
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE CENTRE UNIVERSITAIRE BELHADJ BOUCHAIB D'AÏN-
TEMOUCHENT



Institut des Sciences
Département de Sciences de la Matière
Filière : Chimie
Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité Chimie Macromoléculaire

Thème :

**Etude de l'activité antibactérienne des matériaux à base
de cuivre**

Présente par :

Mamouni Nesrine

Mammar Fatima Zohar

Soutenu le : / 09/ 2020, Devant le jury composé de :

Président : **Mr. BELARBI Lahcene** (Professeur) C.U.B.B.A.T.

Examinatrices : **Mme. KIBOU Zahira** (M.C.A) C.U.B.B.A.T.

Encadrant : **Mme. AZZI Hadjer** (M.C.A) C.U.B.B.A.T.

Co-Encadreur : **Mr BENNBI FARID** (M.C.A) C.U.B.B.A.T.

Année Universitaire 2019-2020

Dédicaces

Ce projet fin d'étude est dédié à mes chères parentes, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études sans eux, je n'aurais certainement pas fait d'étude langues ; ce projet fin d'étude représente donc l'aboutissement du soutien et des encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité, qu'ils en soient remerciés par cette trop modeste dédicace.

C'est un moment de plaisir de dédier et ouvre ; à mon frère Abdrahmen, et mon cher ami

Amine

Et pour mes cher copines Sihem et Fatima Zohra.

Et pour ma tante Howaria .

Et mes nièces s Anfal ,Malek , et Ayoub ;

Adam .

Dédicaces

*C'est avec grande gratitude des mots sincères
que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à
mes cher parents qui ont sacrifié leur vie pour
ma réussite et ont toujours cru en moi*

*ET pour mes chers frères Ali Hocine,
Mohamed Amine*

*Et pour toutes mes chères copines
Et pour ma chère copine et binôme Nesrine*

*ET Ma grande mère : B. SAADIA
Et à tous ceux qui me sont chers*

Remerciements

- Nous tenons à témoigner notre reconnaissance au Dieu tout puissant, de nous avoir donné le courage et la force de mener à terme ce mémoire. Qui nous a ouvert les portes du savoir.
- Ce travail à été réalisé entre le laboratoire de chimie et le laboratoire de biologie du Centre Universitaire de Ain Temouchent et le laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO) De l'Université de Tlemcen.
- Nous tenons à remercier tout particulièrement notre encadreur **Mme AZZI Hadjer**, qui nous a encadrés, tout au long de ce mémoire. Nous vous remercions pour votre précieuse présence assistance, votre disponibilité et l'intérêt que vous avez manifesté pour ce modeste travail. Nous vous remercions pour vos orientations et votre enthousiasme envers notre travail.
- Nos vif remerciements s'adressent également à Monsieur **BENNBI FARID** pour sont aide, ses orientation et sa présence au cours de nos test biologique.
- Nous tenons également à remercier Monsieur **BELARBI Lahcene**, Professeur et Directeur de l'Institut des Sciences au Centre Universitaire de Ain Temouchent, de nous permettre d'accéder au laboratoire et de nous doter de tous les moyens nécessaires pour notre travail. Nous le remercions aussi d'avoir accepté de présider les jury de notre travail.
- Nous remercions également Mme **KIBOU Zahira**, d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction générale

Introduction générale.....	02
Référence bibliographique.....	04

Chapitre I : Partie bibliographique

I. 1 -Généralités sur le cuivre	06
<i>I.1.a-</i> Définition.....	07
<i>I.1.b-</i> Historique.....	07
<i>I.1.c-</i> Oxyde de cuivre.....	08
<i>I.1.d-</i> Cu-SBA-15.....	08
<i>I.2.- Effet antibactérienne</i>	08
<i>I.2.a-</i> Définition.....	09
<i>I.2.b-</i> Etude antibactérien du cuivre.....	09
<i>I.2.c-</i> Le mécanisme d'action du cuivre sur les bactéries.....	10
I.3- Agents antimicrobiens inorganique.....	11
<i>I.3.a-</i> Définition.....	14
<i>I.4- Définition des bactéries à étudier.....</i>	14
<i>I.4.1-</i> Staphylococcus aureus.....	14
<i>I.4.2-</i> Pseudomonas aeruginosa.....	15
<i>I.4.3-</i> Escherichia coli.....	16
<i>I.5-Effet antifongique</i>	17
<i>I.5.a-</i> Définition.....	17

Sommaire

<i>I.5.b</i> -Etude antifongique du cuivre.....	17
<i>I.5.c</i> -Champignons à étudier	18
<i>I.5.c</i> -*Candida albicans.....	18
Références bibliographiques.....	19

Chapitre II : Etude expérimentale

II.1 Matériels et réactifs.....	25
II.1.1 Verreries	25
II.1.2.Matériel biologique	25
II.1.3Réactifs utilisés	26
II.1.4 Accessoires de laboratoire.....	27
II.2 Synthèse des matériaux.....	27
II.2.a-Synthèse de matériaux mésoporeux SBA-15.....	27
II.2.b-Synthèse d'oxyde de cuivre	29
II.2.c- Synthèse du Cu / CuO _x ; Cu / SBA – 15.....	29
II.3. Méthodes de caractérisation des matériaux synthétisés	30
II.3.1 Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	30
II.3.2 Diffraction des rayons X	31
II .3.3 Analyse par Adsorption-désorption d'azote (BET).....	32
II .4 Test biologique.....	34
II .4 .1 Activité antibactérien et antifongique.....	34

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III .1Caractérisation des matériaux synthétisés	37
---	----

Sommaire

III.1 .1caractérisation de l'oxyde de cuivre.....	37
III.1 .1.1Etude structurale par diffraction de rayons x.....	37
III.1 .1.2Etude par adsorption d'azote de l'oxyde	38
III .2 Activité antibactérien.....	39
III .2.1-activité antibactérien de Cu/SBA-15	39
III .2.2 Activité antibactérien de Cu /CuO et CuO pur	41
III .3Activité antifongique	42
III .4Discussion des résultats obtenus	44
Références bibliographiques.....	46

<i>CONCLUSION GENERALE</i>

Conclusion générale.....	48
--------------------------	----

ABRÉVIATION

Abréviation

Liste des abréviations :

mL: millilitre

g : gramme

h: heure

min: minute

°C: degré Celsius

K : kelvin

$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$: masse volumique

$\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$: volume molaire

mm : millimètre

Å : angström=0.1 nanomètre

g/mol : masse molaire

TEOS : TetraEthylOrthoSilicate ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$)₄Si

P123 : poly (oxyde d'éthylène)₂₀ poly (oxyde de propylène)₇₀ poly (oxyde d'éthylène)₂₀

FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier

DRX : Diffraction des rayons X

BET : Analyse par Adsorption-désorption d'azote

EPA : Agence américaine de protection de l'environnement

JCPDS : Joint Committee on Powder Diffraction Standards

ERO Espèces réactive à l'oxygène

ROS Espèces réactive de l'oxygène

NPs : nanoparticules

MSN : nanoparticules de silice

ATCC : American type culture collection

PDA: Potato dextrose agar

Abréviation

E.coli: Escherichia coli

S.aureus : Staphylococcus aureus

P.aeruginosa :Pseudomonas aeruginosa

B. subtilis :Bacillus subtilis

C.albicans :Candida albicans

Abréviation

Liste des figures :

Figure. I.1 : Représentation schématique de la structure cristallographique du cuivre métallique.

Figure. I.2 : schéma du mécanisme de cuivre sur les bactéries.

Figure. I.3 : bactérie de staphylococcus aureus.

Figure. I.4 : bactérie de Pseudomonas aeruginosa.

Figure. I.5 : bactérie d'Escherichia coli.

Figure. I.6 : champignon de Candida albicans.

Figure. II.1 : Evaporateur rotatif

Figure. II. 2 : Synthèse de la SBA-15.

Figure. II.3 : Synthèse de CuO_x

Figure. II.4 : synthèse de Cu/support

Figure. II.5 : Le Cu/SBA-15 synthétisé

Figure. II.6 : appareil d'infrarouge à transformée de fourrier (IRTF)

Figure II.7 : Représentation schématique de la diffraction des rayons X

Figure.II.8 : appareil de diffraction de rayons X

Figure.II.9 : Isotherme selon la classification de l'IUPAC

Figure.II.10 : test antibactérien et antifongique.

Figure. III.1 : Diffractogrammes de l'oxyde de cuivre

Figure. III. 2: Isotherme d'adsorption de désorption d'azote de l'oxyde de cuivre

Figure. III.3 : Résultats du l'activité antibactérien de Cu/SBA-15 après 24h sur les souches bactéries (A : S.aureus 25922 / B :E.coli / C : P.aeruginosa / D : S.aureus 43300)

Figure.III.4 : Valeurs de diamètre des zones d'inhibition pour le X%Cu/SBA-15 (en mm)

Figure.III.5 :Résultats du l'activité antibactérien de Cu/CuO et CuO pur après 24h sur les souches bactéries (A : E.coli /B : S.aureus 25922 / C : S.aureus 43300 / D : P.aeruginosa)

Figure. III.6 : Valeurs de diamètre des zones d'inhibition pour le X%Cu/CuO (en mm)

Figure. III.7 : Résultats du l'activité antibactérien de Cu/CuO et CuO pur après 48h sur C.albicans

Figure. III.8 : Valeurs de diamètre des zones d'inhibition pour le X%Cu/CuO (en mm)

Abréviation

Liste des tableaux :

Tableau II.1 : propriétés physico-chimiques des produits utilisés.

Tableau.III.1 : présente la surface spécifique de l'oxyde de cuivre

INTRODUCTION

GÉNÉRALE

Introduction :

Les bactéries dans les hôpitaux et les lieux publics provoquent de nombreuses maladies et peuvent même entraîner la mort, l'utilisation excessive des antibiotiques traditionnels a conduit à l'apparition de nouvelles souches bactériennes présentant des niveaux de résistance croissants, ce qui pourrait poser un problème de santé publique. C'est pourquoi de nombreux scientifiques se sont attelés sur la cherchent des solutions pour éliminer ou réduire ce phénomène [1]. Aujourd'hui, la nanotechnologie joue un rôle important dans le domaine de lasanté où elle est utilisée dans les domaines biomédical et biologique et aussi dans le traitement des eaux[2]. Récemment, les métaux de transition ont attiré l'attention de ces chercheurs, il se sont avérés capables de réduire l'envoi de micro-organismes, parmi ces métaux on cite ; l'argent (Ag), le bismuth (Bi), le cobalt (Co), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le manganèse (Mn), le nickel (Ni), le plomb (Pb), le platine (Pt), l'antimoine (Sb), l'étain (Sn), et le zinc (Zn). Ces métaux sont largement appliqués contre diverses bactéries pathogènes en raison de leurs activités antibactériennes.

Parmi les métaux cités, le cuivre qui est bien connu pour son large spectre d'activité antimicrobienne Gram négatif et Gram positif. En effet il a été démontré que les nanoparticules de cuivre ont une importante activité dans le domaine biologique. L'efficacité antibactérienne des Cu-NP dépend de leur stabilité et leur diamètre des particules. Par conséquent, la stabilité et la taille de particule appropriée des Cu-NPs restent un excellent défi pour leur application comme des matériaux antibactérien. Dépôt de Cu-NPs sur les solides poreux, tels que SiO₂, zéolite et matériaux de carbone, est un moyen efficace pour assurer une bonne dispersion des Cu-NP, en raison de la grande surface et les volumes poreux, qui peuvent plus facilement adsorber et capturer les bactéries microbiennes. [3]

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail. Dépôt des nanoparticules de cuivre à la surface des matériaux mésoporeux à savoir la SBA-15 et l'oxyde de cuivre mésoporeux, et l'évaluation de leur activité antibactérienne sur deux type de souches ; de gram positif et négatif et antifongique.

➤ **Présentation du sujet :**

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne et antifongique des matériaux synthétisés ; l'oxyde de cuivre pur et le cuivre supporté sur SBA-15 et CuO. Dans son ensemble notre travail, comporte trois chapitres :

Chapitre I : Partie bibliographique :

Le premier chapitre présente une approche bibliographique sur l'activité antibactérienne et antifongique des matériaux à base de cuivre et leur mécanisme d'action sur les micro-organismes, et une petite recherche sur les bactéries à étudier.

Chapitre II : Partie expérimentale :

Le second chapitre concerne les protocoles suivis pour la préparation des catalyseurs ; CuO et SBA-15 et aussi les catalyseurs à base de cuivre supporté sur SBA-15 et CuO avec différentes teneurs suivis par diverses techniques physico-chimiques employées pour étudier les propriétés texturales et structurales, et en fin les tests antibactériens et antifongique pour l'évaluation des matériaux à base de cuivre synthétisés.

