



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

Belahouel Khaled

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie fondamentale

THÈME

Biosynthèse de nanoparticules à base d'extrait de plante
(*Myrtus communis*) et la caractérisation de leurs activités
biologiques

Soutenue publiquement le : 26 /09/2021

DEVANT LE JURY

Président : Mr Bahri Fouad	Professeur	(Université de Mostaganem)
Encadreur : Mme Belhadji Amel	MCB	(Université de Mostaganem)
Examinatrice : Mme CHIALI Fatima Zohra	MCA	(Université de Mostaganem)

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

En préambule à ce rapport nous remercions ALLAH qui nous a aidé et nous a donnés la patience et le courage durant toutes nos années d'étude

. Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Mostaganem, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous tenons à remercier Madame Belhadji A .notre encadrant de mémoire, pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, ainsi que pour ses encouragements lors de la réalisation de ce travail. Je remercie sincèrement Professeur BAHRI F et CHIALI F Y qui a accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions tous les enseignants qui m'ont guidé durant les cinq années de formation surtout les enseignants de la spécialité de microbiologie.

Et nous n'oublions pas toutes les personnes du corps médical de l'EPH Ain tedles Mostaganem.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs Aicha Fatima Asmaa pour leur appui et leur encouragement,

. A ma chère amie chahinaz Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

*A tous mes amis qui me sont chers Tous mes collègues de la promotion :
2020/2021*

A toute ma famille BELAHOUEL pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi

Liste des abréviations :

ODC : Ornithine décarboxylase.

NPs : Nanoparticules.

ZnO : Oxyde de zinc.

AgNO₃ : Nitrate d'argent.

CuO : oxyde de cuivre.

CuSO₄ : sulfate de cuivre.

Résumé :

La biosynthèse verte des nanoparticules se développe de plus en plus rapidement et de manière quasi universelle. Ce phénomène est particulièrement marqué pour les nanoparticules d'argent et de cuivre responsables de protection de denrées alimentaires, et leur utilisation comme puissant agent antibactérien. L'objectif de ce travail c'est la caractérisation des nanoparticules d'argent, de cuivre et de zinc bio synthétisées à partir d'extraits de la plante médicinale *Myrtus communis*.

La présente étude a permis de démontrer l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées à partir de cette plante, spécialement celles de cuivre et d'argent qui ont montré une activité antibactérienne importante à l'égard des bactéries pathogènes, surtout *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : *Myrtus communi.*; Nanoparticules ; Composés phénoliques; Biosynthèse; Activité antibactérienne.

الملخص:

يتطور التخليق الحيوي الأخضر للجسيمات النانوية بسرعة أكبر و بشكل شبه عالمي، و هذه الظاهر تتميز بشكل خاص لجسيمات الفضة و النحاس النانوية المسؤولة عن حماية المواد الغذائية، واستخدامها كعامل قوي مضاد للجراثيم. الهدف من هذا العمل هو توصيف الجسيمات النانوية من الفضة و النحاس و الزنك العضوي المصنعة من مستخلصات نبات طبي *Myrtus communis*. أظهرت الدراسة الحالية النشاط المضاد للبكتيريا من الجسيمات النانوية المصنعة من هذا النبات، و خاصة النحاس و الفضة الجسيمات النانوية التي أظهرت فعالية كبيرة كمضاد للبكتيريا ضد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

Abstract:

The green biosynthesis of nanoparticles is developing more and more rapidly and almost universally, and this phenomenon is particularly marked for silver and copper nanoparticles responsible for protecting foodstuffs, and their use as a powerful antibacterial agent. The objective of this work is the characterization of nanoparticles of silver, copper and bio zinc synthesized from extracts of the medicinal plant *Myrtus communis*.

The present study has demonstrated the antibacterial activity of nanoparticles synthesized from this plant, especially copper and silver NPS which have shown significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Liste des figures :

Figure n°01 : Position phylogénétique des Myrtaceae et présentation des taxons les plus connus.....	3
Figure n°02 : Distribution du genre <i>Myrtus</i>	4
Figure n°03 : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques.....	9
Figure n°04 : : Tailles des différents types de nanoparticules.....	10
Figure n°05: Différentes formes et structures des nanoparticules de ZnO.....	13
Figure n°06: les étapes de la synthèse verte en utilisant les feuilles de <i>Myrtus Communis</i>	31
Figure n°07 : Mécanisme de formation du NP de ZnO par la synthèse verte.....	33
Figure n°08: schéma de synthèse des NPs de CuSO4 par extrait de <i>myrtus communis</i>	34
Figure n°09: Extraits aqueux de <i>Myrtus communis</i> avant la biosynthèse des nanoparticules.....	37
Figure n°10: Extraits aqueux de <i>Myrtus communis</i> après la biosynthèse des nanoparticules.....	37
Figure n°11 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur la bactérie <i>staphylocoque aureus</i>	39
Figure n°12 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur la bactérie <i>E.Coli(réference)</i>	39
Figure n°13: L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur la bactérie <i>Pseudomonace aerogenosa</i>	40
Figure n°14 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur la bactérie <i>E.Coli Clinique</i>	40
Figure n°15 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur la bactérie <i>Klabsiella pneumoneae</i>	41
Figure n°16 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur <i>Condida albicans</i>	42
Figure n°17 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de <i>Myrtus communis</i> sur la bactérie <i>Proteus vulgaris</i>	42

Liste des tableaux :

Tableau n°01 classification botanique de <i>Myrtus communis</i>	4
Tableau n°02 :Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités.....	12
Tableau n°03 : Applications de nanoparticules de ZnO.....	14
Tableau n°04 classification de Escherichia Coli.	18
Tableau n°05 : classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Tableau n°06 : classification de <i>Staphylocoques aureus</i>	20
Tableau n°07 : la classification de <i>Proteus vulgaris</i>	22
Tableau n°08 : classification de <i>Klebsiella pneu</i>	24
Tableau n°09 classification de <i>Candida albicans</i>	25
Tableau n°10 : matériels de laboratoires utilisés.....	27
Tableau n°11 : liste des souches microbiennes testées.....	29
Tableau N°12 : diamètre des zones d'inhibitions des NPs synthétisée par l'extrait de <i>Myrtus communis</i>	38

Table des matières :

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Sommaire:

Remerciements	Erreur ! Signet non défini.
Dédicace	Erreur ! Signet non défini.
Liste des abréviations :	Erreur ! Signet non défini.
Résumé :	Erreur ! Signet non défini.
الملخص	Erreur ! Signet non défini.
Abstact.....	Erreur ! Signet non défini.
Liste des figures :	Erreur ! Signet non défini.
Liste des tableaux :	Erreur ! Signet non défini.
Table des matières :	Erreur ! Signet non défini.
Introduction :	Erreur ! Signet non défini.

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Plante médicinales.

1-Historique :	1
2-Connaitre les plantes médicinales en phytothérapie :	2
2-1-Des plantes médicinales à la phytothérapie :	2
2-2-Plante médicinales et phytothérapie en Algérie :	2
2-3- Les constituants chimiques des plantes médicinales :	2
3-Classification des plants médicinales:	2
4-Présentation d'une plante étudiée	3
4-1. Généralités	3
4-2. Origine :	3
4-3-Classification de la plante <i>Myrtus communis</i> :	4
4-4-Description botanique de la plante <i>Myrtus Communis</i> :	5
4-5- Principaux constituants :	5
4-6-Utilisation médicinales et traditionnelle :	6
4-7-Travaux antérieurs :	6

Chapitre 02 : Biosynthèse de nanoparticules

1-Généralité :	8
----------------------	---

2-Définition des nanoparticules :	9
3-Tailles des différents types de nanoparticules :	10
4-Classification des nanoparticules :	10
4-1-Classification de nanoparticules en fonction de leurs sources :	10
4-1-1-Origine naturelle :	10
4-1-1-1-Biologique :	10
4-1-1-2-Minérale ou environnementale :	10
4-1-2-Origine humaine :	10
5-Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités :	11
6- Propriétés de nanoparticule de ZnO :	12
6-1-Propriétés structurales :	12
7-Applications de nanoparticules de ZnO :	13
8-Nanoparticules de cuivre et d'oxyde de cuivre :	14
8-1-Généralités :	14
8-2-Effets antibactériens :	14
9-Propriétés des nanoparticules d'argent :	15
9-1-Propriétés biocides de l'argent :	15
10-Production des nanoparticules d'argents :	15
10-1-Sources des nanoparticules d'argents	15
10-2-Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent :	15
10-2-1-Méthodes physiques :	15
10-2-2-Méthodes chimiques :	16
10-2-3-Méthodes biologiques :	16

Chapitre 03 : Bactéries Pathogène

1- <i>Escherichia coli</i> :	18
1-1- Généralités :	18
1-2-Classification :	18
1-3-Habitat :	18
1-4-Pouvoir pathogène :	18
2- <i>Pseudomonas aerogenosa</i> :	19
2-2-classification :	19
2-3-Habitat :	20

2-4- Pouvoir pathogène :	20
3- <i>Staphylococcus aureus</i> :	20
3-1-Généralités :	20
3-2- Classification :	21
3-3-Habitat :	21
3-4-pouvoir pathogène :	21
4- <i>Proteus vulgaris</i> :	22
4-1-Généralités :	22
4-2- classification :	22
4-3- Habitat :	23
4-4- Pouvoir pathogène :	23
5- <i>klebsiella pneumoneae</i> :	24
5-1-Généralités :	24
5-2-Classification :	24
5-3-Habitat :	24
5-4-pouvoir pathogène :	25
6- <i>Candida albicans</i> :	25
6-1- Généralité :	25
6-2- Classification :	25
6-3- Habitat :	26
6-4- Pouvoir pathogène :	26

Partie 2 : partie expérimentale

Chapitre 4 : Materiel et méthode

1-Objectif :	27
2-But de l'étude :	Erreur ! Signet non défini.
3-Matériel végétal :	27
4-Matériels et méthode :	27
5-les souches bactériennes :	28
6-protocole Expérimentale (extraction) :	29
6-1-préparation de la plante :	29
6-2-La synthèse verte des NPs de ZnO :	29
6-3-Synthèse des NPs à partir d'extrait de <i>MYRTUS COMMUNIS</i> :	30

7- Synthèse des NPs par extrait de <i>Myrtus communis</i> :.....	32
8- Synthèse des Nps de CuSO_4 à partir de l'extrait de <i>Myrtus communis</i> :.....	33
9-Synthèse des Nps de nitrate d'argent par extrait de <i>Myrtus communis</i> :	35
10-Réalisation du teste antibactérienne :	35
10-1-purification de la souche :.....	35
10-2-réactivation de la souche :	35
10-3-Ensemencement sur milieu Muller-Hilton :.....	35
10-4-préparation des disques :	35
10-5-application des disques :.....	35
10-6-Mesure de diamètre d'inhibition :.....	36

Chapitre 5 :Résultats et discussions

1-Résultats et discussions :.....	37
1-1-Synthèse des nanoparticules :	37
1-2-Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées :.....	38
Discussion :	Erreur ! Signet non défini.
Conclusion	44
Conclusion :	45
References bibliographies:.....	47

Introduction :

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention des substances bioactives qui sont à l'origine de plusieurs médecines modernes grâce à leur richesse en métabolites secondaires, notamment en composés phénoliques dotés de propriétés biologiques bénéfiques.

Le problème des résistances aux antimicrobiens n'est pas nouveau. La résistance antibiotique est le défi le plus difficile à résoudre dans le domaine médical pour le traitement des maladies infectieuses. Lors des premières utilisations d'antibiotiques, les problèmes de résistance étaient marginaux. Cependant, la surutilisation des antibiotiques a permis de sélectionner des organismes résistants qui colonisent et induisent les infections difficiles à traiter. Lorsque les bactéries deviennent résistantes à plusieurs types d'antibiotiques, appelées multi résistantes (MDR), le traitement de ce genre d'infections est extrêmement difficile (**Breathnach, 2013 ; Campoccia et al. 2006**). Cette résistance aggrave sévèrement le problème des infections et met de la pression pour le développement de nouveaux traitements (**Ziebuhr, 2006 ; Pavon-Djavid, 2005 ; Raffi 2010**). Les microorganismes peuvent détenir des gènes de résistance.

La résistance microbiologique est la croissance d'une souche bactérienne en présence d'antibiotiques. Et la résistance clinique se traduit par l'absence d'amélioration du patient après 72h d'administration d'un antibiotique (**Low et al. 2002 ; Weiss, 2002**).

De nos jours, l'émergence de la nanotechnologie, qui fait référence à la production à l'échelle nanométrique (1 à 100 nm) de matériaux ou de produits de tailles et de structures contrôlées, est la conséquence de l'apparition de nouvelles propriétés physico-chimique plus avantageuses et uniques qui les diffèrent largement des autres matériaux en raison de leur faible taille des charges. Ces performances ont contribué à des changements radicaux dans divers domaines de la technologie et de la science (Ramsden 2016).

Les produits végétaux trouvent une utilisation impérative dans la synthèse des nanoparticules (NPs). L'argent(Ag) est le métal de choix parmi les métaux nobles pour des applications potentielles dans le domaine des systèmes biologiques, de la matière organique et de la médecine. (**Zargar, Hamid et al. 2011**)

Des méthodes biosynthétiques ont été étudiées pour la production des NPs d'Ag apparue comme une approche prompte et simple de synthèse, peu coûteuse, respectueuse de l'environnement et rentables (**Zargar, Hamid et al. 2011**).

Parmi les plantes à potentialités pharmacologiques importantes, *Myrtus communis* qui est largement répandue et utilisée en Algérie. Ses activités biologiques sont étroitement liées à leur richesse en substances actives, qu'elles renferment tels que les composés phénoliques.

Les synthèses chimiques et physiques des nanoparticules ne peuvent pas être développées facilement à une production à grande échelle en raison de plusieurs inconvénients tels que la présence de solvants organiques toxiques, la production de sous-produits dangereux et des composés intermédiaires et une forte consommation d'énergie.

Cela pourrait conduire à une augmentation de la réactivité et de la toxicité des particules, ce qui pourrait nuire à la santé humaine et à l'environnement en raison de la composition de l'ambiguïté et du manque de prévisibilité. Par conséquent, cela conduit à des méthodes biologiques qui pourraient être plus respectueuses de l'environnement et ne causent aucun dommage à la santé.

Le présent thème de recherche nous permet d'étudier la synthèse de nanoparticules (ZnO, CuO, Ag) par l'extrait des feuilles de *Myrtus communis*.

