mueller Hinton**

Principalement utilisé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques par diffusion, la gélose de Mueller-Hinton est un milieu de croissance microbiologique non sélectif et non différentiel, nutritif et peu enrichi, favorisant une diffusion homogène des antibiotiques.

#### • **Annexe 3**

##### – **Préparation des milieux de cultures**

Le protocole suivant a été utilisé dans cette étude pour la préparation du milieu de culture.

Initialement, à l'aide d'une balance de précision, les poudres des milieux suivants ont été pesées précisément selon les recommandations du fabricant : LB (20 g/L), BHIB (37 g/L), gélose au cétrimide (46,7 g/L), gélose de MacConkey (51,50 g/L), gélose de Chapman (111.02 g/L) et gélose Mueller Hinton (21 g/L avec 15 g/L d'agar agar). Un litre d'eau distillée a ensuite été mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée, puis versé dans un erlenmeyer placé sur une plaque chauffante agitatrice. La solution a été agitée à l'aide d'un barreau magnétique afin d'assurer une dissolution homogène de la poudre. Le reste de l'eau a été progressivement ajouté tout en maintenant l'agitation, jusqu'à dissolution complète du milieu. Le mélange a ensuite été chauffé jusqu'à ébullition afin de confirmer la bonne préparation. Une fois le milieu prêt, il a été réparti dans des flacons stériles compatibles avec l'autoclave, soigneusement fermés pour éviter toute contamination. Enfin, les flacons ont été stérilisés afin d'éliminer toute forme microbienne.

#### • **Annexe 4**

Afin de préparer la galerie API 20E, Une colonie isolée a été prélevée à partir de cultures bactériennes pures de 24 heures, puis remise en suspension dans 5 mL d'eau distillée stérile, ajustée à une densité optique (DO) comprise entre 0,08 et 0,1. En parallèle, environ 5 mL d'eau ont été ajoutés au fond de la boîte d'incubation fournie, afin de maintenir une atmosphère humide durant l'incubation. À l'aide d'une micropipette stérile, les puits de la galerie ont été inoculés avec la suspension bactérienne. Les tests CIT, VP et GEL ont été entièrement remplis (tube et cupule), tandis que seuls les tubes des autres tests ont été remplis. Pour assurer les conditions anaérobies nécessaires, une goutte d'huile de paraffine a été

ajoutée dans les cupules des tests ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE. La boîte d'incubation a ensuite été refermée puis placée à 37 °C pendant 24 heures.

Après incubation, les résultats ont été interprétés soit directement, soit après l'ajout de réactifs spécifiques : une goutte de TDA pour le test TDA, une goutte de Kovacs pour le test IND, une goutte de VP1 puis VP2 pour le test VP, et une goutte de nitrate réductase 1 puis 2 pour le test GLU. Chaque test donne un résultat positif ou négatif. Les tests sont regroupés par séries de trois, avec chaque résultat positif est codé par une valeur de 1, 2 ou 4 et un résultat négatif est codé par 0. En additionnant les valeurs des tests positifs dans chaque groupe, un code numérique à 7 chiffres est généré. Ce code a ensuite été saisi dans le logiciel apiweb TM, permettant l'identification de la souche bactérienne à partir de la base de données de référence.

- **Annexe 5**

**Tableau 2:** Fiche technique des galeries API 20E

Tests	P4.R.C	P4.R.M	P6.R.C	P4.R.M
ONPG	-	+	-	+
ADH	+	+	+	+
LDC	-	+	+	+
ODH	-	+	+	+
CIT	+	+	+	+
H <sub>2</sub> H	-	-	-	-
URE	+	+	+	+
TDA	+	+	+	+
IND	-	-	-	-
VP	-	+	-	+
GEL	+	-	-	-
GLU	+	+	+	+
MAN	-	+	-	+
IND	-	+	-	-
SOR	-	+	-	+
RHA	-	+	-	+

SAC	-	+	-	+
MEL	+	+	+	+
AMY	-	+	-	+
ARA	+	+	+	+

**Tableau 3:** Souches bactériennes avec biotypes

Souches bactériennes	Biotypes	Espèces identifiés
P4.R.C	2236042	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P4.R.M	7335773	<i>Enterobacter aerogenes</i>
P6.R.C	6334042	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P6.M.M	7335573	<i>Enterobacter cloacae</i>

## **Abstract**

Bacterial biofilms are complex structures that provide bacteria with strong resistance and persistence in various environments, particularly in medical settings. These microorganisms can adhere to medical devices, such as urinary catheters, and cause chronic infections that are difficult to eradicate. In response to the growing emergence of antibiotic resistance, new anti-biofilm strategies are being explored, notably the use of nanoparticles biosynthesized by microorganisms. The objective of this study was to produce nanoparticles from hospital-derived bacteria and to evaluate their antibacterial and anti-biofilm activities against these same strains. Five bacterial strains isolated from urinary catheters were identified through morphological examinations and biochemical tests. The biofilm-forming capacity was assessed using Congo Red Agar (CRA) and the tissue culture plate (TCP) methods. Under controlled experimental conditions, silver, copper, and zinc nanoparticles were biosynthesized by these strains. Finally, the antibacterial and anti-biofilm activities of the obtained nanoparticles were tested against the strain with the highest nanoparticle production yield as well as the one with the strongest biofilm-forming ability. The results revealed a significant activity of these nanoparticles, highlighting their potential as a promising alternative for the prevention and treatment of infections associated with bacterial biofilms. This study thus opens encouraging perspectives in the fight against healthcare-associated infections.