Chapitre III : Résultats et discussions :

Le troisième chapitre concerne l'interprétation des résultats de caractérisation du: CuO et la SBA-15 préparés par BET et DRX et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des matériaux synthétisés à savoir ; X% Cu/SBA-15 et X% Cu/CuO (X = 0,5 ; 1 ; 3 ; 5 et 10) et l'oxyde de cuivre CuO ainsi que les discussions des résultats obtenus sont aussi rapportées dans ce chapitr

References:

1. Morones, J.R., et al., *The bactericidal effect of silver nanoparticles*. Nanotechnology, 2005. **16**(10): p. 2346.
2. Hütten, A., et al., *New magnetic nanoparticles for biotechnology*. Journal of Biotechnology, 2004. **112**(1-2): p. 47-63.
3. Yoon, K.-Y., et al., *Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles*. Science of the Total Environment, 2007. **373**(2-3): p. 572-575.

CHAPITRE I :

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1-Généralités sur le cuivre :

I.1.a-Définition

Le cuivre est un élément chimique qui appartient à la famille des métaux de transition, ductile et malléable [4] , de couleur rouge ou orange, bon conducteur de la chaleur et l'électricité, Il résiste à l'air et à l'eau mais se patine lentement en présence de carbonate.

En métallurgie, il forme beaucoup d'alliages comme le laiton (cuivre et zinc), le bronze (cuivre et étain), le maillechort (cuivre, nickel et zinc).C'est un métal indispensable dans un grand nombre d'applications domestiques et industrielles[5]; il est aussi un oligo-élément plus intéressant pour le domaine biomédical.

La configuration atomique du cuivre ($Z=29$) est $[\text{Ar}] 4s^1 3d^{10}$. Dans le tableau périodique; il est placé dans le groupe 11 de période 4 dans la même colonne que l'argent et l'or[6, 7] . Il présente une structure cristalline cubique à faces centrées tel que présenté dans la figure suivante:

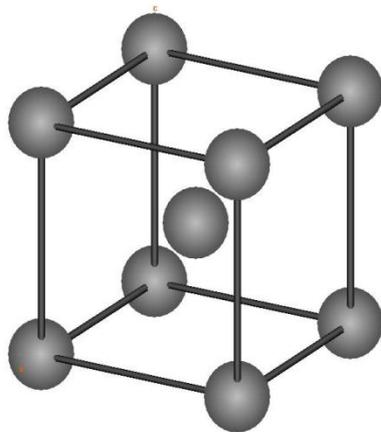


Figure I.1 : Représentation schématique de la structure cristallographique du cuivre métallique

Paramètre de maille : $a = 3.61500 \text{ \AA}$

Volume : 47.24 \AA^3

Volume molaire : $7.11 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Masse volumique : 8.960 g.cm^{-3}

Le cuivre a une capacité de conductivité électrique de ($5.9 \times 10^7 \text{ S.m}^{-1}$) et une conductivité thermique allant jusqu'à ($400 \text{ W.m}^{-1} .\text{K}^{-1}$) ; et de densité : $8,92 \text{ kg/dm}^3$. Il possède plusieurs radio-isotopes, dont cinq sont particulièrement intéressants pour les applications de radiothérapie et d'imagerie. Le progrès en continu dans le domaine des nanotechnologies a permis l'exploitation des nouvelles propriétés physico-chimiques des nanoparticules et molécules contenant du cuivre[8].

I.1.b-Historique

L'utilisation du cuivre par l'homme a commencé il y a plusieurs siècles, c'est le plus ancien métal de l'humanité. En 2600 avant JC[9], les égyptiens l'utilisaient comme antibactérien, pour stériliser les blessures au niveau du torse et pour purifier l'eau buvable. Il a également été utilisé par d'autres civilisations telles que les Grecs romains, aztèques pour traiter de nombreuses maladies, y comprises maux de tête, brûlures et l'infections intestinales et auriculaires [10]. Il a également été utilisé à Paris entre 1832 et 1852, pour éliminer le choléra. En 1885, il a été utilisé par le physicien français Luton dans le traitement d'inflammation chronique des ganglions, d'eczéma, d'impétigo, de scrofulose, de tuberculose, de lupus, de syphilis, d'anémie, de chorée, ou encore de névralgie faciale[10].

I.1.c-Oxyde de cuivre

L'oxyde de cuivre a attiré plus d'attention en raison de ses propriétés unique[11]; Il existe deux états d'oxydation de cuivre, qui sont stables thermodynamiquement, le premier est l'oxyde cuivreux de formule chimique Cu_2O , il est présent dans la nature sous forme de cuprite et le deuxième est l'oxyde cuivrique de formule CuO et on le trouve à l'état naturel sous le nom ténorite.

Il existe également un troisième oxyde de cuivre appelé la paramélaconite. Cet oxyde correspond à une valence mixte du cuivre $\text{Cu}^I \text{Cu}^{II}$, il est métastable et donc très peu observé [12].

***-Propriétés de l'oxyde cuivreux (Cu₂O) :**

L'oxyde cuivreux à une structure cubique assez simple se compose de deux réseaux, un sous-réseau cubique à face centrée de cations de cuivre et d'un sous-réseau cubique centré d'anions d'oxygène.[13]

L'oxyde cuivreux est un semi conducteur de type p[14], solide rougeâtre avec une densité de 6,0 g/cm³. Il a un point de fusion de 1235°C insoluble dans l'eau[15]. En plus de l'intérêt initial de Cu₂O comme un matériau à faible coût pour les cellules solaires, il est utilisé aussi comme photo catalyseur pour la production d'hydrogène à partir d'eau. Cu₂O a été utilisé récemment pour la décomposition globale de l'eau, soit en H₂ et O₂, sous l'action de la lumière visible[13], L'oxyde cuivreux est oxydé sous air à des températures comprises entre 170 et 200 °C la phase cubique obtenue dépend fortement de la température et de la pression partielle en oxygène[16].

***-Propriétés de l'oxyde cuivrique (CuO) :**

Oxyde Cuivrique est un minéral solide de couleur noire se présente sous forme d'une poudre très fine, insoluble dans l'eau de masse molaire égale 79.5g/mol et de température de fusion égale à 1326°C.

L'oxyde cuivrique forme un cristal tétrorite beaucoup plus compliqué. La maille monoclinique du groupe d'espace C_{2/c} contient quatre molécules CuO, chaque atome de cuivre possède quatre proches voisins d'oxygène, les atomes de cuivre sont au centre d'un rectangle d'oxygène, tandis que les atomes d'oxygène sont au centre d'un tétraèdre de cuivre déformé[17]

L'oxyde de cuivre CuO est également un semi-conducteur de type p avec une énergie de la bande interdite E_g comprise entre 1,2 et 1,4 eV, il est de faible conductivité[18]

1.1.d-Cu-SBA-15 :

Les silices mésoporeuses de type SBA-15 ont été découvertes en 1998. Dans leur label, les lettres SBA rappellent que leur découverte est due à une équipe de l'Université de Californie à Santa-Barbara : celle du Prof. G. D. STUCKY. Ces silices se caractérisent par une architecture 2D-hexagonale et un haut niveau d'ordre, aussi bien en ce qui concerne la répartition spatiale que le diamètre des mésopores. La distribution étroite du diamètre des pores rend ces silices particulièrement attractives en tant que supports pour des applications

dans le domaine de la catalyse hétérogène (après fonctionnalisation, c'est-à-dire après dispersion d'espèces actives en catalyse à la surface de la SBA-15).[19-21]

L'incorporation de nanoparticules d'oxyde métallique peut importer une importante activité à la SBA-15. Récemment, la SBA-15 modifié par CuOx (x = 0 à 1) a attiré beaucoup d'attention en tant qu'excellent catalyseur d'oxydation. Différentes méthodes de synthèse, telles que; la synthèse directe, l'imprégnation et le greffage ont été rapportés.[22]

Les catalyseurs à base de cuivre sont fréquemment utilisés dans une variété des procédés d'hydrogénation industrielle, y compris le méthanol et les réactions de déplacement eau-gaz à basse température[23].

Le cuivre déposé à la surface du SBA-15 (Cu/SBA-15) est utilisé dans différent domaine d'applications telles que le vaporeformage, l'hydroxylation, l'oxydation partielle, l'oxydation complète.

Le Cu/SBA-15 peut être préparé par plusieurs méthodes tel que l'imprégnation à humidité naissante (WI), dépôt précipitations(DP), le greffage et les précipitations de dépôt (HDP). Parmi la source de cuivre la plus utilisé pour la synthèse de Cu/SBA-15 est le complexe $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_3$.

D'après la littérature, les catalyseurs à base de cuivre présentent une importante activité antibactérienne, par contre le cuivre supporté sur la SBA-15 n'a pas été étudié.

I.2- Effet antibactérienne :

I.2.a- Définition :

La synthèse de matériaux possédant une activité antibactérienne est d'une grande importance pour la santé publique[24]; en général un antibactérien est un dispositif clinique qui permet soit de détruire les bactéries affectant le patient soit d'affecter la virulence de la bactérie. Il existe deux type de matériaux antibactérien, antibactérien inorganique-inorganique où on utilise en général les métaux tels que Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ce^{3+} ; et les antibactériens organique-inorganique où on note la présence des molécules organiques[25]

Les agents antibactériens sont très importants pour plusieurs domaine a savoir ; l'industrie du textile, la désinfection de l'eau, les médicaments et les emballages alimentaires Par conséquent, les agent antibactérien sont développés pour être sans aucune toxicité pour le corps humain avec une bonne activité antimicrobienne[26].

1.2.b-Etude antibactérien du cuivre :

Durant la dernière décennie, plusieurs études dans le domaine médical ont étudié les vertus du cuivre, les résultats obtenus ont montré que le cuivre est nécessaire pour le bon fonctionnement de certains enzymes, stimulation du système immunitaire contre les infections et aussi pour maintenir l'homéostasie. Il présente une toxicité pour les micro-organismes comme les bactéries et les virus, car il joue le rôle d'un anti bactérien. Les études ont montré aussi que le cuivre est capable d'éliminer les bactéries les plus résistantes, les moisissures et les virus. [9]

Yoon et al ont étudié l'effet antibactérien du cuivre sur les bactéries *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Il a remarqué que le ratio des bactéries mortes augmente lorsque les concentrations de NPs augmentent. Pour cela il a conclu que les effets antibactériens des nanoparticules de cuivre est dépendant de la concentration des nanoparticules et de la concentration en bactéries initialement[3]. De plus, la taille des molécules joue un rôle important dans la connaissance de leur efficacité en tant qu'antibactérien, car les études qui ont été réalisées montrent que les nanoparticules de cuivre ont une grande efficacité dans l'élimination des bactéries par rapport au cuivre libre et aux microparticules de cuivre[27].

Une autre étude a montré que la présence du cuivre dans; barres de lits, les interrupteurs, des plateaux de table roulante, accoudoirs des fauteuils, porte-sérum et éléments d'informatique permet de réduire de 87% les microbes[28]; Une étude a été menée au niveau de l'hôpital de SellyOak à Birmingham; sur l'effet antibactérien du cuivre sur les surfaces qui le contiennent, les résultats obtenus ont montrés que la présence des bactéries a diminué de 90% à 100% par rapport aux autres surfaces. L'étude a porté sur dix semaines de prélèvements avec l'analyse du nombre de bactéries aérobies total par centimètre carré[29]. L'université de Southampton (Grande-Bretagne) a aussi démontré que les surfaces en cuivre permettent l'élimination des *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) en 90 minutes[30]. Grâce à ces études, en 2008, l'Agence américaine de protection de l'environnement a approuvé l'homologation du cuivre et de ses alliages en tant qu'agent antimicrobien capable de lutter contre certains microorganismes responsables d'infections potentiellement mortelle[31]; c'est pourquoi il est utilisé dans de nombreux hôpitaux, pour réduire les bactéries et les risques d'infection.

De nombreuses bactéries et virus ont été éliminés par le cuivre notamment; *Acinetobacter baumannii*, Adénovirus, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Campylobacter jejuni*,

Clostridium difficile, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli O₁₅₇:H₇, Helicobacter pylori, virus de la Grippe A (H₁N₁), Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes, Poliovirus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enteritidis, entérocoque résistant, staphylocoque doré résistant à la Vancomycine et à la méthicilline[32]

A partir de son activité anti bactérienne, le cuivre a fait l'objet de plusieurs études visant à l'utiliser dans le développement d'une nouvelle génération de médicaments et de composés pour la médecine et l'agriculture, pour cela l'identification du mécanisme est important pour les activités biologiques[33].

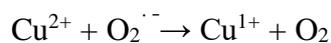
I.2-c. Le mécanisme d'action du cuivre sur les bactéries :

La destruction des microorganismes sur les surfaces en cuivre ne résulte pas d'un simple mécanisme mais de plusieurs effets[34];dont on cite 3.