Il est connu que plusieurs nanoparticules (argent, zinc, cuivre) sont toxiques pour les bactéries. L'effet bactéricide des nanoparticules d'oxydes métalliques (Jiayin et al. 2010) a été rapporté sur les souches, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Staphylococcus aureus* (Huang et al. 2010 ; Morones et al. 2005). Plusieurs travaux s'intéressent au développement de surface antimicrobienne pour des applications médicales.

L'objectif général à long terme vise à développer des "nano-biotiques" à base des extraits de plantes entre autre *Myrtus communis*, afin de prévenir les infections urinaires surtout celle causée par les germes multi-résistants. Dans cette étude, nous évaluerons in vitro l'effet antibactérien des nanoparticules (CuSO₄, ZnO, AgNO₃) préparés par l'extrait de cette plante sur des bactéries pathogènes.

Ce mémoire comporte deux parties : une partie bibliographique et une partie expérimentale.

La partie bibliographique comporte :

Chapitre 01 : Les plantes médicinales

Chapitre 02 : biosynthèses des nanoparticules.

Chapitre 03 : Les bactéries pathogènes.

La partie expérimentale comporte :

Chapitre 04 : Matériels et méthodes.

Chapitre 05: Résultats et discussions.

La dernière partie Conclusion.

CHAPITRE I :
LES PLANTES MEDICINALES

1-Historique :

Depuis des milliers d'années, l'homme a cherché à se soigner avec des végétaux (plantes, arbres, fleurs,...). Pendant des siècles, voir millénaires, l'efficacité de cette médecine reposait sur des croyances pour ne pas dire des mythes. Avec l'avancée de la science, notamment à la fin du 19^{ème} siècle et pendant le 20^{ème} siècle, il a été possible de commencer à prouver scientifiquement l'efficacité ou non des plantes médicinales.

Une partie importantes de ces plantes n'a pas réussi à dépasser le stade de la croyance (on parle dans ce cas de médecine populaire), mais plusieurs plantes médicinales ont vu leur efficacité prouvée scientifiquement. C'est le cas par exemple du thym, un puissant antiseptique ou encore du millepertuis, un antidépresseur en cas de dépression légère à modérée. Actuellement, de nombreuses études sont en court à travers le monde (surtout dans les instituts de phytothérapie des facultés de pharmacie). **(Depoers, P, Ledoux. F, Meurin. P, 2002).**

Pendant le Moyen-âge, des instituts catholiques sont contribué au développement de l'usage des plantes médicinales. A cette époque, de nombreuses couvents et monastères avaient un jardin de plante médicinale (appelé jardin de simple). Hildegarde Von Bingen est une célèbre religieuse allemande du 12^{ème} siècle, elle a étudié des centaines de plantes médicinales et reste aujourd'hui connue chez les passionnés de plantes.

La médecine moderne (on parle parfois aussi de médecine chimique ou allopathique, par opposition à l'homéopathie) repose en partie sur les plantes médicinales, certains principes actifs comme l'aspirine ont été isolés de plantes médicinales comme le saule ou la reine-des-prés, tout comme la digitaline extraite de la digitale. Actuellement, la plupart de ces principes actifs sont produits par synthèse chimique et rarement isolés de plantes, surtout pour l'industrie pharmaceutique **(Depoers, P, Ledoux. F, Meurin. P, 2002).**

Les plantes médicinales (par exemple de régions tropicales) sont aussi la source de nouvelles molécules contre le cancer. La grande biodiversité de certaines régions (Madagascar, Amazonie) permet la découverte de molécules avec de précieuses propriétés comme parfois un potentiel anti-tumoral **(Merad A.S, Mohamedi. D, Yala. D, Ouarkorich M.N, 2001).**

2-Connaitre les plantes médicinales en phytothérapie :

2-1-Des plantes médicinales à la phytothérapie :

A l'origine la phytothérapie tire ses principes de la phytologie, qui est l'étude des plantes. On ne pourrait faire une application thérapeutique des plantes sans avoir au préalable fait l'étude de celle-ci. En effet, les plantes médicinales bien utilisées ont de nombreuses vertus, il ne faut pas oublier qu'une plante mal utilisée peut être toxique, et qu'une partie d'une plante peut soigner un trouble particulière tandis qu'une autre partie de cette même plante peut être dangereuse pour la santé. (Boulard. B, 1997)

2-2-Plante médicinales et phytothérapie en Algérie :

Grace à sa situation géographique, relief, sa grande variété de climats et de sols, l'Algérie possède une flore variée dans les régions côtières montagneuse, les hautes plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 300 espèces sont utilisée en médecine (Atbib, M, 1998).

2-3- Les constituants chimiques des plantes médicinales :

C'est d'abord la chimie dite, d'extraction, qui a permis d'obtenir les principes actifs issus des plantes. La chimie de synthèse par la suite, permis de reproduire et de reconstituer ces principes végétaux en prenant modèle sur la plante. Les substances végétales actives, présentes à faible dose dans les plantes, peuvent jouer différent rôles :

- ✓ Favoriser leur croissance
- ✓ Améliorer leurs échanges avec le milieu environnent
- ✓ Se défendre contre les insectes, les bactéries ou les champignons (Cilleres. M, 1997).

3-Classification des plants médicinales:

La classification des plantes médicinales peut se faire en fonction de nombreux intérêts.

Classification botanique (systématiques).

Classification thérapeutiques (action physiologique).

Classification chimique (nature de principe actif : alcaloïdes....etc).

Classification commerciale (intérêt commercial)(Cillers. M, 1997).

4-Présentation d'une plante étudiée

4-1. Généralités

Le genre *Myrtus* est à la fois le type botanique d'une grande famille végétale, La famille des Myrtaceae Jussieu, la huitième plus grande famille de plantes à fleurs, en comptant plus de 140 genres et environ 5 600 espèces (Kew Garden check-list). La classification APGIII (2009) et les travaux récents de Soltis *et al.* (2011) classent la famille des *Myrtaceae* au sein des clades suivants: les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtilles (Figure 1). Au sein des Myrtaceae, on trouve des arbres et des arbustes très fréquemment producteurs d'huiles aromatiques (*Eucalyptus*, *Melaleuca*, *Myrtus*...) à usage thérapeutique ou pour la parfumerie, avec également production de fruits (*Eugenia* ou *Psidium* dont fait partie le goyavier) ou d'épices (*Syzygium* dont le giroflier) (Migliore, 2011).

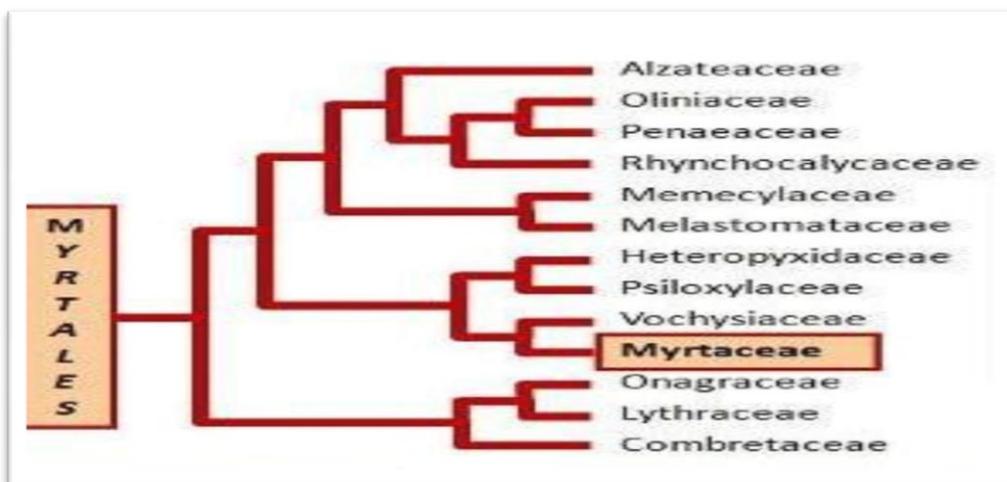


Figure n°01 : Position phylogénétique des *Myrtaceae* et présentation des taxons les plus connus (Sytsma et Hapeman, 1996 *in* Migliore 2011).

4-2. Origine :

Le genre *Myrtus* est le seul genre qui soit indigène en Méditerranée et au Sahara (Figure 2). Au sein de cette famille d'affinité tropicale, *Myrtus communis* L. a une distribution circumméditerranéenne, puisqu'il s'étend en Micronésie (Açores et Madère), mais aussi en zone irano-touranienne (montagnes de l'Alborz, du Zagros et région de Kerman en Iran), et même, peut-être, en Asie (en Afghanistan voire au Pakistan) (Migliore 2011 ; Figure 2). En Algérie, il pousse spontanément sur l'Atlas tellien et les régions côtières d'Alger et de

Constantine, où il est connu sous le nom de «rihan» ou «Mersin» (Quézel et Santa, 1962). D'innombrables variétés de myrtes ont été décrites par de nombreux botanistes. Cependant, cela reflète plus le polymorphisme foliaire du myrte commun, que sa phylogénie. Ainsi, il n'existe officiellement qu'un seul autre taxon au sein du genre *Myrtus* : il s'agit du myrte de Nivelles ou *Myrtus nivellesii* (Migliore 2011).

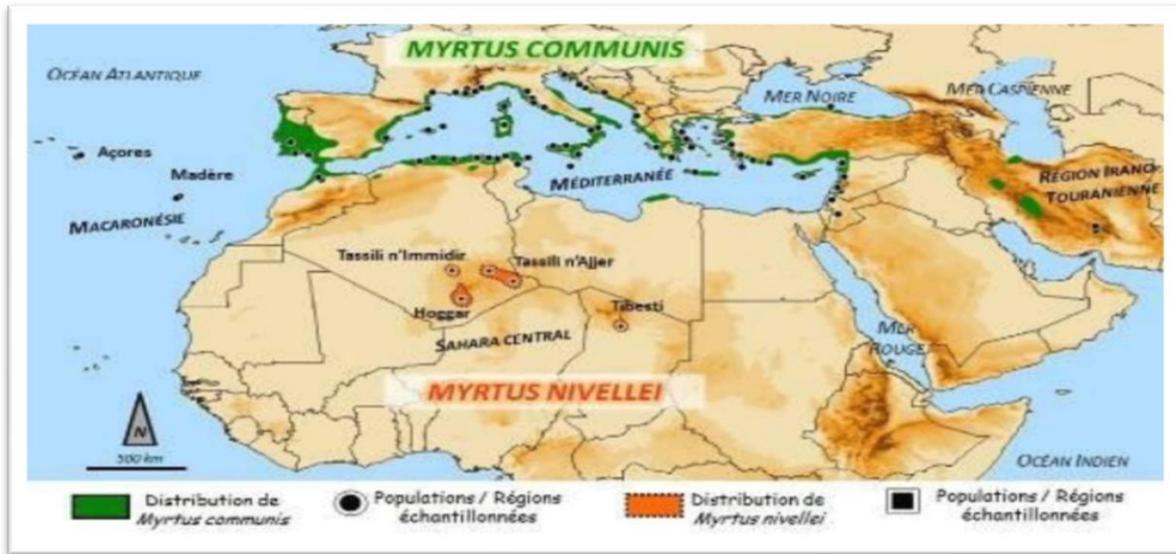


Figure n°02 : Distribution du genre *Myrtus* (Migliore, 2011)

4-3-Classification de la plante *Myrtus communis* :

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Cemaecker. D ? 2004) synthétisée dans le tableau n°01 :

Tableau n°01 : classification botanique de *Myrtus communis* (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tacheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Myrtus
Nom binominal	<i>Myrtus Communis</i>

4-4-Description botanique de la plante *Myrtus Communis* :

Myrtus Communis, familles des Myrtacées pousse spontanément et en abondance dans les régions méditerranéennes, commune dans le Tell et sur le littoral du centre (Mimica-Dukic, 2010 : Baba Aissa, 1999).

C'est un arbuste de un à deux mètres de hauteur ; en buissons denses d'un vert brillant. Il se remarque par ses fleurs blanches très ouvertes et ses nombreuses étamines en touffe ébouriffée.

Son odeur aromatique forte et particulière est l'un de ses traits de caractère. La plante renferme de nombreuses poches sécrétrices surtout au niveau des feuilles. Ces dernières sont ovoïdes Lancéolées, 2 à 3 fois plus longue que larges, à nervation pennée persistantes, opposées, à très court pétiole, coriaces et d'un vert brillant. Les fleurs apparaissent au début de l'été ; elles sont grandes 10-15 mm ; solitaires sur un long pédoncule à l'aisselle des feuilles et très odorantes et pourvues à la base de bractées de très petite, rapidement caduques. Les fruits sortent à l'automne, ce sont des bacs ovoïdes 6-8 mm noires bleuâtres à peau charnue, conservant à leur partie supérieure les restes des calices. Ces fruits sont comestibles mais après et astringents.

Les rameaux sont de tailles fine de couleur verte qui se transforme rapidement en brun orangé, pubescents dans leur jeunesse (Barboni. T , 2006 ; quezel et santa, 1963).

- Origine et habitat :

M. Communis est rencontré dans les bois, les garigues, les maquis notamment dans les Roussilles, Le Languedoc, en Provence et encore. Il est généralement spontané en Europe méditerranéenne, en Algérie septentrionales et en Asie occidentale (Alamanni M.C, Cossu. M, 2004).

4-5- Principaux constituants :

Des vitamines, les éléments minéraux (azote, calcium, potassium, sodium) les obligéoelements (zinc, fer, cobalt, cuivre, manganèse, nickel...) (Almanni M.C, Cossu. M, 2004).

4-6-Utilisation médicinales et traditionnelle :

Le myrte est utilisé pour lutter contre les bronchites et les dilatations bronchiques, les mucopurulentes des voies respiratoires et urinaires, la tuberculose pulmonaire, la rhinorrhée, la sinusite, les otites, les diarrhées, les prostatites, et les hémorroïdes. Elle est connue également par son effet hypoglycémique (Mimica-Dukic et al, 2010 ; Baba Aissa, 1999).

4-7-Travaux antérieurs :

Nous reprenons, ci-dessous, les principaux travaux relatifs à l'étude des composés phénoliques du *Myrtus Communis*. Les premières études sur les composés phénoliques ont été réalisées en 1967 par El-Sissi et El-Ansary et concernant l'analyse des flavonoïdes contenus dans les feuilles.