**Keywords:** Anti-biofilm strategy, Antibiotic resistance, Biofilm, Nanoparticles, Urinary catheters.

## ملخص

تُعدّ الأغشية الحيوية البكتيرية تراكيب معقدة تمنح البكتيريا قدرة عالية على المقاومة و البقاء في بيئات متعددة، لا سيما في الوسط الطبي. يمكن لهذه الكائنات الدقيقة أن تلتصق بالأجهزة الطبية مثل القساطر البولية، مسببةً التهابات مزمنة يصعب التخلص منها. و نظرًا للتزايد المستمر في مقاومة المضادات الحيوية، تُستكشف حاليًا استراتيجيات بديلة لمكافحة الأغشية الحيوية، من بينها استخدام الجسيمات النانوية المُنتجة حيويًا بواسطة الكائنات الدقيقة. هدفت هذه الدراسة إلى إنتاج جسيمات نانوية من سلالات بكتيرية ذات منشأ استشفائي، ثم تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا و المضاد لتكوين الأغشية الحيوية ضد السلالات نفسها. تم عزل خمس سلالات بكتيرية من القساطر البولية، و تحديدها باستخدام الفحوصات الشكلية و الاختبارات الكيميائية الحيوية. كما تم تقييم قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي باستخدام وسط أجار الكونغو الأحمر و طريقة أطباق زراعة الأنسجة. تحت ظروف تجريبية مضبوطة، أُنجزت عملية إنتاج جسيمات نانوية من الفضة، النحاس و الزنك بواسطة هذه السلالات. و أُجري اختبار النشاط المضاد للبكتيريا و المضاد للغشاء الحيوي لهذه الجسيمات على السلالة الأعلى إنتاجًا للجسيمات النانوية، و كذلك السلالة الأكثر قدرة على تكوين الغشاء الحيوي. و قد كشفت النتائج عن فعالية ملحوظة للجسيمات النانوية المنتجة، مما يؤكد إمكانيتها كخيار واعد للوقاية و العلاج من الالتهابات المرتبطة بالأغشية الحيوية البكتيرية. تفتح هذه الدراسة آفاقًا واعدة في مجال مكافحة العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية.

**الكلمات المفتاحية:** الجسيمات النانوية، استراتيجية مكافحة الغشاء الحيوي البكتيري الغشاء الحيوي البكتيري، القساطر البولية، مقاومة المضادات الحيوية.

## Résumé

Les biofilms bactériens sont des structures complexes conférant aux bactéries une forte résistance et une grande persistance dans divers environnements, notamment en milieu médical. Ces microorganismes peuvent adhérer aux dispositifs médicaux, tels que les sondes urinaires, et provoquer des infections chroniques difficiles à éradiquer. Face à l'émergence croissante de la résistance aux antibiotiques, de nouvelles stratégies anti-biofilm sont explorées, notamment l'utilisation de nanoparticules biosynthétisées par des microorganismes. L'objectif de cette étude était de produire des nanoparticules à partir de bactéries d'origine hospitalière, puis d'évaluer leur activité antibactérienne et anti-biofilm contre ces mêmes souches. Cinq souches bactériennes, isolées de sondes urinaires, ont été identifiées par des examens morphologiques et des tests biochimiques. La capacité de formation de biofilm a été évaluée à l'aide du milieu Congo Red Agar (CRA) et de la méthode des plaques de culture tissulaire (TCP). Dans des conditions expérimentales contrôlées, la biosynthèse de nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc a été réalisée par ces souches. Enfin, l'activité antibactérienne et anti-biofilm des nanoparticules obtenues a été testée contre la souche présentant le rendement le plus élevé en production de nanoparticules ainsi que celle montrant la plus forte capacité de formation de biofilm. Les résultats ont révélé une activité notable de ces nanoparticules, mettant en évidence leur potentiel en tant qu'alternative prometteuse pour la prévention et le traitement des infections associées aux biofilms bactériens. Cette étude ouvre ainsi des perspectives encourageantes dans la lutte contre les infections liées aux soins.

**Mots clés :** Biofilm, Nanoparticules, Résistance aux antibiotiques, Sondes urinaires, Stratégie anti-biofilm.