*. Le cuivre catalyseur d'oxydations :

Le cuivre a comme capacité de donner ou de recevoir des électrons. Grâce à cela, il peut avoir différents états d'oxydation entre Cu⁺ et Cu²⁺. Ceci permet au cuivre d'agir en catalyseur dans la production d'espèces réactives d'oxygène (ROS) comme les radicaux hydroxyles (OH[·]) et les anions superoxydes (O₂^{·-}) [34]. La propriété redox du cuivre est établie par la réaction type Fenton et Haber-Weiss, comme vu ci-dessous[35] :

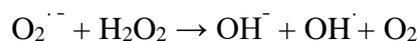
REACTION 1



REACTION 2 (Reaction type Fenton)



REACTION 3(Reaction d'Haber-Weiss)



Pour savoir quels sont les oxydants qui jouent le rôle déterminant dans la destruction cellulaire, des cellules d'entérocoques sont étudiées sur le cuivre en présence de différents chélateurs d'ions ou d'ROS qu'enchère[34]

Les résultats ont montré que; les ions Cu^{1+} qui interviennent en premier lieu contre les bactéries, puis les ions Cu^{2+} qui continuent sur le long terme. Par contre les radicaux hydroxyles ne sont pas responsables de la destruction cellulaire par le mécanisme du cuivre; ce phénomène est appelé le stress oxydatif qui est un mécanisme important pour les antibactériens du cuivre[36].

***. Dépolarisation des membranes cytoplasmiques :**

La dépolarisation des membranes plasmiques fait partie des mécanismes de destruction des microorganismes, où les études montrent qu'il est le mécanisme principal de l'effet antimicrobien du cuivre car le contact des cellules bactériennes avec le cuivre ne les brisent pas et ne provoque pas de fuite de matériel, mais les rendent plutôt perméables et les déstabilisent, ce qui les rend plus susceptibles d'être victimes de ruptures par forces physiques[9]

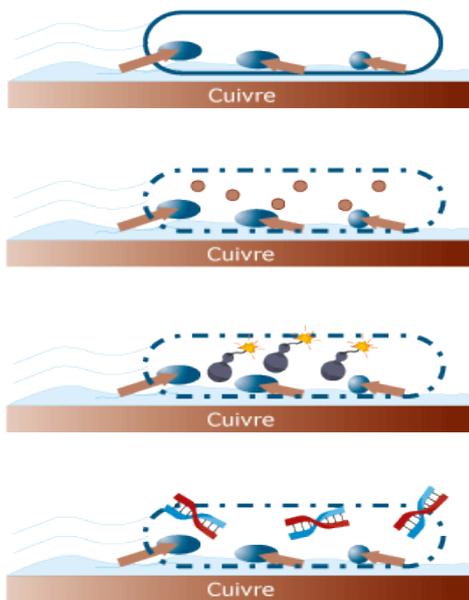
Les ions de cuivre peuvent rentrer en concurrence avec les ions Zn ou autres ions sur d'importants sites de liaison aux protéines, ceci menant à des changements conformationnels et à la perte des fonctions des protéines, Lorsque ce dernier perturbe l'activité des enzymes cytoplasmiques utilisées dans la fabrication de chaînes ramifiées d'acides aminés qui entraînent des dommages sélectifs à la membrane plasmique, certaines études ont confirmé que si les bactéries étaient gram-positives ou négatives, la membrane bactérienne est détruite après contact avec la surface du cuivre ; et c'est la dépolarisation des membranes cytoplasmiques qui est le mécanisme principal de l'effet antimicrobien du cuivre et que la dégradation du génome n'est qu'une conséquence de la mort cellulaire[9, 36].

***. Désintégration de l'ADN :**

La recherche a montré que les ions de cuivre ont la capacité de changer l'arrangement de l'ADN en s'y attachant et en changeant sa conformation[37]. Des études faites par Warnes et Keevil suggèrent que la dégradation de l'ADN est une part active du mécanisme de mort cellulaire par le cuivre[32]. Ils avancent que l'ADN est la cible principale de la toxicité du cuivre, ce qui mène à une fragmentation rapide de l'ADN immédiatement lors du contact aux ions cuivreux et qui apparaît au premier stade de la mort cellulaire. Et grâce à ces études, il a

été prouvé que le mécanisme de destruction de l'ADN n'est qu'un mécanisme secondaire[38], et à partir de là, l'élimination des cellules se fait par contact avec le cuivre qui arrive successivement par :

- Des dommages au niveau de la membrane.
- L'influx de cuivre à l'intérieur de la cellule.
- Des dommages d'oxydation qui en découlent.

**Etape 1 :**

La membrane cellulaire est endommagée

Etape 2 :

Le cuivre entre dans la cellule

Etape 3 :

Le cuivre oxyde les protéines

Etape 4 :

L'ADN est attaqué

A ce moment là, la cellule est morte. Puis, arrive ensuite la dégradation de l'ADN[9]

Figure I.2 : schéma du mécanisme de cuivre sur les bactéries

1. Le cuivre se dissout en surface et provoque des dommages cellulaires
2. Rupture de la membrane cellulaire qui rentre en contact avec le cuivre
3. Les ions en cuivre génèrent un stress oxydatif qui cause des dommages supplémentaires aux cellules
4. L'ADN des bactéries est dégradée ce qui rend très improbable le développement d'une résistance au cuivre.

On sait que les nanoparticules de cuivre ont une activité élevée contre un grand nombre de bactéries, et c'est pourquoi elles sont utilisées dans le développement de la nouvelle génération de médicaments et de dispositifs médicaux, en identifiant les mécanismes des activités biologiques[39, 40].

I.3.D'autres agents antimicrobiens inorganique :

Récemment, les scientifiques se sont intéressés aux nanoparticules inorganiques, en particulier les oxydes métalliques, qui jouent un rôle majeur en tant qu'antimicrobiens, en raison de leur stabilité, robustesse et de leur longue durée de conservation. L'activité antimicrobienne des nanoparticules a été étudiée avec différentes bactéries pathogènes et non pathogènes telles que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*[41]. Certains des oxydes inorganiques dont l'activité antimicrobienne a été testée sont TiO_2 , ZnO , MgO , CaO , Al_2O_3 , Ag_2O et CeO_2 [42].

Plusieurs facteurs sont liés à l'activité antimicrobienne des oxydes métalliques, tels que la concentration, le pH, le temps de contact, les propriétés de surface de la poudre, la génération d'oxygène actif et aussi la grosseur des particules d'oxydes de métaux[43] ; grâce à ces études, nous avons constaté que plus la concentration de la poudre et la surface spécifique étaient élevées, plus l'activité antimicrobienne serait étendue ; et en plus de cela, l'action des oxydes de métaux contre les bactéries apparaît et se manifeste à la surface de la particule[44].

I.4. Définition des bactéries à étudier

Les bactéries sont parmi les plus anciens organismes abondants sur Terre. Ce sont des organismes procaryotes unicellulaires. Cellules bactériennes entourées d'une membrane plasmique tapissée d'une paroi. La plupart des bactéries sont soit sphériques, comme *Staphylococcus aureus*, soit allongées sous le nom d'*Escherichia coli*, Il existe également des bactéries spiralées du genre *tréponème*[45].

I.4-a. -*Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus, ou ce qu'on appelle également *Staphylococcus doré*, est l'une des bactéries les plus pathogènes responsables de l'intoxication alimentaire, des infections purulentes localisées et dans certains cas extrêmes, des infections potentiellement mortelles[46] ; et ces bactéries se propagent partout dans la peau, le nuqueuse et la sphère rhino-pharyngée, chez les animaux à sang chaud, en particulier chez l'homme[47] ; Il est également considéré comme l'un des types de streptocoques les plus dangereux, car il provoque une inflammation cutanée, ainsi que des infections pulmonaires, des infections des valves cardiaques et des infections osseuses.

Ces bactéries se transmettent par contact direct avec une personne infectée, par l'utilisation d'un objet contaminé, ou par inhalation de gouttelettes infectées dispersées dans l'air par les éternuements ou la toux. Les infections cutanées sont fréquentes mais la bactérie peut se propager à travers la circulation sanguine et infecte des organes éloignés. Les infections cutanées peuvent être responsables de l'apparition de cloques, d'abcès, et de rougeurs et de gonflement de la zone infectée. L'apparence de la peau et l'identification de la bactérie dans un échantillon de matériel infecté permettent de faire le diagnostic[48].

Staphylococcus aureus produit une grande variété d'exoprotéines qui contribuent à sa capacité à coloniser et à provoquer des maladies chez les hôtes mammifères. Presque toutes les souches sécrètent un groupe d'enzymes et de cytotoxines qui comprend quatre hémolysines (alpha, bêta, gamma et delta), les nucléases, les protéases, les lipases, l'hyaluronidase et le collagénase. La fonction principale de ces protéines peut être de convertir les tissus locaux de l'hôte en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne.



Figure. I.3 : bactérie de staphylococcus aureus

I.4-b. *Pseudomonas aeruginosa* :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie gram-négative que l'on trouve souvent dans le sol, l'eau et les zones humides telles que les robinets et les tuyaux, et qui a une grande capacité d'adaptation aux environnements hostiles ; ces bactéries sont résistantes à l'eau, y compris à l'eau distillée [49]; elle a été isolée pour la première fois en 1882 par Gessard[50]. Elle est connue depuis longtemps sous le nom de bacille pyocyanique, de bacille du pus bleu ou Pyo ; bien que ces bactéries ne soient pas nocives pour une personne en bonne santé, mais ont un impact majeur sur les personnes souffrant d'un déficit immunitaire, elles sont également une cause majeure de décès et de morbidité chez les personnes atteintes de mucoviscidose[51, 52].

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie environnementale puissante et omniprésente qui est l'une des trois principales causes d'infections opportunistes chez l'homme ; elle est naturellement très résistante aux antibiotiques et s'adapte rapidement aux attaques médicamenteuses ; si le patient a récemment reçu plusieurs antibiotiques, ces bactéries peuvent être plus résistantes et plus dangereuses lorsqu'elles colonisent les poumons et se fixent rapidement sous la forme d'un film dynamique, lui permettant de résister aux défenses immunitaires de l'hôte et aux antibiotiques[49, 53] .



Figure. I.4 : bactérie de *Pseudomonas aeruginosa*

I.4-c. *Escherichia coli* :

Escherichia coli est une bactérie l'anaérobie facultatif prédominant de la flore colique humaine; gram négatif[49, 54]. Elle était découverte en 1885 par le chercheur Theodore Von Escherich d'où elle a eu son nom, elle est également connue sous le nom de colibacille[55].

Elle représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie, où elle participe à la barrière intestinale en arrêtant la croissance d'espèces bactériennes nuisibles. La colonisation du tube digestif commence dès les premières heures après la naissance et le rythme de division d'E.coli lui permet de garder pendant toute la vie de l'individu sa place dominante dans la flore (une division toute les 20 min à 37°C et en conditions favorables). [56].

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que sa présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation[57].

Escherichia coli pourrait être pathogène Lorsque les conditions le permettent : inflammation en dehors de l'intestin, en particulier dans les voies urinaires ou maladies diarrhéiques dont certaines souches d'Escherichia coli sont les agents responsables[58]

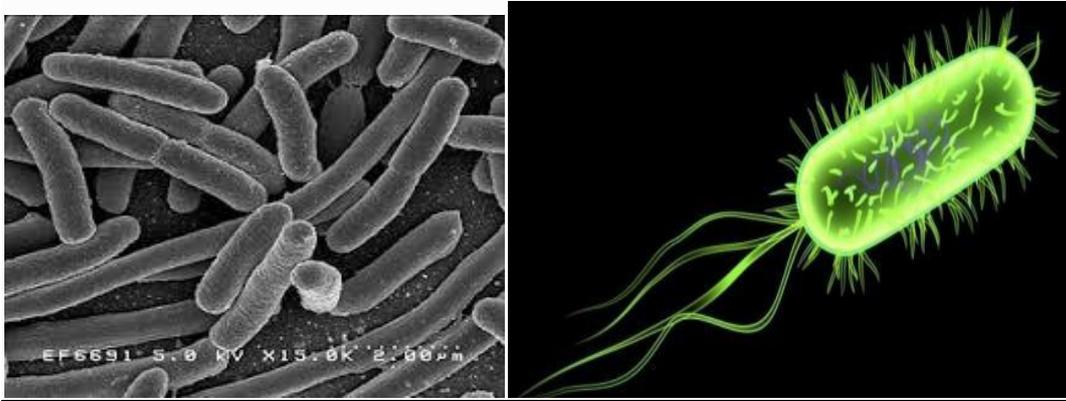


Figure. I.5 : bactérie d'Escherichia coli

I.5-Effet antifongique :

I.5-a. Définition :

Les champignons sont des micro-organismes appartenant au domaine eucaryote. Ils possèdent une paroi solide et un véritable noyau. Il existe plus de 50 000 espèces différentes. Certains de ces champignons sont à l'origine de nombreuses maladies telles que les dermatites. Le nombre d'infections fongiques graves et mortelles a augmenté, et l'une des causes est l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés pour une raison quelconque[59] C'est pourquoi les agents antifongiques sont utilisés pour lutter contre les infections localisées ou profondes par des champignons microscopiques ; ils agissent principalement sur la membrane cellulaire des champignons. En la perforant, les antifongiques perturbent la sécurité de la cellule et entraînent sa mort.