En 1987, Diaz et Abeger analysent les composés phénoliques simples et principalement flavonoïdes et les acides phénoliques contenus dans les feuilles du myrte. Après extraction au méthanol, l'extrait est passé dans une colonne ouverte pour l'isolement des molécules. Les fractions ainsi récoltées sont soumises à des études chromatographiques, spectrophotométriques.

Plus récemment, les travaux de Martin et al (1999) sur les composés polyphénoliques du péricarpe du fruit du myrte indiquent une composition riche en myricétine, en hespéridine et en esculine. Les composés sont extraits par un mélange méthanol-eau (60/40) à température ambiante et séparés par chromatographie sur colonne ouverte. L'identification se fait par spectrométrie UV et par RMN du Carbone-13 et du proton. Romani et al (1999) ont étudié la composition des polyphénols extraits au solvant (éthanol à 70%) à partir des feuilles du myrte.

Récemment, en 2006a, Montoro et al, ont travaillé sur la stabilité et l'activité antioxydante des polyphénols extraits des baies du myrte pour la préparation des liqueurs en Sardaigne et en Italie.

Ils ont dosé les flavonoïdes et les anthocyanes par CLHP – UV – VIS et l'identification par LC/SM-ESI (couplage de la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse en mode : Electrospray), en se plaçant à deux longueurs d'ondes caractéristiques de ses deux classes de composés polyphénoliques à savoir 350 nm et 520 nm. Une macération s'est déroulée en laissant les baies au contact de l'éthanol pendant 40 jours. Ils ont pu identifier 14 composés, parmi lesquels 8 anthocyanes et 6 flavonoïdes dont les majoritaires, Montoro et al. (2006b) utilisent différentes techniques pour l'identification (RMN et LCES/MS) et la

quantification (CLHP-UV-VIS en utilisant des standards internes) des anthocyanes dans les baies du myrte.

Les travaux de Wannes et al. (2010) sur l'analyse des composés phénoliques de Myrte par HPLC ont permis d'identifier 10 composés, parmi lesquels 4 tanins hydrolysables qui sont la oenothéine B, l'eugéniflorin, la D2, les tellimagrandins I et les tellimagrandins, 2 acides phénoliques, (l'acide gallique et l'acide quinique 2,5-di-O-gallate) et 4 myricétine glycosides (myricétine 3-O-β-D-xyloside, myricétine 3-O-β-D galactoside, myricétine 3-O-β-D - galactoside 6-O-gallate et myricétine 3-O-α-L-rhamnoside).

CHAPITRE II :
BIOSYNTHESE DES NANOPARTICULES

1-Généralité :

Le domaine de la nanotechnologie est défini comme la combinaison de la science et de l'ingénierie. La nanotechnologie peut toucher aussi bien le design, la synthèse et caractérisation des particules (Sahoo, Parveen, & Panda, 2007). Avec les problèmes de résistance aux antibiotiques, les nanoparticules sont devenues une stratégie prometteuse pour détruire des bactéries. Les nanoparticules sont définies comme étant des particules ayant une taille de l'échelle nanométrique (entre 1 et 100nm soit 10^{-9} d'un mètre) (Laurent & Mahmoudi, 2011 ; Moore, 2006 ; Wahajuddin & Arora, 2012; Wu, He, & Jiang, 2008). Les chercheurs ont un réel engouement pour les nanoparticules en grande partie pour la toxicité des nanoparticules envers les bactéries. L'application des nanomatériaux comme de nouveaux antimicrobiens pourrait fournir des modes d'action et différentes cibles cellulaires comparés aux antibiotiques classiques.

Cependant, les propriétés nanométriques sont très mal connues, les chercheurs essaient de déterminer l'impact possible toxique des NPs sur les microorganismes et les mécanismes de toxicité qui sont utilisés (Adams, 2006 ; Zhang, 2007 ; Jiang, 2009) (Hajipour et al. 2012). Leur toxicité dépend de plusieurs propriétés physico-chimiques telles que leur forme (cubique, sphérique) (Wahajuddin & Arora, 2012), leurs caractéristiques de surface (Nhiem et al., 2010; Szalay, Tatrai, Nyiro, Vezer, & Dura, 2012; Wahajuddin & Arora, 2012), leur attraction électrostatique (Stoimenov et al., 2002; Morones et al., 2005; Adams et al., 2006; Zhang et al., 2007; Heinlaan et al., 2008; Huang et al., 2008; Neal, 2008; Aruoja et al., 2009), leur taille (Wahajuddin & Arora, 2012)) et aussi à la composition des nanoparticules (Aruoja, Dubourguier, Kasemets, & Kahru, 2009)(Jiang et al, 2009). Les chercheurs supposent que l'effet antimicrobien peut être aussi dû au type d'espèces microbiennes étudiées (Gram positif ou Gram négatif) (Jiang, 2009).

Il est connu que plusieurs nanoparticules (argent, zinc, cuivre) sont toxiques pour les bactéries. L'effet bactéricide des nanoparticules d'oxydes métalliques (Jiayin et al. 2010) a été rapporté sur les souches Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas fluorescens, et Staphylococcus aureus (Huang et al. 2010 ; Morones et al. 2005). Plusieurs travaux s'intéressent au développement de surface antimicrobienne pour des applications médicales.

2-Définition des nanoparticules :

Les nanoparticules (NPs) sont des agrégats de petites molécules de taille nanométrique (dimension entre 1 et 100 nm) constitués de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. La taille nanométrique augmente la surface de contacts entre les matériaux, ce qui leur confère une plus grande réactivité (Delay and Frimmel 2012).

C'est un agglomérat des millions d'atomes qui forment une molécule dont la dimension est comprise entre 5 et 200 nm (Faraji et Wipf 2009) ou plus globalement inférieure à 1 μm . Les tailles des nanoparticules sont donc du même que les protéines et les virus (Figure 3). (D.E. Belfennache, constantine, 2012).

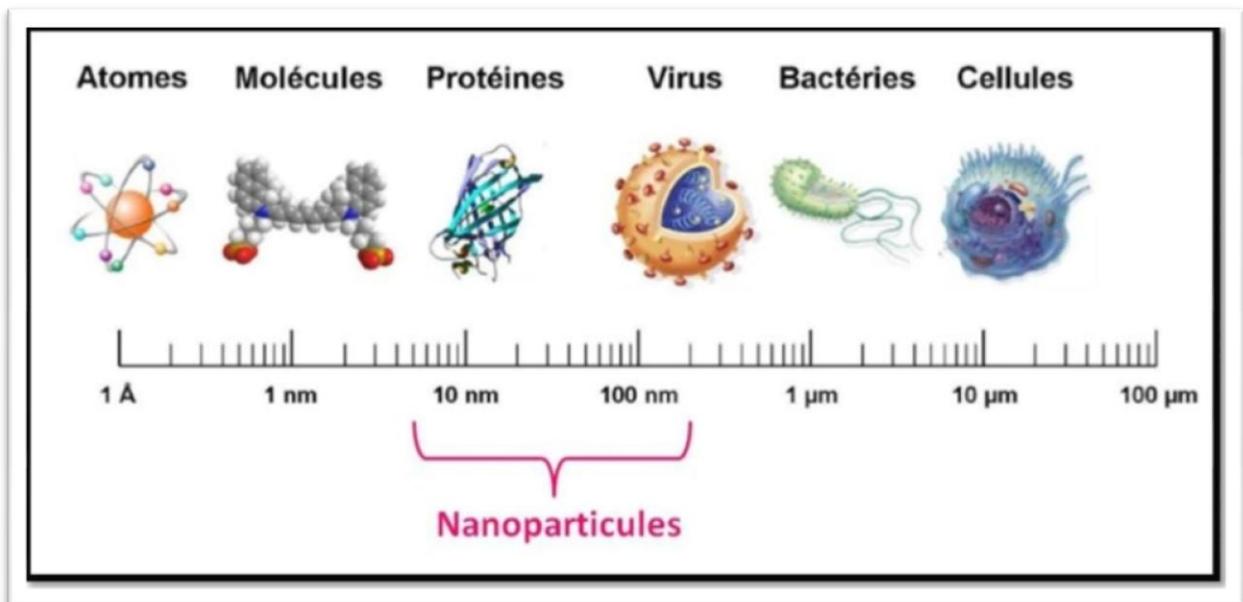


Figure n°03 : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (D.E. Belfennache, constantine, 2012).

3-Tailles des différents types de nanoparticules :

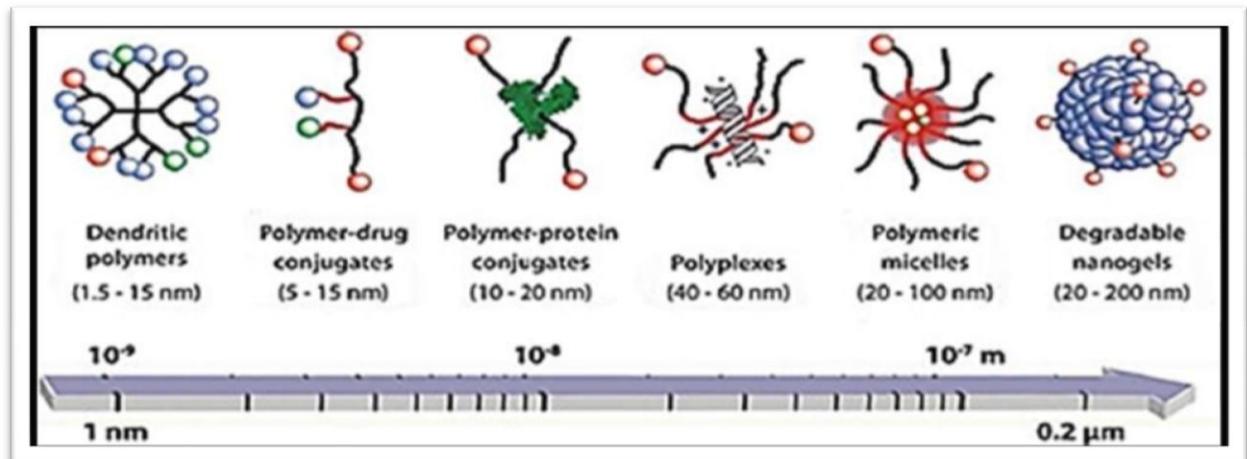


Figure n°04 : Tailles des différents types de nanoparticules (Belfennache, 2012).

4-Classification des nanoparticules :

4-1-Classification de nanoparticules en fonction de leurs sources :

4-1-1-Origine naturelle :

4-1-1-1-Biologique :

Dont l'ADN - diamètre de l'ordre de 2,5 nm, plusieurs bactéries - 30 nm à 10 µm, plusieurs virus (10 à 60 nm).

4-1-1-2-Minérale ou environnementale :

La fraction fine du sable de désert, les fumées originaires d'activité volcanique ou de feux de forêt et certaines poussières atmosphériques.

4-1-2-Origine humaine :

Les « engineered nanoparticles », ou nanoparticules manufacturées, qui sont les nanomatériaux fabriqués dans un but d'application technologique comme les particules ultrafines d'oxyde de titane et des métaux ultrafins, les pigments de peinture, etc. Les « bulk nanoparticles » : le noir de carbone, la fumée de silice, la fumée d'huile, le « smog » et les particules diesel...etc (F. Prosie, F.-X. Lesage, F. Deschamps).

5-Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités :

Les différentes nanoparticules sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau n°02 : Exemples des nanoparticules et ses applications, propriétés et fonctionnalités (A. Elkaiem, constantine, 2005)

Nanomatériaux	Applications	Propriétés, fonctionnalités
Argent	Déodorants, dentifrices Agents de dépollution des eaux et des sols Encre Habillement	Antibactérien Dégradation/adsorption de contaminants Conductivité microélectronique Antibactérien, pigment, Teignabilité
Dioxyde de titane	Béton, ciment Crème de soin, crème solaire Agents de dépollution des eaux et des sols Peintures Habillement	Autonettoyant, dépollution Absorbeur UV Dégradation/adsorption de Contaminants Autonettoyant, dépollution, résistance aux UV et aux rayures Résistance aux UV, autonettoyant, retardateur de flamme
Noir de carbone	Maquillage Batterie Peinture Habillement	Pigment Conductivité Pigment, pouvoir couvrant Conductivité thermique et Electrique
Nanotube de carbone (NTC)	Cellule photovoltaïque Batterie Peinture Habillement	Rendement Conductivité Résistance mécanique, conductivité électrique, résistance à l'abrasion Retardateur de flamme, résistance mécanique, conductivités thermique et électrique
Fullerènes	Crème de soin Vectorisation de médicaments, de protéines, de gènes Pneumatique	Antioxydant Encapsulation et transport dans l'organisme Résistance mécanique
Oxyde de zinc	Conditionnement et emballage plastique Crème de soin Cellule photovoltaïque Peinture	Antibactérien Cicatrisant, adsorbeur UV Rendement Matité, autonettoyant, dépollution, résistance aux UV
Silice amorphe	Béton Dentifrice	Fluidifiant, résistance mécanique, protection thermique Abrusif, épaississant

	Peinture Habillement	Matité, résistance aux rayures et à l'abrasion Retardateur de flamme, hydrophobie, anti-tache, antiadhésif
Argile	Conditionnement et emballage plastique Béton Crème de soin, maquillage Habillement	Résistance mécanique, conservation Résistance au feu Matité Teignabilité, résistance mécanique, retardateur de flamme
Oxyde ferrique	Maquillage Agents de dépollution des eaux et des sols Peinture Détection, marquage et imagerie biologique	Pigment Dégradation/adsorption de contaminants Pigment Magnétisme
Dioxyde de Cérium	Pot catalytique Verre Peinture	Catalyseur d'oxydation du monoxyde de carbone Résistance aux UV Résistance aux UV, anti-graffitis
Oxyde d'aluminium	Conditionnement et emballage plastique Maquillage Eclairage Pneumatique Habillement	Conservation Pigment Rendu de l'éclairage Résistance mécanique
Terres rares	Radiothérapie et thérapie Détection, marquage et imagerie biologique Batterie	Traçabilité, anti-contrefaçon Transports d'agents thérapeutiques Luminescence Substitution des métaux lourds

6- Propriétés de nanoparticule de ZnO :

6-1-Propriétés structurales :

Le changement de la taille ou des dimensions de la nanoparticule change la propriété physique de la matière. La structure de nanoparticule de ZnO est la plus riche de tous autres matériaux. Il existe un fort moment dipolaire qui minimise leur énergie. La croissance anisotrope selon l'axe C donne des structures comme l'hélice ou les piliers (A. Elkaiem, constantine, 2015).