I.5-b. Etude antifongique du cuivre :

Le cuivre peut agir comme un agent antifongique car il est utilisé en agriculture, notamment en agriculture biologique, pour lutter contre diverses maladies fongiques, notamment sur la vigne, dans la production de fruits et légumes. C'est le seul ingrédient actif qui possède un important effet fongique et un large spectre d'action[60] , il est également utilisé dans les cultures biologiques de pommes de terre pour lutter contre le mildiou des infestations[61] , et il agit par contact pour empêcher la germination en utilisant un mélange de sulfate de cuivre

aqueux et de chaux, qui a été découvert à la fin du 19^{ème} siècle, et a été classé comme le principal fongicide contre le karma du mildiou[62].

L'utilisation du sulfate de cuivre aqueux et la chaux, permet d'empêcher la germination. Cette technique a été découverte la fin du 19^{ème} siècle, a été également classé comme le principal fongicide contre le karma du mildiou[62]. Les fongicides à base de cuivre sont devenus essentiels et plusieurs milliers de tonnes sont utilisées chaque année dans le monde pour prévenir les maladies des plantes. Le sulfate de cuivre a également été utilisé comme antiseptique dans les exploitations agricoles pour contrôler et prévenir les maladies animales, telles que le piétin chez les bovins et les ovins[63].

Les nanoparticules à base de Cu et leurs dérivés peuvent s'accumuler dans le mycélium des champignons tolérants au Cu lors de la décomposition du bois traité et se retrouver dans leurs spores, qui sont dispersées dans l'environnement. Le cuivre reste le principal composant biocide utilisé pour protéger le bois[64]. En outre, des études menées par Gregor Grass en 2011 où il a montré qu'en présence du cuivre, *Candida albicans* est éliminé en cinq minutes dans un environnement sec[64].

Les traitements au cuivre préviennent la formation du cancer et limitent le développement des champignons et des bactéries car il a un effet toxique sur les champignons en inhibant la germination des germes. Il est reconnu comme une bactérie très efficace, il empêche les bactéries de se multiplier[65].

1.5-c. Champignons à étudier:

***.Candida albicans :**

Candida albicans sont des champignons microscopiques du groupe de levures le plus important et le plus connu du genre *Candida*, généralement inoffensifs et présents dans le système reproducteur, le système digestif, la bouche et la peau[66]. Il peut parfois devenir pathogène en cas de déséquilibre immunitaire ou hormonal, il se multiplie et devient malade en libérant des toxines, car il est une cause importante de décès chez les patients atteints du VIH comme les malades du sida ou du cancer qui suivent une chimiothérapie. La candidose buccale et comique est fréquente chez les patients atteints du sida. Elles sont principalement dues à des modifications de l'hydratation, du pH, des concentrations de nutriments ou de l'environnement microbien de la peau et des muqueuses[67].

Candida albicans est un champignon polymorphe qui peut se développer soit sous forme de levure bourgeonnante ovoïde, soit sous forme de cellules ellipsoïdes allongées avec des constriction au niveau des septa (pseudohyphae), soit sous forme de véritables hyphes à parois parallèles[68]. D'autres morphologies comprennent les cellules blanches et opaques, formées lors de la commutation, et les chlamydozoïdes, qui sont des structures de spores à parois épaisses[69].



Figure. I.6 : champignon de *Candida albicans*.

References:

1. Puig, S. and D.J. Thiele, *Molecular mechanisms of copper uptake and distribution*. Current opinion in chemical biology, 2002. **6**(2): p. 171-180.
2. Cooksey, D.A., *Molecular mechanisms of copper resistance and accumulation in bacteria*. FEMS microbiology reviews, 1994. **14**(4): p. 381-386.
3. CHERIEF, I. and F. AMRANE, *Effet du cuivre sur les paramètres physiologiques et morphologiques chez la fève (Vicia faba L)*. 2016.
4. Duong, H.T., *OPTIMIZING BIODIESEL PRODUCTION FROM YELLOW GREASE USING PASSIVE SOLAR HEATING*. 2009.
5. Szymański, P., et al., *Development of copper based drugs, radiopharmaceuticals and medical materials*. Biometals, 2012. **25**(6): p. 1089-1112.
6. Santo, C.E., et al., *Bacterial killing by dry metallic copper surfaces*. Appl. Environ. Microbiol., 2011. **77**(3): p. 794-802.
7. Dollwet, H., *Historic uses of copper compounds in medicine*. Trace Elem. Med., 1985. **2**: p. 80-87.
8. Liang, J.B., et al. *Single phase CuO thin films prepared by thermal oxidation in air with water vapor*. in *Advanced Materials Research*. 2015. Trans Tech Publ.
9. Thobor, A. and J. Pierson, *Properties and air annealing of paramelaconite thin films*. Materials Letters, 2003. **57**(22-23): p. 3676-3680.
10. Korzhavyi, P.A. and B. Johansson, *Literature review on the properties of cuprous oxide Cu₂O and the process of copper oxidation*, 2011, Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co.
11. Al-Kuhaili, M., *Characterization of copper oxide thin films deposited by the thermal evaporation of cuprous oxide (Cu₂O)*. Vacuum, 2008. **82**(6): p. 623-629.
12. Belaid, F., L. Djouad, and T. Imloul, *Application électrocalectrocatalytique des couches minces de Cu₂O vis-à-vis de l'oxydation du fructose et des ions Cu₂O vis-à-vis de l'oxydation du fructose et des ions sulfites*, 2016, Université Abderrahmane Mira-Bejaia.
13. Rout, S., *Synthesis and Characterization of CuO/graphene oxide composite*, 2013.
14. Kirdous, A., A. Bouchekhchoukh, and T. Imloul, *Elaboration et caractérisation des couches minces d'oxyde de cuivre*, 2012, Université de Bejaia.
15. Chapelle, A., *Elaboration et caractérisation de films minces nanocomposites obtenus par pulvérisation cathodique radiofréquence en vue de leur application dans le domaine des capteurs de CO₂*, 2012, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
16. Kamel, G.M., *Incorporation du cuivre par différentes voies dans les matériaux composites zéolithe/MCM-41. Application à l'oxydation de composés organiques*.
17. Van Der Voort, P., et al., *Cool*, BM Weckhuysen and EF Vansant. Chem. Commun, 2002. **1010**.
18. Chen, C.-S., et al., *Synthesis of Cu nanoparticles in mesoporous silica SBA-15 functionalized with carboxylic acid groups*. Chemical Communications, 2011. **47**(8): p. 2288-2290.
19. Lakhi, K.S., et al., *Mesoporous Cu-SBA-15 with highly ordered porous structure and its excellent CO₂ adsorption capacity*. Microporous and Mesoporous Materials, 2018. **267**: p. 134-141.
20. Chen, C.-S., T.-W. Lai, and C.-C. Chen, *Effect of active sites for a water-gas shift reaction on Cu nanoparticles*. Journal of catalysis, 2010. **273**(1): p. 18-28.
21. Ma, Y.-L., et al., *Adsorption of methylene blue on Cu (II)-exchanged montmorillonite*. Journal of Colloid and Interface Science, 2004. **280**(2): p. 283-288.

22. Bersani, J., *Encyclopaedia universalis* 1968: Encyclopaedia universalis.
23. Hajipour, M.J., et al., *Antibacterial properties of nanoparticles*. Trends in biotechnology, 2012. **30**(10): p. 499-511.
24. Yoon, K.-Y., et al., *Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles*. Science of the Total Environment, 2007. **373**(2-3): p. 572-575.
25. Kasemets, K., et al., *Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast Saccharomyces cerevisiae*. Toxicology in vitro, 2009. **23**(6): p. 1116-1122.
26. Salgado, C., et al. *A pilot study to determine the effectiveness of copper in reducing the microbial burden (MB) of objects in rooms of intensive care unit (ICU) patients*. in 5th Decennial International Conference on Healthcare-Associated Infections. 2010.
27. Casey, A., et al., *Role of copper in reducing hospital environment contamination*. Journal of Hospital Infection, 2010. **74**(1): p. 72-77.
28. Noyce, J., H. Michels, and C. Keevil, *Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the healthcare environment*. Journal of Hospital Infection, 2006. **63**(3): p. 289-297.
29. RUELLE, A., et al., *Étude de l'effet antimicrobien du laiton AB+®: pour une maîtrise des biocontaminations des équipements hospitaliers*. Hygiène (Lyon), 2014. **22**(2): p. 117-122.
30. Warnes, S. and C. Keevil, *Mechanism of copper surface toxicity in vancomycin-resistant enterococci following wet or dry surface contact*. Applied and environmental microbiology, 2011. **77**(17): p. 6049-6059.
31. Cioffi, N., et al., *Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties*. Chemistry of Materials, 2005. **17**(21): p. 5255-5262.
32. O'gorman, J. and H. Humphreys, *Application of copper to prevent and control infection. Where are we now?* Journal of Hospital Infection, 2012. **81**(4): p. 217-223.
33. Hodgkinson, V. and M.J. Petris, *Copper homeostasis at the host-pathogen interface*. Journal of Biological Chemistry, 2012. **287**(17): p. 13549-13555.
34. Weaver, L., H. Michels, and C. Keevil, *Potential for preventing spread of fungi in air-conditioning systems constructed using copper instead of aluminium*. Letters in applied microbiology, 2010. **50**(1): p. 18-23.
35. Noyce, J., H. Michels, and C. Keevil, *Inactivation of influenza A virus on copper versus stainless steel surfaces*. Applied and environmental microbiology, 2007. **73**(8): p. 2748-2750.
36. Grass, G., C. Rensing, and M. Solioz, *Metallic copper as an antimicrobial surface*. Applied and environmental microbiology, 2011. **77**(5): p. 1541-1547.
37. Azam, A., et al., *Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study*. International journal of nanomedicine, 2012. **7**: p. 6003.
38. Ren, G., et al., *Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications*. International journal of antimicrobial agents, 2009. **33**(6): p. 587-590.
39. Liu, H.-L. and T.C.-K. Yang, *Photocatalytic inactivation of Escherichia coli and Lactobacillus helveticus by ZnO and TiO₂ activated with ultraviolet light*. Process Biochemistry, 2003. **39**(4): p. 475-481.
40. Stoimenov, P.K., et al., *Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents*. Langmuir, 2002. **18**(17): p. 6679-6686.
41. Makhluaf, S., et al., *Microwave-assisted synthesis of nanocrystalline MgO and its use as a bactericide*. Advanced Functional Materials, 2005. **15**(10): p. 1708-1715.

42. Sawai, J., et al., *Effect of particle size and heating temperature of ceramic powders on antibacterial activity of their slurries*. Journal of chemical engineering of Japan, 1996. **29**(2): p. 251-256.
43. Khaldi, Z., *Elaboration et évaluation biologique de nouveaux matériaux lignocellulosiques antibactériens*, 2018, Limoges.
44. Liu, G.Y., et al., *Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity*. The Journal of experimental medicine, 2005. **202**(2): p. 209-215.
45. Hennekinne, J., *Nouvelles approches pour la caractérisation des toxico-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive*, 2009, Thèse de Doctorat, Agro Paris Tech.
46. van Belkum, A., et al., *Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by Staphylococcus aureus*. Infection, Genetics and Evolution, 2009. **9**(1): p. 32-47.
47. Khalifoune, A., *Étude de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries d'importance clinique: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, et Staphylococcus aureus*. 2014.
48. AHMANACHE, S. and O. KACI, *Etude de la résistance des bacilles à Gram négatif aux β -lactamines à partir de divers prélèvements pathologiques*. 2019.
49. Delarras, C., *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. 2007.
50. Mans, S. and D.S. Canouet, *Pseudomonas aeruginosa: Une histoire d'eau*. archive], sur www.cclin-sudouest.com, Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales du Sud-Ouest, 2008. **27**.
51. Rossignol, G., *Contribution à l'étude de facteurs de virulence d'une souche hospitalière de Pseudomonas fluorescens: activité hémolytique et variation phénotypique*, 2007.
52. DAHMANE, A. and T.Y. FELLEH, *Le diagnostic des infections urinaires: Apport de l'étude cyto-bactériologique des urines*. 2018.
53. BEKKAL BRIKCI, S., *L'ETUDE DE POUVOIR PATHOGENE DES SOUCHES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLEE DE SERVICE DE CHIRURGIE A DE CHU DE TLEMCCEN*.
54. Smati, M., et al., *Quantitative analysis of commensal Escherichia coli populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level*. Microbiologyopen, 2015. **4**(4): p. 604-615.
55. Avril, J.-L., et al., *Bactériologie clinique 2000*: Ellipses Edition Marketing SA.
56. Le Minor, L. and C. Richard, *Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries* 1993: Institut Pasteur.
57. Chafia, G. and M. Imen, *Effets antifongiques d'une plante médicinale Marrubium vulgare*. 2017.
58. Andrivon, D., et al., *Peut-on se passer du cuivre en protection des cultures biologiques? Rapport d'expertise scientifique collective*, 2018, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).
59. Gilbin, R., *Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à des produits phytosanitaires: spéciation, biodisponibilité et toxicité. Exemple du cuivre dans les eaux de ruissellement de parcelles viticoles (Roujan, Hérault, France)*, 2001.
60. MCA, M.I.M.Z.M., *Etude de la tolérance au cuivre chez des isolats rhizosphériques de Pseudomonas fluorescens*.
61. Kanhed, P., et al., *In vitro antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi*. Materials Letters, 2014. **115**: p. 13-17.