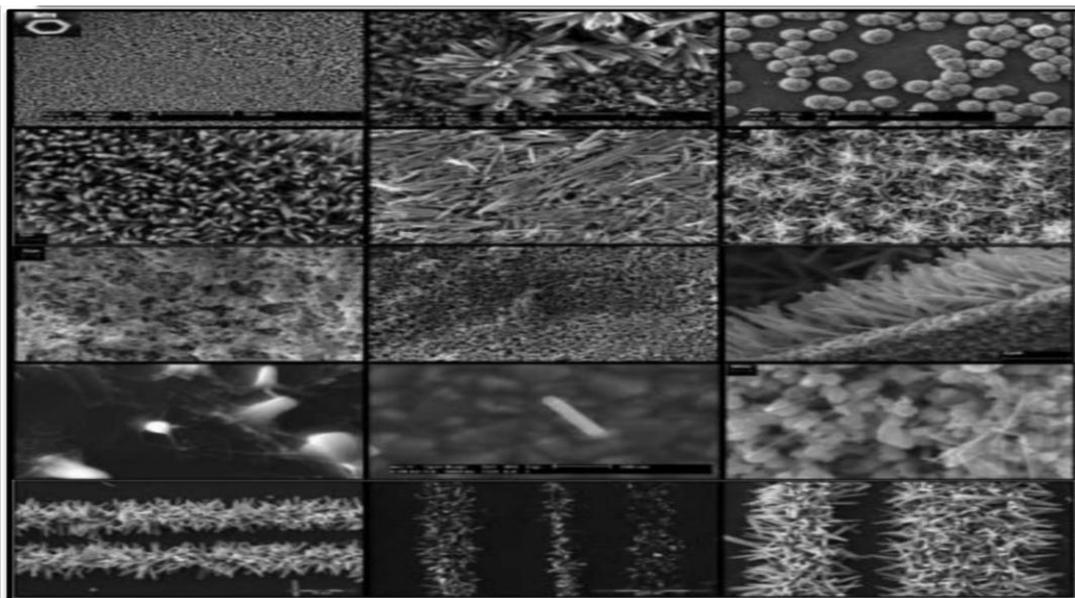


Figure n°05 : Différentes formes et structures des nanoparticules de ZnO(J. Wang, 2006).

7-Applications de nanoparticules de ZnO :

Le tableau 3 regroupe les différentes applications de nanoparticules de ZnO.

Tableau n°03 : Applications de nanoparticules de ZnO. (R. Myriam, INRS 2014).

Industries	Applications	Propriétés / fonctionnalités
Construction, bâtiment et travaux publics	Revêtement pour l'acier, le béton, la pierre, le verre, etc.	Autonettoyant, résistance aux UV et IR
Cosmétique, produit et équipement de soin et d'hygiène	Crème de soin (et autres produits de soin : démaquillant, nettoyant, exfoliant, etc.)	Antioxydant Cicatrisant, absorbeur UV
Energie et Environnement	Cellule photovoltaïque	Rendement
Peinture, vernis et Encre	Peinture (intérieure et extérieure)	Pigment, pouvoir couvrant
Pharmacie et santé	Dispositifs médicaux : fil de suture, seringue, cathéter, bande de contention, etc.	Antibactérien
Plasturgie et Caoutchouc	Caoutchouc : pneumatique, semelle de chaussure, câble, joint...etc.	Résistance à l'abrasion, dureté, résistance aux UV, dépolluant
Textile, habillement, papier et carton	Habillement	Résistance aux UV, autonettoyant

8-Nanoparticules de cuivre et d'oxyde de cuivre :

8-1-Généralités :

Le cuivre est un oligo-élément (**Rakhmetova et al. 2010**), présent dans l'organisme à faible concentration (1.5 à 3 mg/kg/jour apport quotidien) et sans lequel la vie ne serait pas possible. Le cuivre est nécessaire au bon fonctionnement de certains enzymes. Il est essentiel et nécessaire pour la stimulation du système immunitaire contre les infections et un élément essentiel pour maintenir l'homéostasie. Cependant, pour les bactéries, le cuivre n'est pas un élément essentiel. Il joue un rôle bénéfique pour les organismes supérieurs (animaux) et non pour les organismes inférieurs (virus et bactéries). Donc sa présence à l'intérieur de la cellule est considérée comme étrangère. Il est connu toxique envers les microorganismes (**Ren et al. 2009 ; Ruparelia, Chatterjee, Duttagupta, & Mukherji, 2008**).

8-2-Effets antibactériens :

L'effet antimicrobien des nanoparticules de cuivre contre de nombreux organismes a été rapporté dans diverses études (**Esteban-Cubillo, Pecharromán, Aguilar, Santarén, & Moya, 2006 ; Ren et al. 2009 ; Ruparelia et al. 2008 ; Yoon, Hoon Byeon, Park, & Hwang, 2007**). Plusieurs paramètres rentrent en considération pour l'augmentation de l'effet antimicrobien des NPs de cuivre et oxyde de cuivre. Yoon a regardé l'effet antibactérien des nanoparticules d'argent et de cuivre sur les souches *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Il remarque que le ratio des bactéries mortes augmente lorsque les concentrations de NPs augmentent (plus de 70, 80µg/ml) (**Yoon et al., 2007**). D'autres nanoparticules de cuivre et d'argent ont été étudiées par l'équipe de Rupa relia, et les conclusions sont similaires à l'équipe de Yoon. Il conclut que les effets antibactériens des nanoparticules de cuivre et argent sont dépendants de la concentration des nanoparticules et de la concentration en bactéries initialement (**Ruparelia et al. 2008**). Malgré la même composition des particules, la taille de ces dernières joue un rôle très important. Les nombreuses études tentant d'établir une relation dose/réponse ont révélé l'importance de la taille de la NP et/ou de sa surface (**Wahajuddin & Arora, 2012**). Des résultats de recherches ont démontré que les particules nanométriques, contrairement au cuivre libre, avaient une toxicité plus élevée sur les bactéries planctoniques.

9-Propriétés des nanoparticules d'argent :

9-1-Propriétés biocides de l'argent :

Depuis la fin des années 1990, l'utilisation des nanoparticules d'argent colloïdal connaît un essor extrêmement important en raison de leur réactivité élevée, et leur pouvoir à limiter la propagation des infections, ainsi que l'amélioration de l'hygiène quotidienne. Elles ont également une capacité à libérer progressivement, et de manière contrôlée et durable, les ions Ag^+ (Lok, Ho et al. 2007).

Les nanoparticules d'argent sont couramment utilisées pour leurs propriétés bactéricides dont leur état d'oxydation joue un grand rôle. En effet, seules les nanoparticules d'Ag contenant la forme oxydée sont toxiques au contraire des nanoparticules métalliques de degré d'oxydation nul. La toxicité augmente lorsque la taille des nanoparticules diminue ce qui est directement corrélé avec une augmentation de la fraction d'ions Ag^+ adsorbée en surface des particules (Lok, Ho et al. 2007).

10-Production des nanoparticules d'argents :

10-1-Sources des nanoparticules d'argents

Les nanoparticules d'argents, sont des objets relativement fréquents produites soit à partir du métal naturel, soit à partir de l'argent ionique (Tolaymat, El Badawy et al. 2010). Ils existent en effet différentes sources de production des nanoparticules d'argent :

- ♣ Les sources naturelles de l'argent est son extraction des gisements miniers contenant de l'argentite (Ag_2S) ou en association avec d'autres éléments sulfurés (ex. nickel, cuivre).
- ♣ Les sources accidentelles (feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage,...),
- ♣ Sources industrielles : ex. émissions et rejets industriels.

10-2-Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent :

10-2-1-Méthodes physiques :

Les méthodes mécaniques, telles que l'homogénéisation et le broyage ont été utilisées pour préparer des nanoparticules d'argent pour application antimicrobienne. Cependant, les nanoparticules d'argent obtenues ont formé des agrégats et ont montré un mauvais effet

bactéricide et inhibiteur. Dans les procédés physiques récents, les nanoparticules d'argent sont généralement synthétisées par évaporation-condensation (Simchi, Ahmadi et al. 2007).

10-2-2-Méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques de préparation de nanoparticules d'argent incluent la réduction chimique en solution aqueuse (Wang, An et al. 2012) (Li, Hong et al. 2010) ou organique, (Gibbons and Getman 1914), la réduction électrochimique (Cheng, Dong et al. 2002), la voie micellaire inverse (Zhang, Qiao et al. 2007), la réduction biochimique (Narayanan and Sakthivel 2010) ...etc. De par sa simplicité, la synthèse de nanoparticules par réduction chimique est la technique la plus utilisée pour former des solutions colloïdales de nanoparticules métalliques (Bulgakova and Bulgakov 2001) (Shannon, Mao et al. 1995). De plus, parmi toutes les techniques de synthèse, elle offre probablement le meilleur contrôle de taille et de forme (Dupont, Caminat et al. 1995) (Vogel, Noack et al. 1999). Elle repose principalement sur l'utilisation de trois composants, soit : un précurseur métallique, un agent réducteur et un agent stabilisant (Simchi, Ahmadi et al. 2007)

10-2-3-Méthodes biologiques :

Les méthodes chimiques permettent la préparation des nanoparticules de taille uniformes et contrôlables ; cependant elles emploient des solvants organiques présentant des risques potentiels pour l'environnement (Nair, Sasidharan et al. 2009). En outre, la réduction biologique est développée comme une méthode prometteuse en raison de ses avantages particuliers tels que des sources suffisantes de matériaux, des conditions de réaction modérées, et une bonne dispersion des nanoparticules ainsi que l'absence d'additifs chimiques et des sous-produits chimiques (Shankar, Rai et al. 2004).

Il a donc été nécessaire de recourir aux méthodes biologiques pour développer une approche respectueuse de l'environnement pour la synthèse des nanoparticules d'argent en utilisant des microorganismes (Nair, Sasidharan et al. 2009), des enzymes (Willner, Baron et al. 2006) et des plantes ou des extraits de plantes (Shankar, Rai et al. 2004).

Hamid, Zargar and others 2011 ont démontré la perspective d'employer l'extrait méthanolique des feuilles de plantes pour la synthèse des nanoparticules d'argent par une méthode biologique. (Jang, Yang et al. 2016) Ont effectué une étude sur l'activité anticancéreuse in vitro de nanoparticules argentées synthétisés à partir d'extraits de plantes. (Taşkıran, UZUNOĞLU and others. 2017) Ont réalisé une recherche sur la caractérisation et la détermination des propriétés adsorbants des nanoparticules d'argent synthétisées avec

l'extrait de feuilles d'*Acacia cyanophylla*). (**Kumar, Kumar et al. 2018**) Ont opté pour la synthèse verte des nanoparticules d'argent en utilisant l'extrait d'*Antidysenterica holarrhena* et la détermination de leur activité larvicide contre des vecteurs de dengue et de filariose.

CHAPITRE III :
LES BACTERIES PATHOGENES

1-Escherichia coli :**1-1- Généralités :**

Escherichia coli, ou colibacille, est le germe le plus fréquemment rentré dans les infections urinaires. Il représente plus de 90% de la flore aérobie commensale du tube digestif. Les régions péri anales puis le revêtement cutané en particulier au niveau des plaies.(Boisivon,a, Guibert,J,ACAR j,f 1976)(13)

1-2-Classification :**Tableau n°03 : classification de *Escherichia Coli* (Pillet et al, 1986)**

<i>Escherichia Coli</i>	
Règne	Bactérie
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia
Espèce	Coli

1-3-Habitat :

E.coli, hôte normal de l'intestin de Lhomme et des animaux, souvent retrouvé en petit nombre dans les urines sains. C'est une bactérie largement répandue dans les milieux extérieurs, elle ne semble cependant pas pouvoir y mener une vie saprophyte authentique : sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécal récente.

1-4-Pouvoir pathogène :

En médecine humaine ces germes sont qualifiés à la fois de banals commensaux et d'indiscutables Agents pathogènes. Ils peuvent donner lieu à deux types d'infections :

Infection extra intestinales et intestinales. Ce germe peut être véhiculé dans des sites intestinaux, appareils génitaux et urinaires, cystites, infection, hépatite biliaire ou digestif,

nerveuses (méningite à *E. coli*) et de septicémie. Les *Escherichia coli* en cause ont le même pouvoir invasif que *Shigella*, ou ils se multiplient à l'intérieur des cellules et ou ils causent des inflammations des diarrhées (syndrome schigellose) sanglantes riches en mucus et leucocytes (nauciel et validé, 2005)

2-*Pseudomonas aeruginosa* :

2-1-Généralités :

Ils comprennent quelques dizaines d'espèces mais quelques-unes seulement sont rencontrées en pathologie humaine avec une certaine fréquence. L'espèce type est *Pseudomonas aeruginosa*, ou bacille pyocyanique.

Les infections spontanées à pyocyanique sont très rares et surviennent sur des terrains immunodéprimés. L'infection urinaire à pyocyaniques est en général une surinfection liée à une instrumentation ou à une chirurgie (24).

2-2-classification :

Tableau n°04 : classification de *Pseudomonas aeruginosa* (Pillet et al, 1986)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Règne	Bactérie
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma Proteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

2-3-Habitat :

Ces bactéries, largement répandues dans l'environnement, vivent dans le sol et l'eau. Elle se retrouve sur les plantes, dans les matières organiques nos vivantes (denrées alimentaires), entraînant, parfois, leur altération organoleptique (**Pillet et al. 1986**).

Elles se rencontrent chez l'homme ou l'animal, au niveau des fosses nasales. Elles constituent, pour la plupart, une flore commensale. Certaines jouent un rôle pathogène. (fauchère et avril, 2002).

2-4- Pouvoir pathogène :

-chez l'homme, l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (appelé aussi bacille pyocyanique) intervient fréquemment comme pathogène opportuniste. Elle se retrouve en flore de transit sur la peau et les muqueuses et cause des surinfections de plaies ou brûlures. Chez des individus immunodépressifs elle peut être la cause de diverses infections cutanées et viscérales voire de septicémie. Elle comporte un risque particulièrement élevé d'infections nosocomiales (Maiga . AB 1993).

3- *Staphylococcus aureus* :**3-1-Généralités :**

-Les staphylocoques ont été identifiés par LUIS PASTEUR. Ce sont en effet des bactéries qui peuvent être d'inoffensifs commensaux ou provoquer des infections d'une extrême gravité, celles-ci peuvent avoir un visage épidémiologique divers sous la forme d'épidémies, dans la collectivité.

-Une espèce *staphylocoques aureus* (staphylocoque doré) tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales.(Nauciel et validé, 2005).

3-2- Classification :

-Tableau n°05 : classification de *Staphylocoques aureus* (Pillet et al, 1986)

<i>Staphylocoques aureus</i>	
Règne	Bactérie
Embranchement	Fimicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	Staphylococcus
Espèce	Aureus

3-3-Habitat :

Staphylocoques aureus est un germe ubiquitaire. Retrouvé dans le sol, l'air et l'eau (Faucher et avril 2002). Ils sont trouvés sur les peaux et muqueuses des animaux, de l'homme, dans le sol, les poussières, les eaux et dans certaines produits alimentaires, avec un pouvoir très important.

3-4-pouvoir pathogène :

-Infections cutanées *Staphylocoques aureus* est la principale bactérie en cause les infections cutanées avec formation de pus.

Autres infections localisées :

-Infections de l'appareil respiratoire : pneumonie et pleurésie.

-endocardite,

- infections urinaires,
- phlébites,
- méningites (S. aureus parfois impliqué),
- otites et sinusites (S. aureus parfois impliqué),
- infections des os : ostéomyélites.
- infections dites nosocomiales, qui est contractées dans un établissement de santé.
- Intoxications alimentaires (Nauciel et vildé, 2007).

4-Proteus vulgaris :

4-1-Généralités :

Proteus vulgaris est un genre de bactérie appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les porteuse sont des bactéries immobiles (Revu, 2007).

Les *proteus* comprennent quatre (4) espèces différentes (*mirabilis*, *vulgaris*, *morganii* et *rettger*). Appartenant à la famille des entérobactéries, sont des bactéries saprophytes du tube digestif. Les *Proteus* sont, de par leur résistance à la colistine et, pour certaines espèces, aux tétracyclines.

Proteus rettegi et *Providencia*, résistant à un grand nombre d'antibiotiques sont, par excellence, des bactéries de sur injection hospitalières (sondes urinaires).

L'intérêt considérable porté en pathologie urinaire aux infections à *Proteus* est dû à leur association presque constante avec des calculs coralliformes. L'alcalinisation des urines au cours des infections à *Proteus*, associée à la présence d'une uréase très active, favorise la précipitation des cristaux d'oxalate et la formation de calculs.

4-2- classification :

La classification de *Proteus vulgaris* et synthétisée dans le tableau n° 6 :

Tableau n°06 : la classification de *Proteus vulgaris* (Pillet et al, 1986).

<i>Proteus vulgaris</i>	
Règne	Bactérie
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Protéus
Espèce	Vulgaris

4-3- Habitat :

Proteus vulgaris est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. On peut le trouver dans le sol, l'eau et les matières fécales. Il est regroupé avec les entérobactéries et est un pathogène opportuniste de l'homme (Madec. F, Tillon J.P, 1983).

Les proteus sont très répandus dans la nature : on les rencontre dans les eaux de surface, les eaux usées, le sol sur les légumes, dans la flore de putréfaction des matières organiques animales. Ils végètent en saprophyte sur la peau et les muqueuses, ils sont les hôtes habituels du tube digestif de l'homme et des animaux, quoiqu'en petit nombre.

4-4- Pouvoir pathogène :

Les proteuse sont des bactéries habituellement saprophytes. Elles ont un pouvoir pathogène varié et peuvent se comporter comme des photogènes opportuniste notamment chez les individus hospitalisé, immunodéprimés, cathétérismes ou présentant des a nomades des vois urinaires.(Olin Tudge, 2000).

5-klebsiella pneumoneae :**5-1-Généralités :**

-*Klebsiella pneumoneae* est un hôte normal du tube digestif, mais en faible quantité, ne dépassent pas 5% de la flore aérobie. Sa résistance naturelle à toutes les pénicillines dégradables par les β - lactamases (pénicilline G, ampicilline, carbénicilline etc.).

les bactéries du genre klebsiella se distinguent par leur immobilité constante, leur regroupement en diplobacilles, généralement, en capsule (**Pillet et al, 1986**)

5-2-Classification :

-**Tableau n°07** : classification de *Klebsiella pneumoneae* (**Pillet et al, 1986**)

<i>Klebsiella pneumoneae</i>	
Règne	Bactérie
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Gamma proteobacteria
Ordre	Enterobacteriales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Klabsiella
Espèce	Pneumoneae

5-3-Habitat :

-ce sont des bactéries ubiquitaires présentes dans le tube digestif et dans l'appareil respiratoire des hommes et des animaux en tant que bactéries commensales.

Elles sont fréquentes dans les selles et peuvent être un indicateur d'une contamination fécale.

Elle sont abondantes dans le sol, les eaux et sont des fixateurs de l'azote atmosphérique.

5-4-pouvoir pathogène :

klebsiella détermine des infections respiratoires (pneumonie, l'abcès pulmonaire), des infections intestinales et urinaire, elle a un effet cytotoxique sur épithéliums des voies aériennes et peut être responsables d'infection hospitalière. Son pouvoir pathogène et sa virulence serait lié a plusieurs facteurs : sa capsule de lipo-polysaccharide, production d'un complexe extracellulaire (toxique pour les tissus pulmonaire notamment)(Regnault, 2000).

6- *Candida albicans* :**6-1- Généralité :**

Les candidas font partie des levures. Les champignons se multiplient par bourgeonnement. Cette levure produit du pseudo ou du vrai mycélium. Parmi les espèces de *candida* connu, seul le *candida albicans* est un saprophyte exclusif des muqueuses (respiratoires, vaginales, digestif) (Dr Boutoille, D. 2011).

6-2- Classification :**Tableau n°08 : classification de *Candida albicans* (Pillet et al, 1986)**

<i>Candida albicans</i>	
Règne	Fungi
Embranchement	Ascomycotac
Classe	Saccharomycètes
Ordre	Saccharomycetales
Famille	Saccharomycetaceae
Genre	Candida
Espèce	Albicans

6-3- Habitat :

Candida albicans vie en commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux. Elle devient pathogène sous l'effet de facteurs favorisants généraux ou locaux al, (Gérard et 2000).

Facteurs locaux

- Déséquilibre de la flore intestinale après prise d'antibiotique

Facteurs généraux

- Diabète
- Trouble de l'immunité (sida)
- Traitement provoquant une baisse de l'immunité (corticoïdes, cytostatiques, immunodépresseurs).
- Traitement provoquant un déséquilibre hormonal (oestroprogestatifs) (Gérard et 2000).

6-4- Pouvoir pathogène :

Candida albicans peut être à l'origine de plusieurs infections opportunistes telles qu'une candidose.

Les deux principaux types de candidose connus sont les candidose superficielles, cutanées et muqueuses et les candidas profonds qui surviennent toujours chez des sujets immunodéprimés.

Sur la peau candida est pathogène, elle est source de placards érythémateux émiétés (Bouvenot et al, 1996).

CHAPITRE IV :
LA PARTIE PRATIQUE

1-Objectif :

Ce travail a été réalisé au laboratoire n°22 faculté de science et technologie de l'université Abdelhamid ibn badis à Mostaganem.

Il a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées à partir des extraits des feuilles du myrte (*Myrtus communis*) sur les bactéries pathogène.

3-Matériel végétal :

-le matériel végétal est constitué par la feuille de *Myrtus Communis*. L'utilisation d'extrait de cette plante, pressées à froid et achetées du commerce. Ces plantes médicinales ont été choisies parmi tant d'autre pour leur caractère médicinal.

Le présent travail consiste à étudier l'activité antibactérienne de nanoparticules préparées à base d'extrait de *Myrtus Communis*.

4-Matériels et méthode :

Tableau N°09 : matériels de laboratoires utilisés.

Moyens	Les produits chimiques
-boite pétri	-eau distillé
-agitateur	-Müller-Hilton
-moulin électronique	-éthanol
-papier filtre	-sulfate de cuivre CuSO ₄
-fiolle	-nitrate d'argent AGNO ₃
-tubes à essais	-Acétate de zinc ZnO ₄
-bécher	
-seringue	

-spatule	
-disques vierges	
-bec benzène	
-entonnoir	
-étuve	
-Réfrigérateur	
-four	
-verre de montre	
-plaque chauffants	
- barreau magnétique	
-bain marie	
-une centrifugeuse.	

5-Les souches bactériennes :

L'étude a été réalisé sur sept souches bactérienne appartenant à la collection ATCC (American type culture collection) : *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Psuedomonas aeruginosa* (Gram négatif) et *staphylococcus aureus* (Gram positif) et *Proteus vulgaris* (Gram négatif) et *candida albicans* (Gram positif), *klebsiella pneumoniae* (Gram négatif), qui ont été fournies par les laboratoires de recherches de l'université de Mostaganem.

Tableau N°10 : liste des souches microbiennes testées

Souche	Gram	Source
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négative	Le laboratoire de microbiologie de l'université de Mostaganem
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positive	
<i>Escherichia coli</i>	Négative	

6-Protocole expérimentale :

6-1-Préparation de la plante :

-La synthèse verte des nanoparticules métalliques a attiré une attention considérable ces dernières années car ces protocoles sont peu coûteux et plus respectueux de l'environnement que les méthodes de synthèse standard. Dans ce chapitre, nous rapportons une méthode simple et respectueuse de l'environnement pour la synthèse des NPs d'oxyde de Zinc en utilisant une solution aqueuse d'extrait de plante *Myrtus Communis*. L. en tant que bio réducteur. Les NPs en Oxyde de Zinc préparés ont été caractérisées en utilisant une spectroscopie ultraviolette visible, une diffraction des rayons X sur poudre et une spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. De plus, nous avons essayé d'utiliser les NPs des ZnO dans les domaines du raffinage et de la pétrochimie.

6-2-La synthèse verte des NPs de ZnO :

-Procédure de synthèse des NPs de ZnO par chimie verte :

- Dans ce travail, nous avons synthétisé les NPs d'oxyde de zinc à l'aide de l'extrait des feuilles de *Myrtus Communis*. Il est un extrait par solvant organique. Nous présenterons par la suite les protocoles d'extraction et les protocoles de synthèse des NPs

Tableau n°11 : Buts des étapes de mode opératoire

protocole	But
* Broyage à l'aide du moulin électronique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine	Pour faciliter l'extraction de polyphénol.
* Macération : 100g de cette poudre + 1L d'eau distillée (1/10). * Mélanger sous agitation magnétique pendant un jour.	Pour extraire les polyphénols
* Filtration	Pour éliminer les déchets
* Séchage	1000c Pour éliminer l'eau
* Centrifugation	Pour séparer les impuretés (lavage)
*Un traitement thermique a été effectué à 500° C (3h)	Pour purifier la poudre de NPs de ZnO synthétisée (éliminer les autres matières organiques)

6-3-Synthèse des NPs à partir d'extrait de *Myrtus communis*:

L'extrait des feuilles de *MYRTUS COMMUNIS* est préparé par la méthode suivante : des feuilles de *Myrtus communis* ont été bien séchées sous l'ombre pendant 72 heures est broyée à l'aide du mixer jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. 28 gramme de cette poudre a été ajouté à 140ml de solution eau/éthanol (3/7, v/v), le tout est mélangé sous agitation Magnétique pendant 24 heure.

Le résultat d'extraction est centrifugé puis 0.25 g de solution sulfate de cuivre CuSO₄ est préparé dans un volume de 1 litre d'eau distillée et après on a pris trois concentrations différentes diluées de cette solution mélangée (4ml d'extrait avec 280 ml CuSO₄, 7ml d'extrait avec 350ml CuSO₄ et 10ml d'extrait avec 300ml CuSO₄). Les solutions résultantes sont transférées dans des béchers puis chauffé dans une plaque chauffante à 70° C pendant 1h. Le tout a subi puis un traitement de dilution : 1ml de chaque solution avec 4ml d'eau distillée, puis la Lecture UV. Puis un traitement thermique a été effectué à 400° C dans un four pendant 24 heures.

Figure n°06: les étapes de la synthèse verte en utilisant les feuilles de *Myrtus Communis*

	<p>* Les feuilles de <i>Myrtus Communis</i>. L sont nettoyées et séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire</p>
	<p>* Broyage à l'aide du moulin électronique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.</p>
	<p>* Macération : 100g de cette poudre + 1L d'eau distillée (1/10). * Mélanger sous agitation magnétique pendant un jour.</p>
	<p>* Filtration</p>

 <p>Samsung Dual Camera Galaxy A50 Khaled</p>	<p>*On ajoute l'Acétate de zinc respectivement : 0.2g - 0.6g - 1g à chaque 100 ml de l'extrait</p> <p>* Un traitement thermique a été effectué à 500° C</p> <p>*Chauffage 850c+agitation 350 tr/min.</p>
 <p>Samsung Dual Camera Galaxy A50 Khaled</p>	<p>* Centrifugation</p>
	<p>* Séchage 500°C</p>
	<p>*Spectroscopie UV (la nature d'absorption)</p>

7- Synthèse des NPs par extrait de *Myrtus communis* :

On lave les feuilles de *Myrtus communis* à l'eau de robinet puis à l'eau distillée. Ensuite on les broyé (100g) puis les trempe dans l'eau distillée (1L). De plus on fait une agitation de 350

tr/min pendant un jour. Filtrage le liquide avec coton en utilisant une pompe TC 501 v (SPARK MAX). Préparation des échantillons de concentrations massiques respectivement 0.2g d'acétates de Zinc/100 ml d'extrait, d'acétates de Zinc/100 ml d'extrait, 0.6g d'acétates de Zinc/100 ml d'extrait, d'acétates de Zinc/100 ml d'extrait et 1 g d'acétates de Zinc /100 ml d'extrait. Chauffage à (85 °C) avec une agitation (350 tr/min) pendant 1 heure et séchage à (100°C) pendant un jour. On ajoute à l'échantillon l'eau distillée et les laisse dans machine de centrifugation EZ Swing 3K (2800 tr/5 mn) pendant 5mn trois fois remplacement le liquide par l'eau distillée. Séchage pendant 1 jour. On les laisse à 500°C pendant 03 heures dans requit Wisd.