62. Pařil, P., et al., *Antifungal effects of copper and silver nanoparticles against white and brown-rot fungi*. Journal of Materials Science, 2017. **52**(5): p. 2720-2729.
63. Bourbos, V. and M. Skoudridakis, *Efficacité de quelques fongicides cupriques à l'égard de *Spilocaea oleagina**. EPPO Bulletin, 1993. **23**(3): p. 393-397.
64. Lagane, C., *Rôle de l'IL-13 et des ligands de PPAR-gamma dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida Albicans*. Implication de PPAR-gamma*, 2007, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
65. Pierquin, A.-L., *Mycoses opportunistes et immunodépression*, 2010, UHP-Université Henri Poincaré.
66. Berman, J. and P.E. Sudbery, *Candida albicans: a molecular revolution built on lessons from budding yeast*. Nature Reviews Genetics, 2002. **3**(12): p. 918-931.
67. Sudbery, P., N. Gow, and J. Berman, *The distinct morphogenic states of *Candida albicans**. Trends in microbiology, 2004. **12**(7): p. 317-324.

CHAPITRE II :

PARTIE

EXPÉRIMENTAL

Chapitre II : Etude expérimentale

L'objectif de ce travail de recherche est de préparer et caractériser des matériaux à base de cuivre ; Cu/SBA-15 et Cu/CuO_x (0,5% ; 1% ; 3% ; 5% et 10%), mésoporeux et d'évaluer leur activité antibactérienne. Les procédures de préparation, les techniques de caractérisation ainsi que les conditions du test biologique sont détaillées dans ce chapitre.

II.1 Matériels et réactifs

II.1.1 Verreries :

Bécher (25mL).Eprouvette (10mL) .Erlenmeyer rodé. Spatule

II.1.2.Matériel biologique

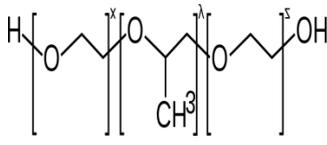
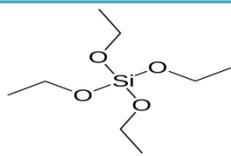
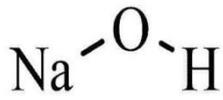
Tubes à essai, bec benuen, boîte pétri, pipette pasteur stérile, milieu de culture en poudre : Agar, Nutrient Agar (21g dans 1L d'eau distillé) et Muller Hinton Broth (28g dans 1L d'eau distillé).

II.1.3 Réactifs utilisés :

Tableau II.1 : propriétés physico-chimiques des produits utilisés.

Réactif	Formule brute	Structure moléculaire	Masse molaire	T [°] f(°C)	T [°] eb(°C)	Effets sur la santé
Nitrates de cuivre	Cu(NO ₃) ₂ ·3(H ₂ O)	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} - \text{N}^+ - \text{O}^- \\ \\ \text{O}^- \end{array} \right]_2 \left[\text{Cu}^{2+} \right]$	187,556 g/mol	114,5	170	
Chlorure d'hydrogène	HCl	$\begin{array}{c} \delta^+ \quad \delta^- \\ \text{H} - \text{Cl} \\ \quad \cdot\cdot \\ \quad \text{Cl} \end{array}$	36,461 g/mol	-114	-85	



Pluronic P123	HO(CH ₂ C H ₂ O) ₂₀ (CH ₂ CH(CH ₃) O) ₇₀ (CH ₂ C H ₂ O) ₂₀ H		5800 g/mol	-24.99	149	
TetraEthyl OrthoSilicate	(C ₂ H ₅ O) ₄ Si		208.3 g/mol			 
Hydroxyde de sodium	NaOH		39.99 g/mol	318	1390	 

II.1.4 Accessoires du laboratoire :

- ❖ **Balance :** Nous pesons les réactifs à l'aide d'une balance d'analyse de précision égale 0.0001g
- ❖ **Évaporateur rotatif :** Un évaporateur rotatif est un dispositif utilisé en chimie pour distribuer rapidement des solvants, en adoptant le principe simple de la distillation sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant en abaissant le point d'ébullition par pression. Elle consiste en un bain d'eau, un ballon de forme appropriée, un réfrigérant qui condense les gaz, un ballon dans lequel les gaz de condensation sont recueillis, un dispositif fait tourner le ballon le long de l'axe de symétrie.



Figure. II.1 : Evaporateur rotatif

- ❖ **Etuve :** Il s'agit d'un appareil qui effectue divers traitements thermiques à des températures contrôlées et qui a été utilisé dans notre travail à 100 °C pour sécher nos produits.
- ❖ **Four à calcination :** c'est un appareil de laboratoire visant à réaliser les opérations de calcination ; nous l'avons utilisé pour éliminer les impuretés et pour la cristallinités et aussi pour donner une activité thermique, ce travail ce fait à 400 °C.

II.2 Synthèse des matériaux:

a- SBA-15 :

La silice mésoporeuse de type SBA-15 a une structure hexagonale bidimensionnelle.

La synthèse de la SBA-15 se fait dans un milieu acide en présence du copolymère tribloc non ionique: le Pluronic P123.

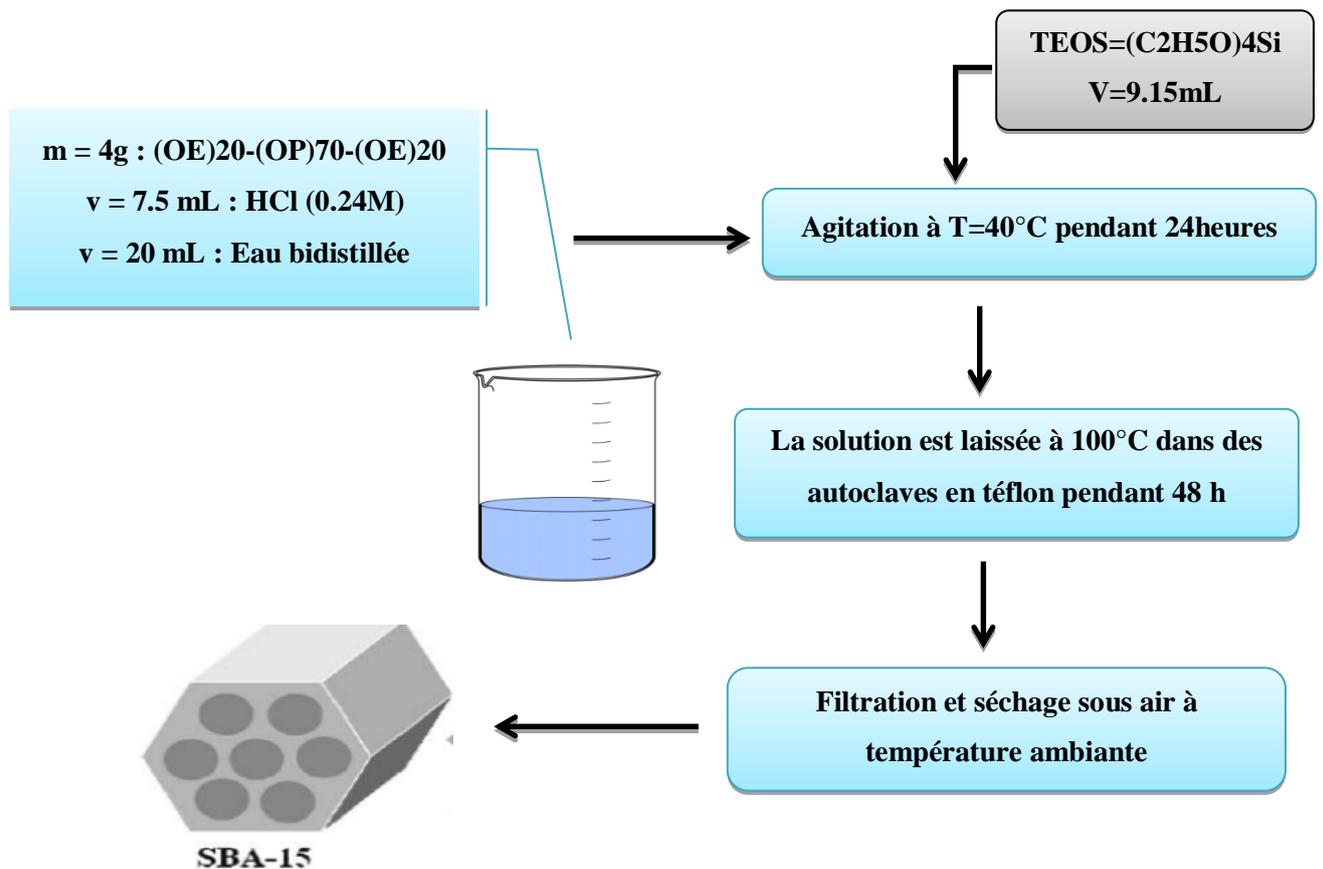
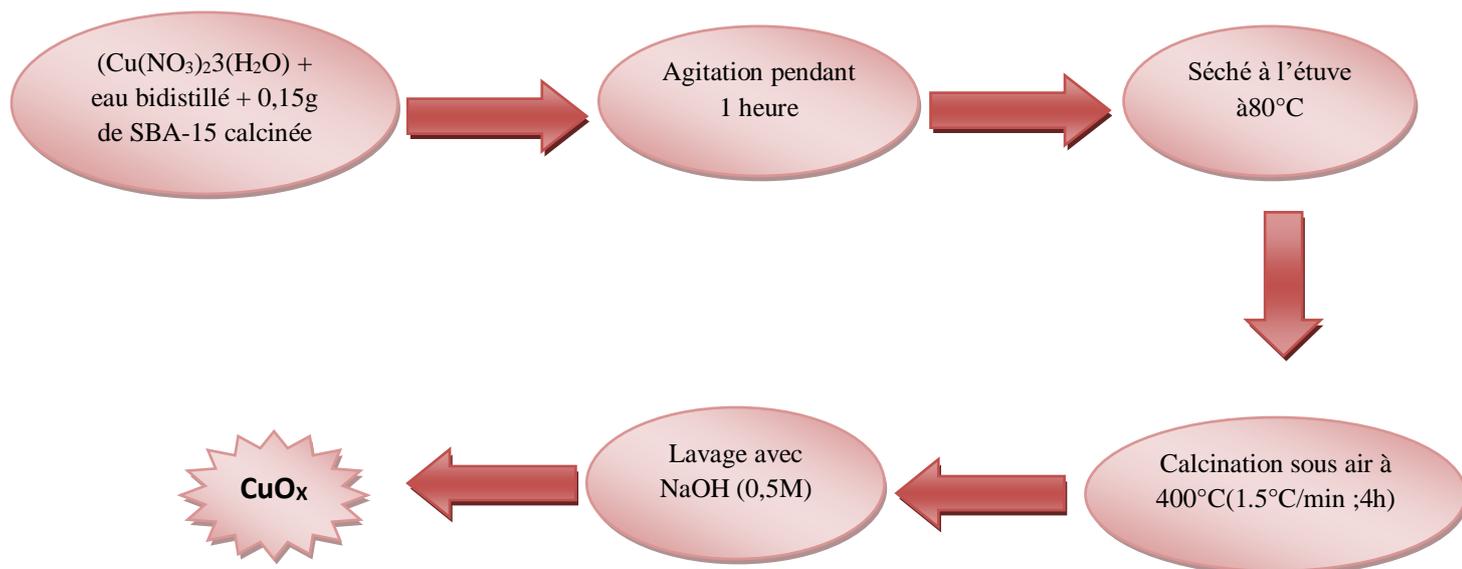