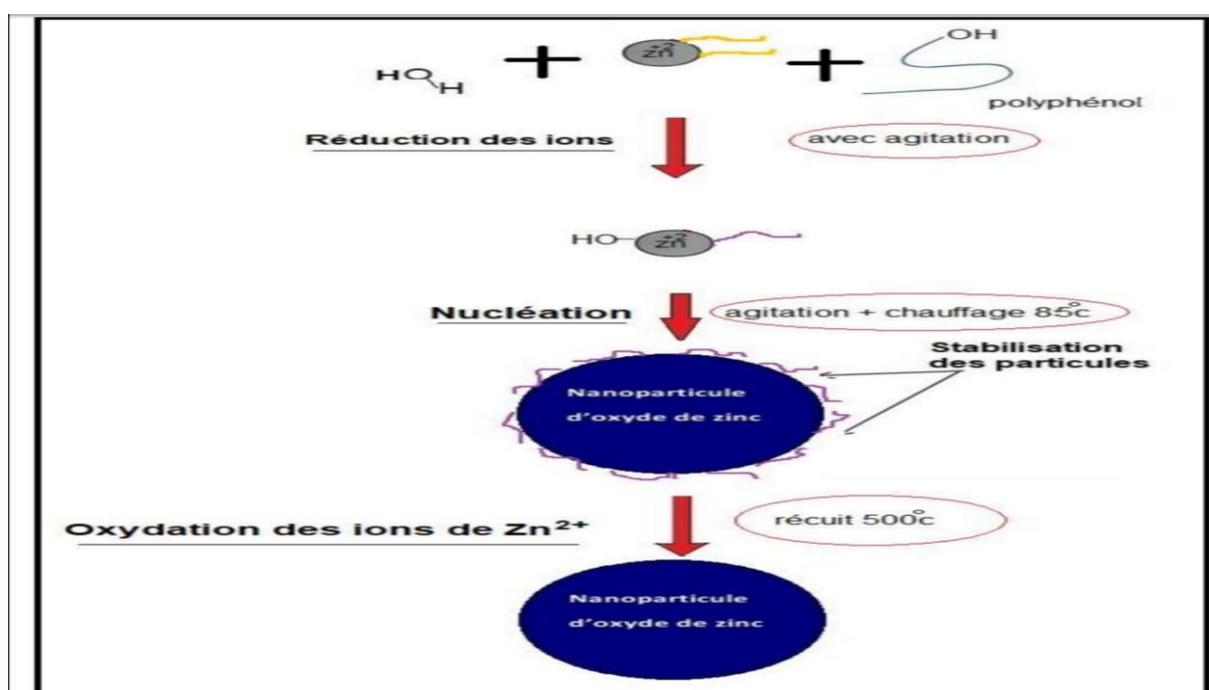


Figure n°07: Mécanisme de formation du NP de ZnO par la synthèse verte

8- Synthèse des Nps de $CuSO_4$ à partir de l'extrait de *Myrtus communis* :

L'extrait des feuilles de *Myrtus communis* est préparé par la méthode suivante :

de feuilles de *Myrtus communis* bien séchée sous l'ombre pendant 72 heures a est broyée à l'aide du mixer jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. 28 gramme de cette poudre a est ajouté à 140ml de solution eau/éthanol (3/7, v/v), le tout est mélangé sous agitation magnétique pendant 24 heure. Le résultat d'extraction est centrifugé puis 0.25 g de solution sulfate de cuivre $CuSO_4$ est préparé dans un volume de 1 litre d'eau distillée, après on a pris trois concentrations différentes diluées de cette solution mélangée (4ml d'extrait avec 280 ml

CuSO₄, 7ml d'extrait avec 350ml CuSO₄ et 10ml d'extrait avec 300ml CuSO₄). Les solutions résultantes sont transférées dans des béchers puis chauffé dans une plaque chauffante à 70° C pendant 1h. En fin un traitement thermique a été effectué à 400° C dans un four pendant 24 heures.

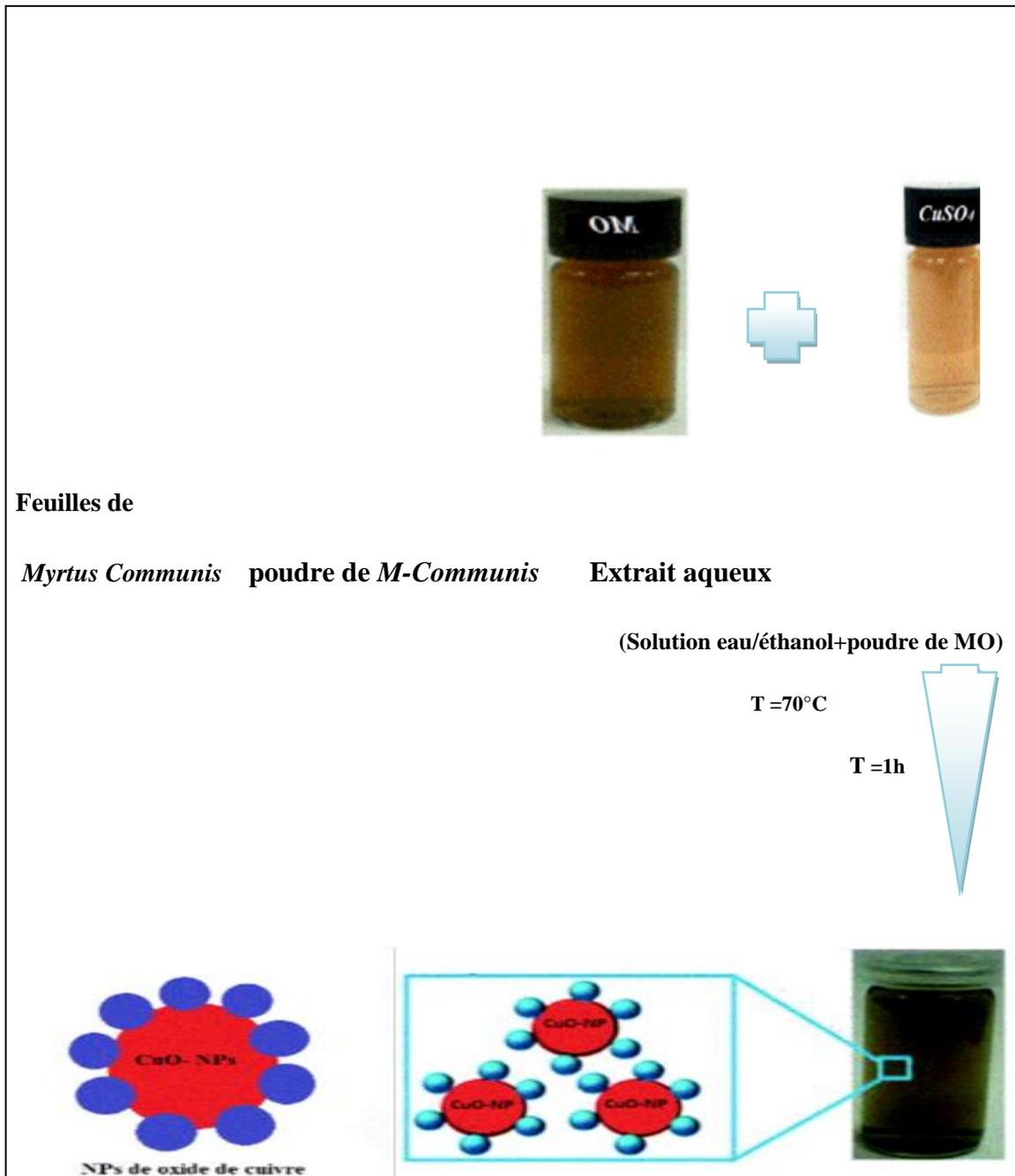


Figure n°08 : schéma de synthèse des NPs de CuSO₄ par l'extrait de *Myrtus communis*.

9-Synthèse des Nps de nitrate d'argent par extrait de *Myrtus communis* :

Les feuilles de *Myrtus Communis* ont été écrasés à l'aide d'un broyeur jusqu'à obtention d'une poudre fine et extraites du bain-marie. Pour la préparation des nanoparticules d'argents colloïdales, 1mM de nitrate d'argent (société Sigma) a été ajoutée à 2ml de chaque extrait végétal à 2ml de chaque extrait végétal, pour obtenir un volume final de 100 ml. Le tout a été chauffé dans un bain-marie pendant 15 minutes à 62°C.

10-Réalisation du teste antibactérienne :**10-1-purification de la souche :**

Pour chacune des souches, une culture a été effectuée sur le milieu d'isolement sélectif. Puis une coloration de Gram a été réalisée.

10-2-réactivation de la souche :

On a mis quelques colonies bien isolées de la culture purifiée et conservées à 4c° dans des années à essais contenant du bouillon nutritif. On l'a laissé 10 à 15 minutes. On aensemencé des boites de pétris coulées de GN. On a incubé à 37c° pendant 24h.

10-3-Ensemencement sur milieu Muller-Hilton :

A partir de la culture fraîche de 24h, on a mis quelques colonies dans le Bouillon nutritif, et laissé activée 3h. A l'aide de l'écouvillon, on aensemencé les boites délicatement.

10-4-préparation des disques :

Des disques vierges ont été confectionnées à partir de papier filtre avec un diamètre de 5 mm. Ces derniers ont été stérilisés.

10-5-application des disques :

On a trompé les disques vierges et stériles dans les extraits préparés. A l'aide d'une pince stérilisée, on a déposé chaque disque à la surface des boites préalablement ensemencées. Pour chaque germe deux boites ont été préparées. L'application des disques doit tenir en compte que ;

Un disque appliqué ne peut être déplacé et les différents disques doivent être distants 15mm du bord de la boîte.

10-6-Mesure de diamètre d'inhibition :

La zone claire exprime le diamètre d'inhibition qui doit être mesuré.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1-Résultats et discussions :

1-1-Synthèse des nanoparticules :

Dans la présente étude, la synthèse de nanoparticules (ZnO , $AgNO_3$, $CuSO_4$) a été réalisée avec succès en utilisant les extraits aqueux des parties aériennes de *Myrtus communis*. Une couleur brun-jaunâtre (**Figure N°09**). Qui a changé en brun très foncé (**Figure N°10**), a été observée après addition 2mL de l'extrait dans 100mL de la solution de nitrate d'argent à 1Mm et dans le sulfate de cuivre on a pris trois concentration différents diluée de cette solution mélangé (4ml d'extrait avec 280ml $CuSO_4$, 7ml d'extrait avec 350ml $CuSO_4$, 10ml d'extrait avec 300ml $CuSO_4$) et sous agitation continue. Le développement de cette coloration est un indice de la capacité des extraits aqueux de *Myrtus communis* à réduire biochimiquement le (ZnO , $CuSO_4$, $AgNO_3$), et la synthèse des nanoparticules d'argent, zinc, cuivre en excitant les vibrations de plasmine de surface. Le taux de réduction a été augmenté par incubation du mélange à 37 °C pendant 24 heures (Verma and others, 2016). Les travaux menés par (Khan, 2012) sur *Myrtus communis* ont révélé que cette plante est très riche en flavonoïdes.



Figure N°09 : Extraits aqueux de *Myrtus communis* avant la biosynthèse des nanoparticules.



Figure N°10 : Extraits aqueux de *Myrtus communis* après la biosynthèse des nanoparticules

1-2-Evaluation de l'activité antibactérienne des nanoparticules synthétisées :

Dans cette partie du travail nous avons testé l'activité antibactérienne des NPs Ag, ZnO, CuO, ainsi que l'extrait aqueux d'une plante étudiée (*Myrtus communis*) sur sept souches bactériennes. Il s'agit de : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *proteus vulgaris*, *klebsiella pneumoneae*, *Candida albicans* (souche de référence), *Escherichia coli* clinique (souche clinique).

Ce test a été développé pour déterminer l'activité antibactérienne d'un échantillon en mesurant une zone d'inhibition de la croissance des bactéries autour de l'échantillon. Cette zone d'inhibition met en évidence la diffusion de l'agent antibactérien. Le **Tableau n°12** et Les photographies des boîtes de Pétri sont illustrées dans les (**figures N°11, 12, 13, 14,15, 16,17**). Les diamètres des zones d'inhibitions exprimés en mm sont regroupés dans le tableau 12

Tableau N°12 : diamètre des zones d'inhibitions des NPs synthétisée par l'extrait de *Myrtus communis*.

	CuO 7	CuO 4	CuO 10	ZnO 0.6	ZnO 1	ZnO 0.2	AgNO 3	ZnO 1 liquide	CuO 10 liquide	ZnO 0.2 liquide
Extractions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
bactéries	Diamètre des zones d'inhibitions en mm									
<i>E. coli souche clinique</i>	07	07	06	06	06	06	11	08	06	06
<i>E. coli souche de référence</i>	10	07	06	06	06	06	12	07	06	06
<i>Proteus mirabilis</i>	08	07	07	06	06	06	12	06	06	06
<i>Candida albicans</i>	08	06	06	06	06	06	10	10	06	06
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	18	16	10	08	06	06	06	06	06
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	08	06	12	08	07	08	08	08	09
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	07	07	07	06	06	08	07	12	07	10

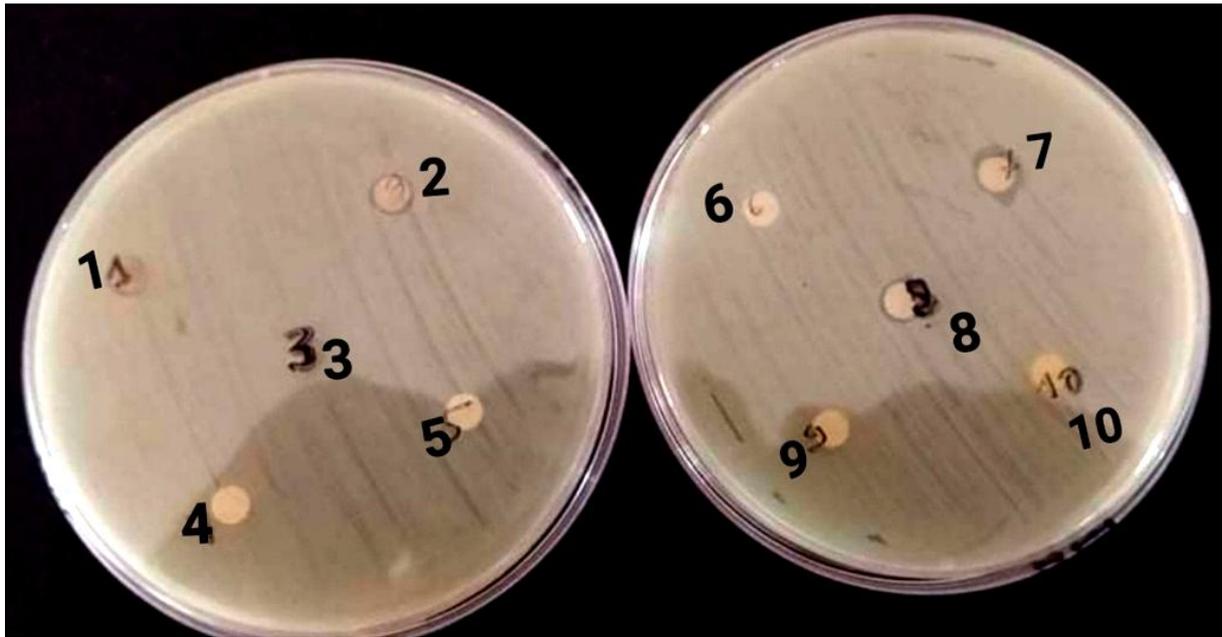


Figure n°11: L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur la bactérie *staphylocoque aureus*

1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquide, 9- CuO 10 liquide, 10- ZnO 0.2 liquide .

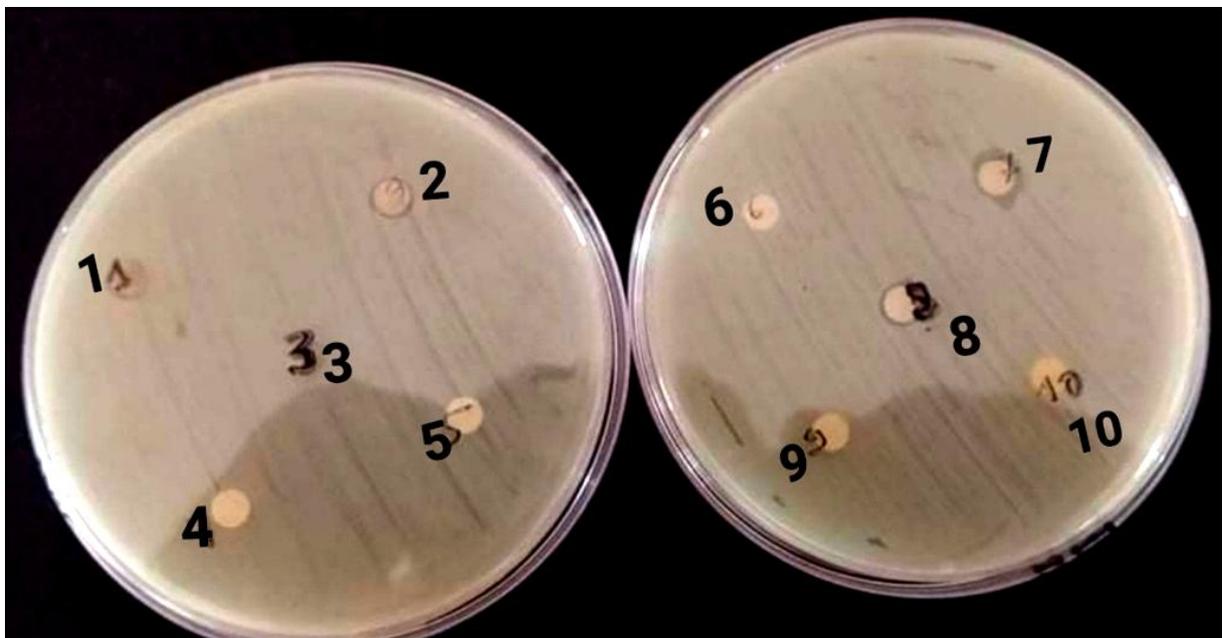


Figure n°12 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur la bactérie *E.Coli*(référence).

1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquid 9- CuO 10 liquide, 10- ZnO 0.2 liquide .

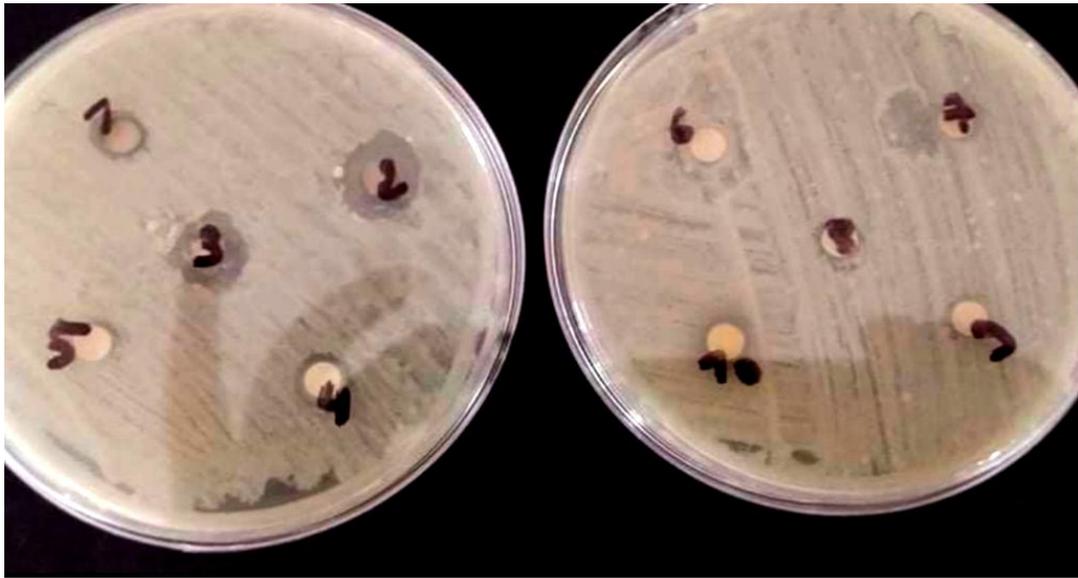


Figure n°13 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur la bactérie *Pseudomonace aerogenosa*.

1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquide, 9- CuO 10 liquide, 10- ZnO 0.2 liquide .



Figure n°14 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur la bactérie *E.Coli Clinique*

1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquide, 9- CuO 10 liquide, 10- ZnO 0.2 liquide .



Figure n°15 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur la bactérie *Klabsiella pneumoneae*.

1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquide, 9- CuO 10 liquide, 10- ZnO 0.2 liquide .

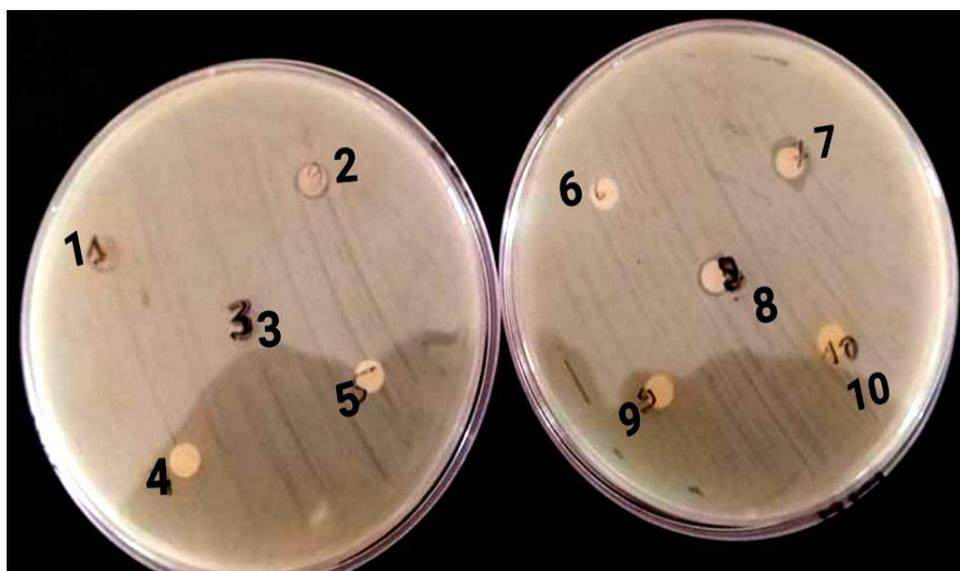


Figure n°16 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur *Candida albicans* 1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquide, 9-CuO 10 Liquide, 10-ZnO 0,2 Liquide.

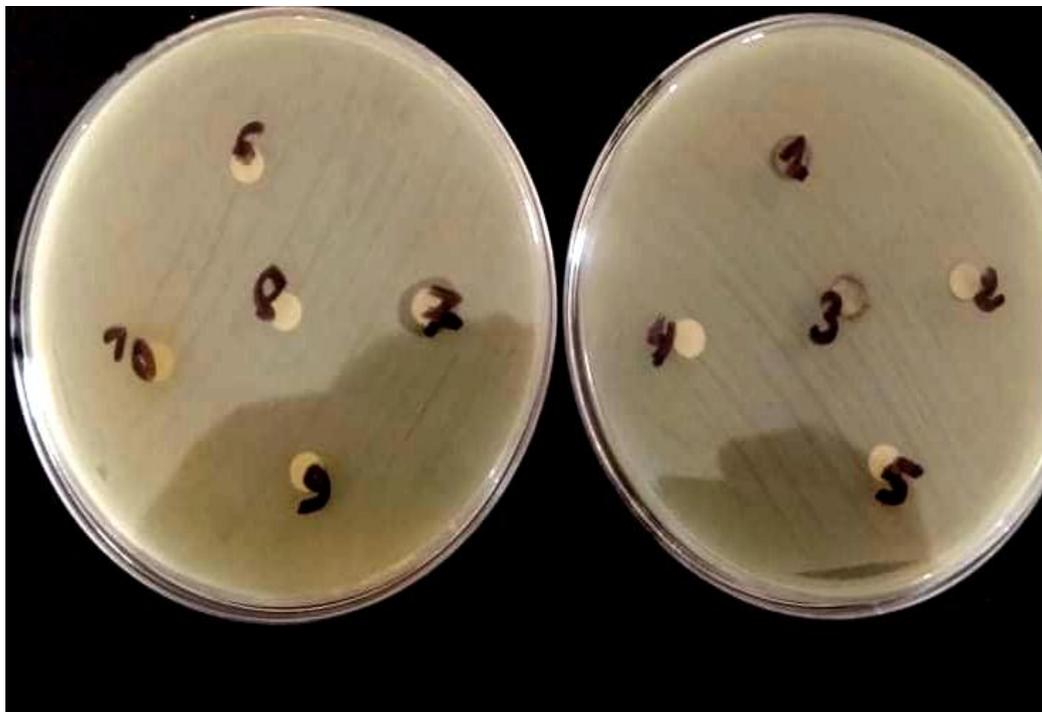


Figure n°17 : L'activité antibactérienne des NPs synthétisé par l'extrait de *Myrtus communis* sur la bactérie *Proteus vulgaris*. 1- CuO 7, 2- CUO 4, 3- CuO 10, 4- ZnO 0.6, 5- ZnO 1, 6- ZnO 0.2, 7- AgnO 3, 8- ZnO 1 liquide, 9- CuO 10 liquide, 10- ZnO 0.2 liquide .

Les nanoparticules (ZnO, CuO, Ag) synthétisées à partir de *Myrtus communis* ont montré une activité antibactérienne intéressante vis-à-vis de toutes les bactéries utilisées dans la présente étude. Toutefois, les nanoparticules de l'oxyde de cuivre à partir de *Myrtus communis* montrent une forte activité antibactérienne par rapport aux autres NPs (Ag, ZnO) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Le diamètre de la zone d'inhibition enregistré avec cette bactérie a atteint 18mm.

On peut expliquer ces résultats par le fait que *Staphylococcus Aureus* appartient aux Gram + et que *Proteus Mirabilis* appartient aux gram-. La différence de composition de l'enveloppe bactérienne entre les deux groupes explique nos résultats. L'enveloppe des bactéries à Gram positif ne possède pas de récepteurs spécifiques ou de perméases facilitant ainsi la pénétration

des biocides dans les cellules (Russell, 2001). Alors que la composition de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram négatif peut jouer un rôle de barrière en face des agents chimiques (C.CLIN, 2000).

Les nanoparticules Ag synthétisés à partir de *Myrtus communis*, ont montré une bonne inhibition sur la croissance d'*E. coli* clinique (11 mm), *E. coli* de référence (12 mm), *Proteus mirabilis* (12 mm). Par contre les nanoparticules des oxydes de zinc étaient sans effet vis-à-vis aux bactéries testées. Ceci est traduit par des zones de diamètres compris entre 6 et 8mm. L'ensemble de nos résultats concordent avec la littérature. On note qu'on était limité par le temps et les conditions sanitaires pour bien mener ce travail. Ceci justifie le nombre limité de résultats enregistrés dans ce travail.

Conclusion

Conclusion :

L'objectif principal de ce travail est de proposer de nouvelles voies de biosynthèse des nanoparticules métalliques en vue de remplacer l'utilisation des réducteurs chimiques. A cet effet, nous avons choisi une plante médicinale qui est *Myrtus communis* afin de mettre en œuvre la fabrication de nanoparticules biologiques.

L'extrait de cette plante est utilisé en tant qu'agent réducteur des ions métalliques d'argent, de cuivre et de zinc dans le milieu aqueux. Les extraits de *Myrtus communis* ont réduit les ions métalliques dans la solution aqueuse (AgNO_3) ayant pour résultat le changement de couleur de la solution de sa couleur jaune-clair à Jaune-brun en raison de la formation NPs.

Les nanoparticules (ZnO , CuO , Ag) synthétisées à partir de *Myrtus communis* ont montré une activité antibactérienne intéressante vis-à-vis de toutes les bactéries utilisées dans la présente étude. Toutefois, les nanoparticules de l'oxyde de cuivre à partir de *Myrtus communis* montrent une forte activité antibactérienne par rapport aux autres NPs (Ag , ZnO) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*. Le diamètre de la zone d'inhibition enregistré avec cette bactérie a atteint 18mm.

Les nanoparticules Ag synthétisées à partir de *Myrtus communis* (Figure N°23) ont montré une bonne inhibition sur la croissance de *E.coli* clinique (11mm), *E.coli* de référence (12mm), *Proteus mirabilis* (12mm).

Ceci justifie qu'en générale en raison de leurs propriétés spécifiques, les nanoparticules ont été employées intensivement dans des outils de ménage, l'industrie de soins de santé, et dans le stockage et l'emballage de nourriture, et elles ont aussi des applications biomédicales.

Bien que cette partie de travail n'a pas été plus performante et plus affinée mais elle nous a permis d'avoir une idée sur les propriétés des nanoparticules à base de *Myrtus communis*, ainsi que sur leurs activités biologiques.