Figure II. 2 : Synthèse de SBA-15.

b- Oxyde de cuivre :

L'oxyde de cuivre est synthétisé par la méthode hard template, en utilisant les nitrates de cuivre comme précurseur de cuivre et la SBA-15 comme agent structurant. Suivant le mode opératoire cité ci-dessous :

Figure. II.3 : Synthèse de CuO_x

c- Cu / CuO_x ; $\text{Cu} / \text{SBA} - 15$ (0,5% ; 1% ; 3% ; 5% et 10%) :

Le cuivre a été déposé à la surface de l'oxyde de cuivre et la SBA-15, utilisés comme support, par la méthode d'imprégnation à humidité en phase aqueuse:

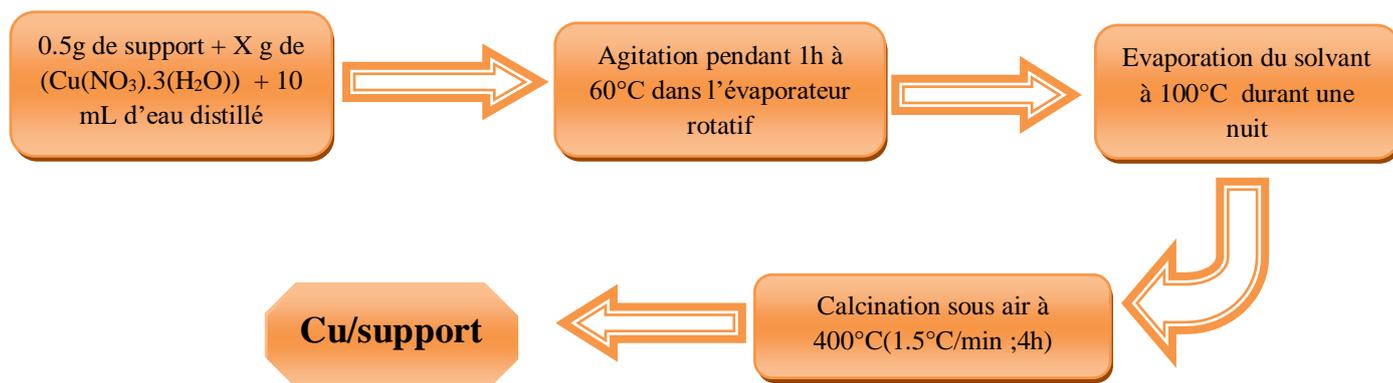
Figure. II.4 : synthèse de $\text{Cu}/\text{support}$



Figure. II.5 : Cu/SBA-15 synthétisé

II.3. Méthodes de caractérisation des matériaux synthétisés :

Les matériaux préparés ont été caractérisés par les techniques suivant:

- Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).
- Diffraction des rayons X
- Analyse par Adsorption-désorption d'azote (BET)

II.3.1- Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :

a. Principe :

Le principe de la spectroscopie infra-rouge consiste à irradier un échantillon par un rayonnement infra-rouge dont l'énergie associée est de quelques kilojoules par mole. Cette dernière est suffisante pour provoquer des transitions entre niveaux énergétiques rotationnels et vibrationnels des molécules. Les vibrations moléculaires, stretching, (élongation) et bending (déformation) absorbent une énergie variable selon la nature des atomes et la force des liaisons mises en jeu. De ce fait, toutes les bandes d'absorption seront les signatures caractéristiques de fonctions chimiques.

b. Conditions expérimentales :

Les analyses IRTF ont été réalisées à température ambiante sur un spectromètre BRUKER Equinox 55 FTIR équipé d'un détecteur DTGS. Les spectres sont enregistrés dans la gamme 4000 à 400 cm^{-1} avec une accumulation de 32 scans et une résolution de 4 cm^{-1} . Pour la caractérisation des matériaux calcinés, les analyses ont été faites en mode transmission et les échantillons ont été préalablement pastillés. Ainsi, 0,095 g de KBr et 0,05g de poudre de matériaux sont mélangés puis pressés à 10 cm^{-2} . La pastille obtenue est mise sur le porte

échantillon et placée dans l'appareil sous pression atmosphérique. Tous les spectres sont présentés en absorption après avoir soustrait le signal de la référence (KBr).

L'appareil utilisé est un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-FT ; Perkin Elmer), Agilent Technologies Cary 600 series du laboratoire LCSCO de l'université de Tlemcen.

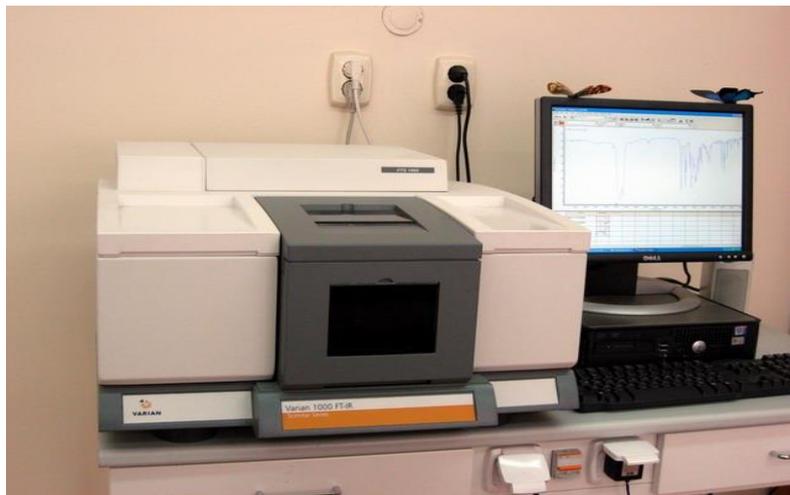


Figure. II.6 : appareil d'infrarouge à transformée de fourrier (IRTF)

II.3.2- Diffraction des rayons X :

La diffraction des rayons X est une méthode classique de caractérisation des matériaux, Elle permet de déterminer la nature et la structure cristallographique d'un solide. Elle se base sur la mesure des angles de diffraction des rayons X par les plans cristallins de l'échantillon à analyser.

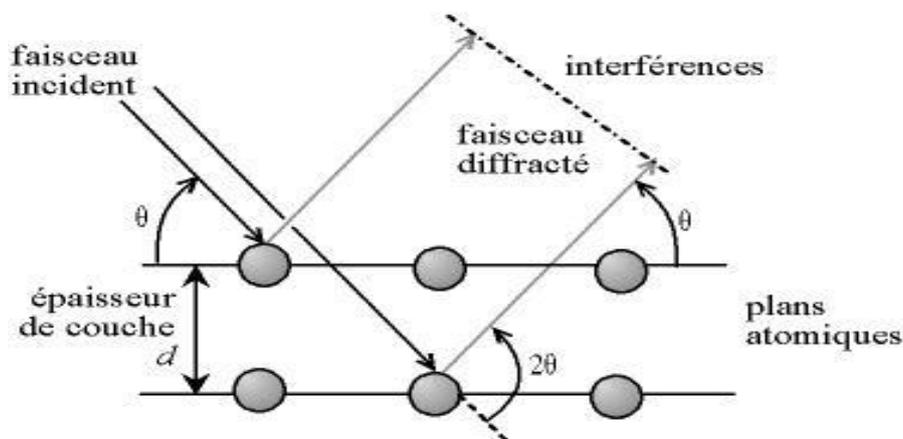


Figure II.7 : Représentation schématique de la diffraction des rayons X

Les angles de diffraction sont reliés aux caractéristiques du réseau cristallin et du rayonnement incident par « la loi de Bragg»:

$$2d_{hkl} \sin\theta = n \lambda$$

Où :

- $\theta(^{\circ})$: angle de diffraction de rayons se traduisant par une raie d'intensité I.
- d_{hkl} (nm) : distance inter-réticulaire correspondant au plan (hkl).
- λ (nm) : longueur d'onde du faisceau de rayons X utilisé.
- n (nombre entier) : ordre de diffraction.

Les mesures de diffractions de rayons X ont été réalisées sur un appareil Rigaku, Mini Flex 600 équipé d'un détecteur (SC-70).



Figure.II.8 : appareil de diffraction de rayons X

II.3.3-Analyse par Adsorption-désorption d'azote (BET) :

L'adsorption-désorption d'azote est une méthode mesurer les phénomènes de physisorption et de chimisorption tout en déterminant les isothermes d'équilibre de l'adsorption et de la désorption d'un nouveau matériau utilisée pour la caractérisation des matériaux mésoporeux et

permet de déterminer les propriétés texturales des matériaux tels que la surface spécifique, le volume poreux et la taille des pores.

Principe :

Le principe de cette technique consiste à évaluer la quantité du gaz physisorbée sur un solide. Une isotherme d'adsorption et de désorption est représentée par une courbe donnant la quantité d'azote adsorbée et désorbée par un matériau à température constante (77 K) en fonction de la pression ou de la concentration d'équilibre.

Cette description très générale, les isothermes d'adsorption ont été reprises de manière plus précise par l'IUPAC qui a établi six différents types d'isothermes correspondant chacune à un type différent d'interaction et de porosité.

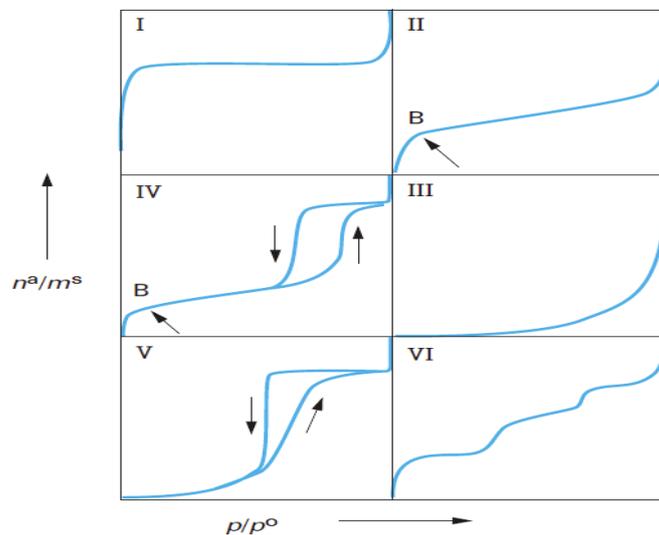


Figure.II.9 : Isotherme selon la classification de l'IUPAC

- Type I : obtenu sur un adsorbant microporeux, $d < 2\text{nm}$
- Type II : obtenu sur un adsorbant microporeux ou non poreux, $d > 50\text{nm}$
- Type III : obtenu sur un solide macroporeux ou non poreux, il est très rare
- Type IV : obtenu sur un solide mésoporeux, $2\text{nm} < d < 50\text{nm}$
- Type V : obtenu sur un solide mésoporeux (rarement rencontré).
- Type VI : très rare obtenu sur un solide dont les surfaces sont assez bien définies.

Cette méthode a été mise au point en se fondant sur les hypothèses suivantes :

- ❖ La surface est homogène et l'adsorption se déroule sur des sites bien définis, qui possèdent la même énergie et qui n'admettent qu'une seule molécule adsorbée.

- ❖ La molécule d'adsorbat est suffisamment petite pour bien recouvrir la surface du solide.
- ❖ Les interactions entre les molécules adsorbées sont négligeables.
- ❖ A partir de la deuxième couche adsorbée, l'énergie d'adsorption est constante et équivalente à la chaleur de liquéfaction. Ceci implique que l'interaction avec le solide devient négligeable au-delà de la monocouche ; ce phénomène est réversible à tout instant et donc il y a un équilibre permanent entre le nombre de molécules qui s'adsorbent et se désorbent.

II.4-Test biologique :

II.4.1-Activité antibactérienne et antifongique:

L'activité antibactérienne a été effectuée sur quatre souches de différent Gram : Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa

- **Première partie : Préparation de milieu de culture des bactéries :**

Le milieu de Muller Hinton c'est le milieu de culture des bactéries à étudier ; Le milieu a été préparé en dissolvant 28g de Muller Hinton Broth dans 1L d'eau distillé, la solution est maintenue sous agitation et chauffage jusqu'à l'ébullition puis versée dans des bouteilles en verre, recouvertes avec l'aluminium puis stérilisées dans un autoclave pendant 20 min à 120°C.

- **Deuxième partie : Préculture :**

Une culture de 0,5 mL (10^8 cellules/mL) obtenue après incubation à 37 °C pendant 24 h a été mélangée avec 10 mL de milieu liquide (PDA) à 40 °C. Ce dernier, probablement solide, est fondu par chauffage, puis refroidi avant d'être mis en contact avec la suspension microbienne.