En perspectives certains points restent à approfondir, il serait donc intéressant de compléter cette étude par :

- La caractérisation des nanoparticules en associant des méthodes de caractérisation de surface telles que l'UV-visible, l'infrarouge (IR) et la diffraction aux rayons X (DRX).
- Il est également souhaitable d'étendre l'étude antibactérienne à d'autres souches et déterminer le mécanisme et la cinétique d'inhibition de la croissance bactérienne par ces nanoparticules ;

- Réalisation d'une application à l'échelle industrielle afin de mener au bien être de l'Homme et tiré profit de toutes les caractéristiques bénéfiques des nanoparticules dans les divers domaines.

References bibliographies:

- **Almanni, M.C ; Cossu, M. 2004** : Radical scavenging activity and antioxydant activity of Liquors of Myrtle (*Myrtus communis* L) berries and leaves Italian, *Journal of Food Science*, 16 : 197 – 208.
- **Atbib M, 1998** : la végétation du littoral de l'Algérie septentrional. Thèse Doctorat. D'état et sciences biologiques.
- **Baba Aissa, F. 1999** : Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident, p 181.
- **Bamba Mamadou.** Contribution à l'étude de l'infection urinaire au cours de la grossesse : étude prospective du 1^{er} janvier 2001 au 31 aout 2001au service de gynécologie obstétrique du CHU DE Treichville. Thèses Med. ABIDJAN ; 2003.
- **Barboni, T.2006** : Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p 26.
- **Beloued A., 1998.** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger.
- **Berche p.** Rôle de l'age, de la grossesse et de la nutrition sur la résistance aux infections, In : BERCHE P, GAILLART JL, and SIMONET M, eds bactériologie, Les bactéries des infections humaines, Paris : Flammarion, 1988.
- **Boulard B, 1997** : dictionnaire plantes et champignons, édition Estem, paris, p8, 12, 46, 313 Theplantlist
- **Bouvenot G, Vray M.** Essais cliniques : théorie, pratique et critique. Médecine. 1996.
- **Bouzabata A., 2013.** Traditional Treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 5(1), 12–20.
- **Bulgakova, N. and A. Bulgakov (2001).** "Pulsed laser ablation of solids: transition from normal vaporization to phase explosion." *Applied Physics A* 73(2): 199-208.
- **Cemaecker D, 2004** : nature et phytothérapie, développements récents-4^{ème} éditions Garant, p 295.
- **Cheng W, Dong S, Wang E.(2002).** Studies of electrochemical quantized capacitance charging of surface ensembles of silver nanoparticles. *Electrochemistry communications* 4(5):412-416.

- **Cilleres M, 1997** : soigner par les plantes, édition Reader digest, p 61.
- **Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., Traversa, E. (2005)**. Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties. *Chemistry of Materials*, 17(5255-5262). doi: 10.1021/cm0505244
- **D.E. Belfennache**, Elaboration et étude de nanoparticules Au/TiO₂ et Ag/TiO₂, Thèse de Doctorat, Département De Physique, Université MENTOURI, Constantine, 2012, pp.5-6.
- **Depoers P , Ledoux F, meurin P, 2002** : la phytothérapie entre science et tradition, édition
- **Depoers, P, Ledoux. F, Meurin. P, 2002** : La phytothérapie entre science et tradition, édition amyris et inspira, sprl ; p 98.
- **Diaz, A.M ; Abeger, A. 1987** : *Myrtus communis* composition quimicay activided biologica de sus extractors, Una revision, fitoterapia 8 : 167 -174.
- **Dr Boutoille. D.** Maladies infectieuses et Tropicales, 2011. P 09.
- **Dupont A, Caminat P, Bournot P, Gauchon J.(1995)**.Enhancement of material ablation using 248, 308, 532, 1064 nm laser pulse with a water film on the treated surface. *Journal of Applied Physics* 78(3):2022-2028.
- **Eberlin Thierry**, les antibiotiques, 1997, Nathan université, Effection of antibiotics on mucoid strains of pseudomonas aeruginosa. *Ann. Microbal. (Inst. Pasteur)*, 130 A, 315-330.
- edition Mason, p99-112.
- **Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH, Yacaman MJ. (2005)**. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of nanobiotechnology* 3(1):6.
- **Esteban-Cubillo, A., Pecharromán, C., Aguilar, E., Santarén, J., & Moya, J. S. (2006)**. Antibacterial activity of copper monodispersed nanoparticles into sepiolite. *Journal of Materials Science*, 41(16), 5208-5212. doi: 10.1007/s10853-006-0432-x
- **F. Prosie, F.-X. Lesage, F. Deschamps**, Nanoparticules : structures, utilisations et effets sur la santé, *La Presse Medicale*, 37 (2008), p.1432.
- **Fauchère J,-L, Avril J,-L. (2002)**. Bactériologie générale et médicale. Elipses éditent, paris, pp 365.

- **Gérard J, Tortora, Sandera R, (2000).** Principe d'anatomie et de physiologie ; pp 175.
- **Gibbons, V. L. and F. Getman (1914).** "CORRECTION. The Potential of Silver in Non Aqueous Solutions of Silver Nitrat." Journal of the American Chemical Society 36(10): 2091-2091
- **Hajipour, M. J.,** Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., Jimenez de Aberasturi, D., Ruiz de Larramendi, I., Rojo, T., Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. Trends in Biotechnology, 30(10). doi: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004
- **Hennig,** Grundzuge einer theorie des phylogenetischen systematik deutscher zentralverlog, Berlin. 1990.
- **Huang, N. M., Lim, H. N., Radiman, S., Khiew, P. S., Chiu, W. S., Hashim, R., & Chia, C. H. (2010).** Sucrose ester micellar-mediated synthesis of Ag nanoparticles and the antibacterial properties. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 353(1), 69-76. doi: 10.1016/j.colsurfa.2009.10.023
- **J. Wang, X. Sun, Y. Yang, H. Huang, Y. Lee, O. Tan, L. Vayssieres,** Hydrothermally grown oriented ZnO nanorod arrays for gas sensing applications, Nanotechnology, 17 (2006), p.4995.
- **Jang SJ, Yang IJ, Tettey CO, Kim KM, Shin HM. (2016).** In-vitro anticancer activity of green synthesized silver nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. Materials Science and Engineering: C 68:430-435.
- **Jiang, W., Yang, K., Vachet, R. W., & Xing, B. (2010).** Interaction between oxide nanoparticles and biomolecules of the bacterial cell envelope as examined by infrared spectroscopy. Journal of surfaces and colloids, 26(23), 18071-18077. doi: 10.1021/la103738e
- **Jiayin, G., Xiaobao, F., Richard, D., Siwen, X., Jerzy, J., & Maher, B. (2010).** Development of Nanopowder Synthesis Using Induction Plasma. Plasma Science and Technology, Vol.12, No.2,.
- **Kasemets, K., Ivask, A., Dubourguier, H. C., & Kahru, A. (2009).** Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Toxicology in vitro 23(6), 1116- 1122. doi: 10.1016/j.tiv.2009.05.015
- **Kumar D, Kumar G, Agrawal V. (2018).** Green synthesis of silver nanoparticles using *Holarrhena antidysenterica* (L.) Wall. bark extract and their larvicidal activity against dengue and filariasis vectors. Parasitology research 117(2):377-389

- **Laurent, S., & Mahmoudi, M. (2011).** Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promises for diagnosis and treatment of cancer. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*, 2(4).
- **Li D, Hong B, Fang W, Guo Y, Lin R. (2010).** Preparation of well-dispersed silver nanoparticles for oil-based nanofluids. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 49(4):1697-1702
- **Loeschner K, Hadrup N, Qvortrup K, Larsen A, Gao X, Vogel U, Mortensen A, Lam HR, Larsen EH. (2011).** Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Particle and fibre toxicology* 8(1):18.
- **Maiga A B.** intérêt du culot urinaire dans le diagnostic et le suivi des infections urinaires. Thèse Med, bamako, 1993.
- **Martin-Lopez, T ; Rubio, B ; Villaescusa, L ; Fernandez, L ; Diaz A.M. , 1999 :** plectenolic compounds from pericarps of *Myrtus communis*, *Pharmaceutical Biology*, 37.
- **Medec. F.** épidémiologie des problèmes urinaires chez la truée en élevage intensif *Bulletin des GTV* , 1990, 2 :39-45.
- **Merad A.S, Mohamedi. D, Yala. D, Ouarkorich M.N, 2001 :** *Medicine au Maghreb*, n°91, édition, p99-112
- **Merd A.S, Mohamedi D, yala D, Ouarkorich M.N, 2001 :** *médecine au Maghreb*, n°91,
- **Migliore J. (2011).** Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au Sahara. Thèse de Doctorat. Discipline: Biologie des populations et Ecologie. Faculté des Sciences et Techniques, Université Paul Cézanne Aix-Marseille III. 250p.
- **Mimica-Dukić, N ; Bugarin, D ; Grbović , S ; Milić-Ćulafić, D ; Vuković-Gačić, B ; Orčić, D ; Jovin, E ; et Couladis, M. 2010 :** Essential Oil of *Myrtus communis* L. As a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents, 15 : 2759-2770.
- **Montoro, p ; Tuberoso, C.L.G ; Perrone, A ; Piacente, S ; Cabras, P ; Pizza, C. 2006 :** Characterisation by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry of anthocyanins in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle Liqueur, *J. Chromatogr. A.* 1112, 232-240.

- **Morones, J. R., Elechiguerra, J. L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J. B., Ramirez, J. T., & Yacaman, M. J. (2005).** The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16(10), 2346-2353. doi: 10.1088/0957-4484/16/10/059
- **Nair S, Sasidharan A, Rani VD, Menon D, Nair S, Manzoor K, Raina S. (2009).** Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 20(1):235
- **Narayanan, K. B. and N. Sakthivel (2010).** "Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes." *Advances in colloid and interface science* 156(1-2): 1-13.
- **Nauciel et Validé J.L.** 2005. *Bactériologie médicale*, 2eme édition, pp, 52.
- **Nhiem, T., Aparna, M., Mallik, D., Sinha, A., Suprabha, N., & J, W. T. (2010).** Bactericidal effect of iron oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Nanomedicine*, 5 (277–283). doi: 10.3410/f.718180355.793487092
- **Noiry JP.** Personnaliser le traitement des infections urinaires. *Rev prescrire*, 1991. 11 : 148-50.
- **Olin tudge,** the vatiety of life, oxford university press, 2000.
- **Quézel P. et Santa S. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed CNRS, Paris, France, p. 636.
- **Quezel, P ; et Santa, S. 1963 :** nouvelle flore de l'algérie et des regions désertiques Méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris.
- **R. Myriam,** Aide au repérage des nanomatériaux en entreprise ED 6174, INRS(2014), pp.17-35
- **Rakhmetova, A. A., Alekseeva, T. P., Bogoslovskaya, O. A., Leipunskii, I. O., Ol'khovskaya, I. P., Zhigach, A. N., & Glushchenko, N. N. (2010).** Wound-healing properties of copper nanoparticles as a function of physicochemical parameters. *Nanotechnologies*, 5(3-4), 271-276. doi: 10.1134/s199507801003016x
- **Regnault JP.2000.** *Microbiologie générale. Microorganisme commençaux.* Vigot Paris, (2000) pp 180-328.
- **Ren, G., Hu, D., Cheng, E. W., Vargas-Reus, M. A., Reip, P., & Allaker, R. P. (2009).** Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(6), 587-590. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004

- **Revu, 2007** diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourisson et de l'enfant. Revu, agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, février 2007 p 02.
- **Romani, A ; Pinelli, P ; Mulinacci, N ; Vincieri, F.F ; Tattini, M ; 1999 :** Identification and quantitation of polyphenols in leaves of *Myrtus communis* L, *Chromatographia* 49 :17.
- **Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., & Mukherji, S. (2008).** Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, 4(3), 707- 716. doi: 10.1016/j.actbio.2007.11.006
- **Sahoo, S. K., Parveen, S., & Panda, J. J. (2007).** The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine*, 3(1), 20-31. doi: 10.1016/j.nano.2006.11.008
- **Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M. (2004a).** Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of colloid and Interface science* 275(2):496-502.
- **Shannon MA, Mao XL, Fernandez A, Chan W-T, Russo RE. (1995).** Laser ablation mass removal versus incident power density during solid sampling for inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. *Analytical Chemistry* 67(24):4522-4529.
- **Simchi A, Ahmadi R, Reihani SS, Mahdavi A. (2007)** Kinetics and mechanisms of nanoparticle formation and growth in vapor phase condensation process. *Materials & design* 28(3):850-856.
- **Soltis D.E., Smith S.A., Cellinese N., Wirdack K.J., Tank D.C., Brockington S.F., Refulio-Rodriguez N.F., Walker J.B., Moore M.J., Carlswald B.S., Bell C.D., Latvis M., Crawley S., Black C., Diouf D., Xi Z., Rushworth C.A., Gitzendanner M.A., Sytsma K.J., Qiu Y.-L., Hilu K.W., Davis C.C., Sanderson M.J., Beaman R.S., Olmstead R.G., Judd W.S., Donoghue M.J. et Soltis P.S. (2011).** Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640 taxa. *American Journal of Botany*, 98 (4), 704-730.
- **Taşkıran F, UZUNOĞLU D, Özer A. (2017).** Biosynthesis Characterisation and Determination of Adsorbent Properties of Silver Nanoparticles with Cyprus ACACIA (*Acacia cyanophylla*) LEAF EXTRACT. *Anadolu Üniversitesi*

- **Vogel A, Noack J, Nahen K, Theisen D, Busch S, Parlitz U, Hammer D, Noojin G, Rockwell B, Birngruber R. (1999).** Energy balance of optical breakdown in water at nanosecond to femtosecond time scales. *Applied Physics B* 68(2):271-280
- **Wahajuddin, & Arora. (2012).** Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3445-3471. doi: 10.2147/IJN.S30320
- **Wang D, An J, Luo Q, Li X, Yan L. (2012).** Synthesis, characterization and application of silver-based antimicrobial nanocomposites. *NanoAntimicrobials*: Springer. p 47-84.
- **Wannes, W.A ; Mhamdi, B ; Sriti, J ; Ben Jemia, M ;Ouchikh, O ; Hamdaoui, G ; Kchouk Me ; Marzouk, B. 2010 :** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts From myrtle (*Myrtus communis var. italia L.*) leaf stem and flower, *Food and Chemical Toxicology*, 48 : 1362-1370.
- **Willner I, Baron R, Willner B. (2006).** Growing metal nanoparticles by enzymes. *Advanced Materials* 18(9):1109-1120.
- **Yoon, K. Y., Hoon Byeon, J., Park, J. H., & Hwang, J. (2007).** Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 373(2-3), 572-575. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.11.007