Le mélange a été placé dans des boîtes de Pétri de 90 mm. Les matériaux des disques ont été échangés par du cuivre, préalablement stérilisés à 180 °C pendant 30 minutes, sont ensuite déposés dans le milieu PDA contenant la bactérie.

- **Troisième partie : Test antibactérien et antifongique :**

Après avoir préparé le milieu bactérien, nous y déposons une couche de bactéries, puis nous y mettons les matériaux qui ont été préparés précédemment, représentés par Cu / SBA-15, CuO et Cu / CuO avec des teneurs de cuivre différent, et a été étudié sur plusieurs bactéries a savoir : Staphylococcus aureus ATCC 25922, Escherichia coli ATCC 8739, Staphylococcus aureus ATCC 43300, Pseudomonas aeruginosa ATCC 22.

L'activité antimicrobienne est déterminée après l'incubation des plats dans une étuve à 37 °C pendant 24h ; puis déterminer les diamètres des zones d'inhibition pour savoir quels matériaux à un grand effet.



Figure.II.10 : test antibactérien et antifongique.

CHAPITRE III :

RÉSULTATS ET

DISCUSSIONS

Chapitre III : Résultat et discussion

Ce chapitre est divisé en deux parties :

La première est consacrée à la caractérisation des matériaux synthétisés par : BET et DRX ;

La deuxième partie est l'étude de l'effet antibactérien et antifongique de ces matériaux.

III.1- Caractérisation des matériaux synthétisés :

III.1-1- caractérisation de l'oxyde de cuivre :

III.1-1-a- Etude structurale par diffraction de rayons x :

La structure de l'oxyde de cuivre préparé a été déterminée en comparant les raies obtenues sur le diffractogramme des rayons X de l'oxyde avec celles des composés de référence présents dans la base de données JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

Le diffractogramme de l'oxyde de cuivre est représenté dans la figure III.1.

Les raies de diffraction à 2θ présents valent environ: $31,50^\circ$; $34,56^\circ$; $37,72^\circ$; $47,84^\circ$; $52,53^\circ$; $57,33^\circ$; $60,68^\circ$; $65,09^\circ$; $67,22^\circ$ et $74,42^\circ$ indexés avec les indices de miler : (110), (002), (111), (-202), (020), (-113), (022), (122) et (221) (JCPDS, dossier n ° 01-080-1917) indiquent une structure monoclinique de CuO [1].

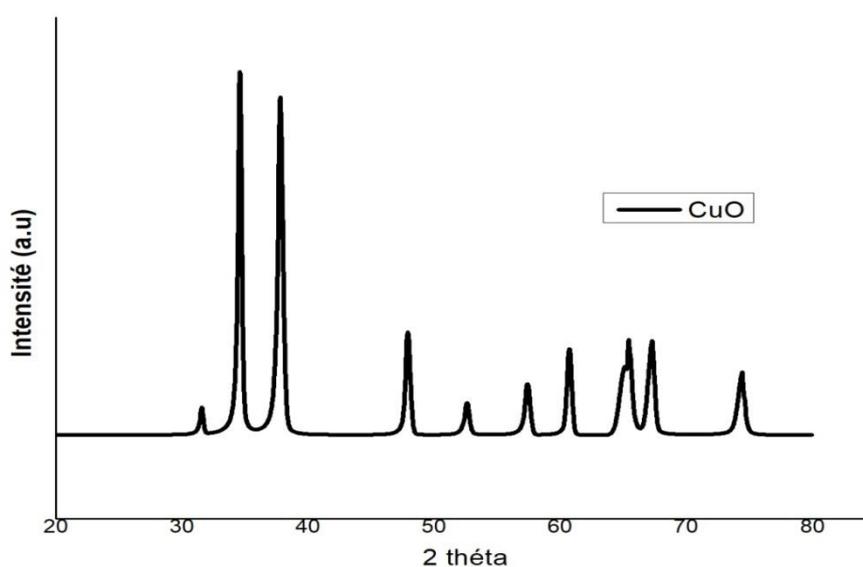


Figure.III. 1. Diffractogrammes de l'oxyde de cuivre

1-1-b-Etude par adsorption d'azote de l'oxyde :

Le tableau III.1 présente la surface spécifique de l'oxyde de cuivre :

	Surface spécifique BET (m ² /g)	Diamètre des pores
CuO	149	3

L'isotherme d'adsorption-désorption d'azote de l'oxyde est représentée dans la figure III.2. En accord avec la nomenclature définie par l'IUPAC [2], cette isotherme est de type IV; caractéristique des matériaux mésoporeux. La valeur des diamètres des pores présente dans le tableau III.1, confirme la mésoporosité de l'oxyde de cuivre .

La surface spécifique de l'oxyde de cuivre mésoporeux, CuO est reportée dans le tableau.III.1. Cette dernière est beaucoup plus importante que celle des oxydes conventionnels qui sont de l'ordre de (20 à 35 m²/g). [3]

Le tableau .III.1 présente aussi les résultats du diamètre de pore de l'oxyde de cuivre. Les résultats montrent qu'une partie de cuivre est perdue, cette perte a eu probablement au cour du lavage des matériaux avec NaOH pour l'élimination de la silice mesoporeuse utilisée comme agent structurant. Sachant que le cuivre est soluble dans le NaOH à une certaine concentration.

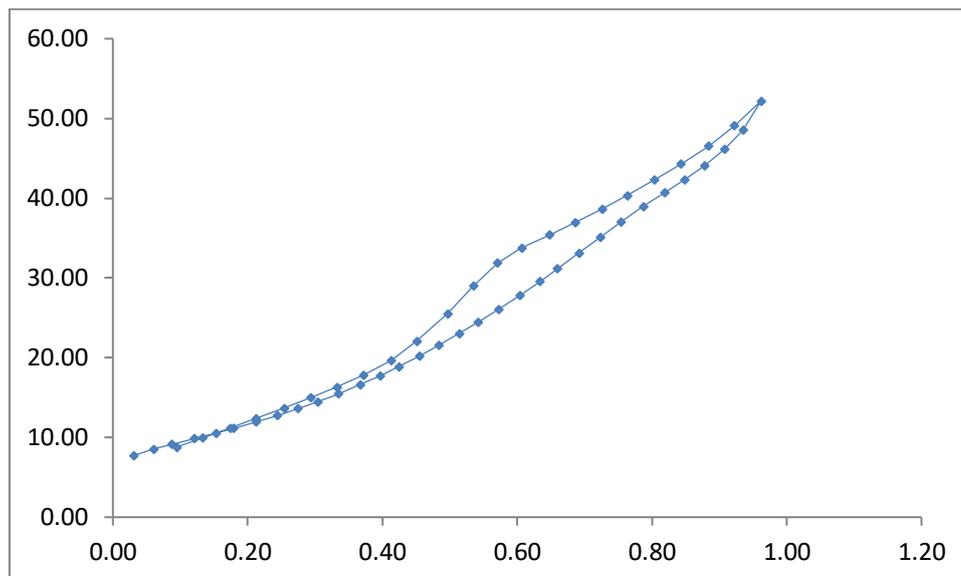


Figure. III. 2: Isotherme d'adsorption de désorption d'azote de l'oxyde de cuivre

III.2-Activité antibactérien :

Les catalyseurs obtenus à savoir : SBA-15; CuO ; X% Cu / CuO et X% Cu / SBA-15 (X : 1% ; 3% ; 5% et 10 %) ont été testés pour leur activité antibactérienne.

Nous avons sélectionné quatre souches, deux de Gram négatif (E. coli ATCC 87339, P. aeruginosa ATCC 22), et deux de Gram-positif (S. aureus1 ATCC 25922, S. aureus2 ATCC 43300). L'évaluation antibactérienne des catalyseurs synthétisés a été faite à partir de la détermination du diamètre de la zone d'inhibition. Les tests ont été effectués au sein du Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques physico-chimie, synthèse et activité biologique, du Centre universitaire Belhadj Bouchaib.

III. 2-1-activité antibactérien de Cu/SBA-15 :

Les résultats de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne, obtenus en présence de X % Cu/ SBA -15 (X= 0,5 ; 1 ; 3 ; 5 ; et 10) sont donnés dans la figure .III.3 . Les photos ont été prises après 24 h d'incubation.

Pour les bactéries de gram négative (E.coli et P.aeruginosa) et de gram positive (S. aureus1 ATCC 25922, S.aureus2 ATCC 43300), on observe l'absence de la zone d'inhibition en présence du catalyseur 1% Cu/SBA-15, ce qui signifie que ce dernier ne possède aucune activité antibactérienne sauf en présence de la bactérie gram positive S.aureus ATCC 43300

ou le catalyseur en question présente une bonne activité. Par contre on remarque que pour toutes les autres teneurs en cuivre, un important effet antibactérien est obtenu.

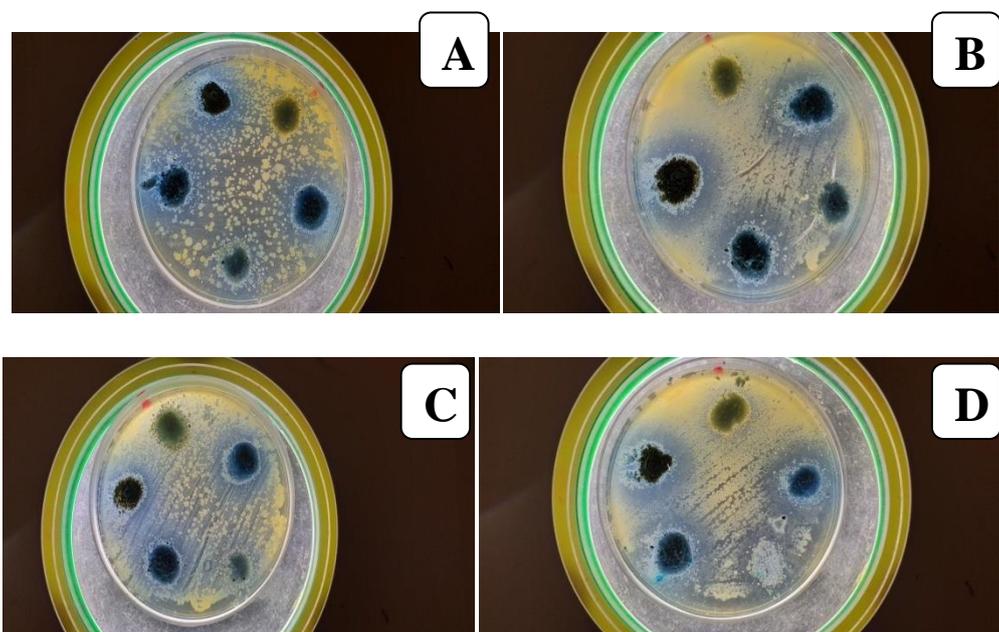


Figure. III. 3 : Résultats de l'activité antibactérienne de Cu/SBA-15 après 24h sur les souches bactériennes

(A : *S.aureus* 25922 / B : *E.coli* / C : *P.aeruginosa* / D : *S.aureus* 43300)

On observe aussi que la zone d'inhibition augmente en fonction de la teneur en cuivre, en effet plus la teneur en cuivre est importante plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, où cela est indiqué dans l'histogramme ci-dessous (figure. III. 4), où on voit clairement que la zone d'inhibition en présence du catalyseur ; 10%Cu/ SBA-15 est la plus importante. Ainsi on peut dire que la teneur en cuivre joue un rôle important dans l'activité antibactérienne, ce qui est en bon accord avec la littérature[4].

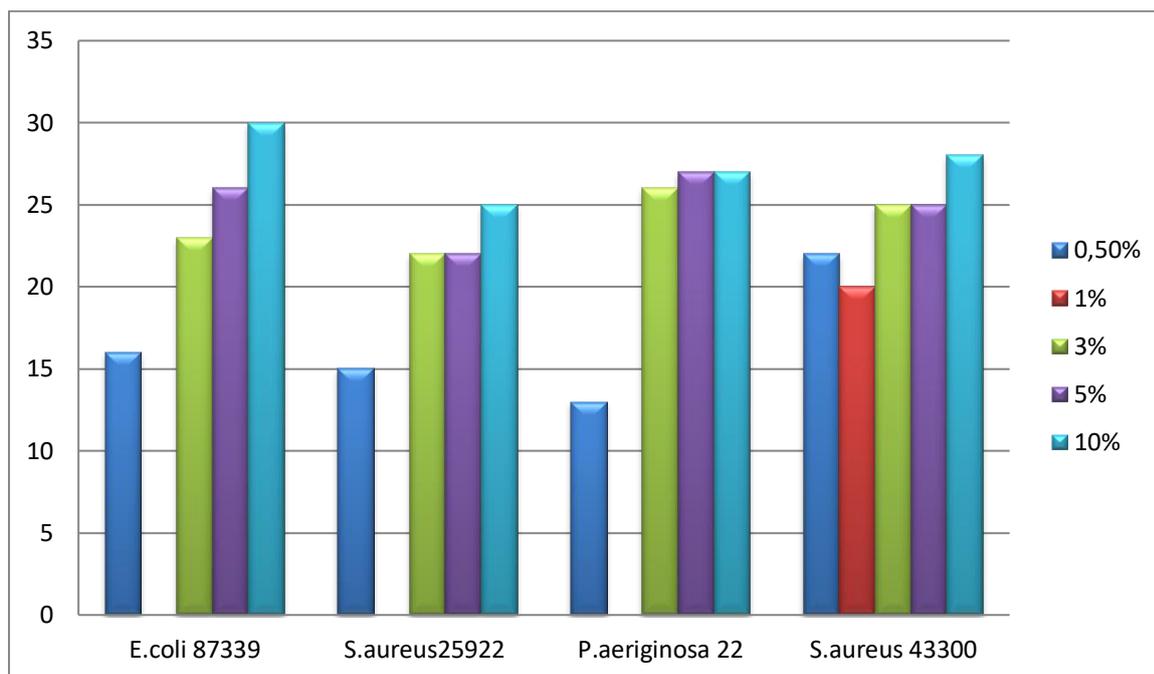


Figure. III. 4 : Valeurs des diamètres des zones d'inhibition en présence X%Cu/SBA-15 (en mm)

2-2-Activité antibactérien de Cu/CuO et CuO pur :

Dans cette partie de travail nous avons étudié l'effet antibactérien du Cu/CuO avec différentes teneurs en cuivre, et aussi celui de l'oxyde de cuivre pur CuO, sur les souches bactériennes sélectionnées ; la figure. III. 5 représente les résultats obtenus après 24 heures d'incubation.

Pour l'oxyde de cuivre, aucune activité antibactérienne n'est enregistrée sur toutes les souches bactériennes que ce soit de gram positif ou négatif, tandis qu'une variable activité est enregistrée, lorsque le cuivre est déposé à la surface de CuO. En effet, les catalyseurs ; 0,5%Cu/CuO ,1%Cu/CuO ,3%Cu/CuO, 5%Cu/CuO ont enregistré une activité antibactérienne contre les bactéries E.coli et S.Aureus 25922.Pour la bactérie S.aureus 43300 nous constatons l'absence d'activité en présence des deux catalyseurs ; 0,5% Cu / CuO et 1% Cu / CuO. Quant à la bactérie, P. aeruginosa, on observe une résistance et ceci quelque soit la teneur en cuivre déposé, donc aucune activité antibactérienne n'est enregistrée.

Cette différence d'activité peut être due à plusieurs facteurs. La nature de la bactérie joue un rôle très important, les bactéries à Gram négatif possèdent une couche mince de peptidoglycane, tandis que les bactéries à Gram positif ont une membrane externe de peptidoglycane plus épaisse par conséquent, l'une est plus résistante que l'autre. Cette activité

peut être liée aussi à la nature du catalyseur et aux propriétés structurales et texturales de ce dernier[5].

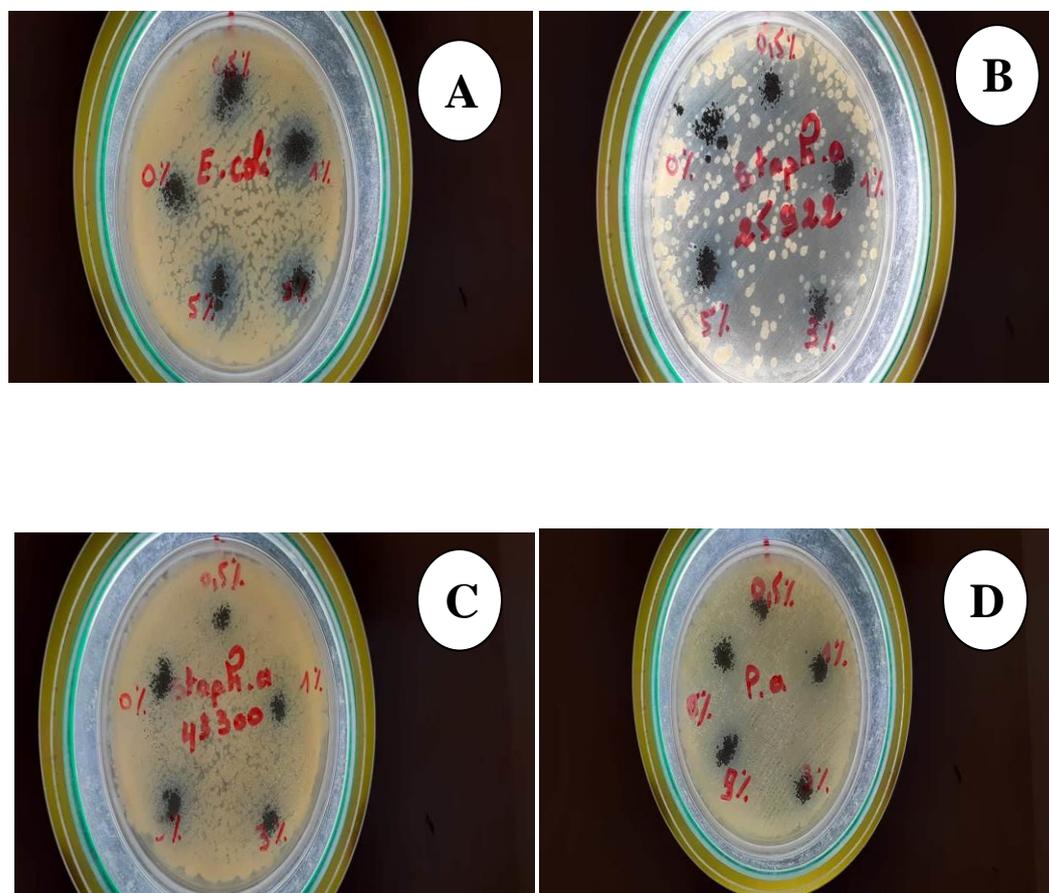


Figure. III.5 : Résultats de l'activité antibactérienne de Cu/CuO et CuO pur après 24h sur les souches bactériennes

(A : E.coli / B : S.aureus 25922 / C : S.aureus 43300 / D : P.aeruginosa)

Les résultats des photos de la figure. III. 5 ; sont représentés par l'histogramme présent dans la figure. III. 6 qui rapporte les valeurs du diamètre de la zone d'inhibition pour les différentes bactéries en présence des catalyseurs à base de cuivre supporté sur l'oxyde de cuivre (X % Cu / CuO) et l'oxyde de cuivre pur.

Pour les bactéries E. coli, le diamètre de la zone d'inhibition augmente en fonction de la teneur en cuivre; en effet nous avons constaté que la zone d'inhibition pour 5%Cu/CuO est plus grande que celle du 0.5%Cu/CuO ; et il en va de même pour la bactérie S.aureus 43300 dans

laquelle nous observons l'absence de la zone d'inhibition en présence des deux catalyseurs; 0.5%Cu/CuO et 1%Cu/CuO, et son apparition en présence des deux autres à savoir ; 3%Cu/CuO et 5%Cu/CuO. D'où nous concluons, que la teneur en cuivre joue un rôle important pour l'inhibition des deux bactéries; E. coli et S.aureus 43300. Pour la bactérie de S.aureus 25922 nous avons remarqué, que les diamètres de la zone d'inhibition sont indépendants de la teneur en cuivre, car les résultats ont montré que le diamètre de la zone d'inhibition pour 1%Cu/CuO est plus grand que celui du 5%Cu/CuO.

Le processus d'activité antibactérienne n'est pas un mécanisme précis[6], car il dépend principalement du taux de libération des particules de cuivre, ainsi que de leur taille et de leur état d'oxydation. Pour tirer tout ça en clair et avoir une explication à nos résultats nous devons avoir recours à d'autres méthodes de caractérisations.

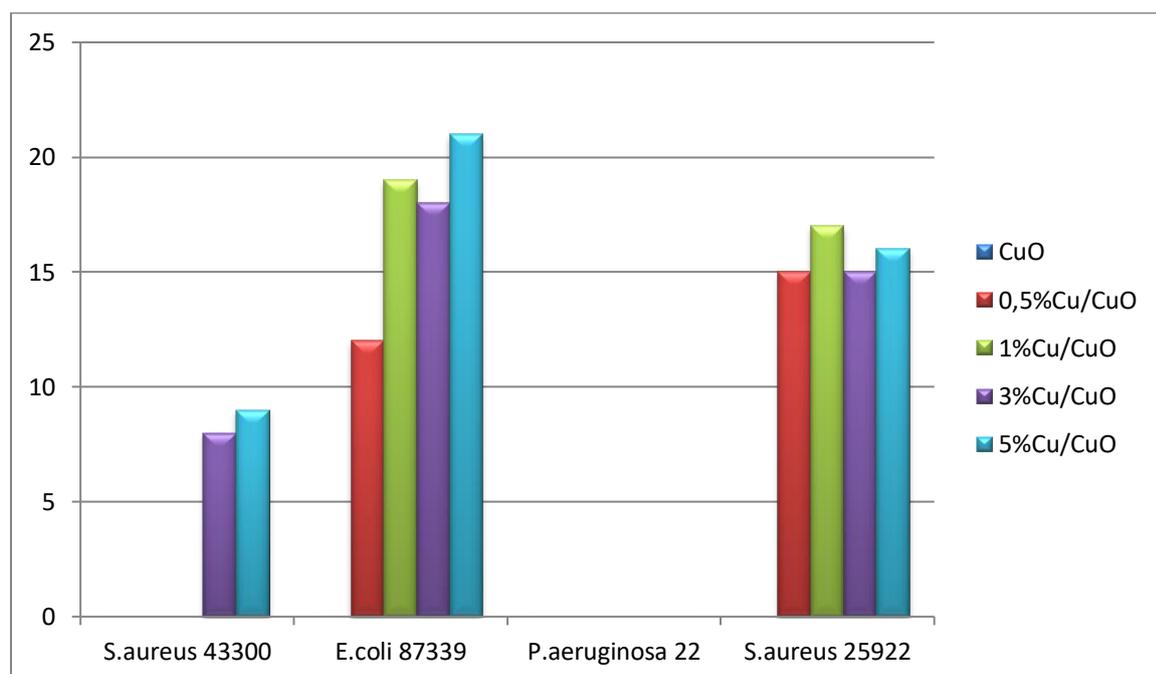


Figure. III. 6 : Diamètre des zones d'inhibition pour le X%Cu/CuO (en mm)

III.3-Activité antifongique :

La figure. III. 7 présente l'étude de l'activité antifongique en présence de l'oxyde de cuivre CuO et X% Cu /CuO (X= 0,5 ; 1 ; 3 et 5). Les résultats obtenus après 48h d'incubation du

champignon *C.albicans*, montrent que tous les catalyseurs évalués présentent une activité antifongique même en présence de l'oxyde de cuivre CuO pur.

On observe aussi que l'activité antifongique des matériaux n'est pas en corrélation avec celle de leur l'activité antibactérienne. En effet pour les bactéries, l'activité des catalyseurs X% Cu/ CuO dépend de la teneur en cuivre, ce qui n'est pas le cas pour leur activité antifongique, où le catalyseur 3% Cu / CuO est plus actif que le catalyseur 5 % Cu / CuO.

Pour avoir une explication à cette différence d'activité nous devons pousser la caractérisation des catalyseurs synthétisés, ce qui est en perspectifs.

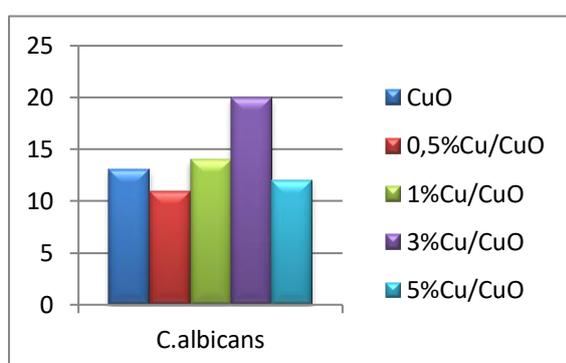


Figure. III. 7 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)

Figure. III.8 : Activité antifongique de CuO Pur et X% Cu/CuO

III.4.Discussion des résultats obtenus :

Dans notre travail nous avons étudié l'effet de la nature du support sur l'activité antibactérienne et antifongique du cuivre supporté. En effet nous avons préparé deux séries de catalyseurs à base de cuivre supporté sur des matériaux mésoporeux. Dans la première, nous avons déposé le cuivre avec différentes teneur à la surface d'une silicate mésoporeuse, la SBA-15 en utilisant la méthode de wetness imprégnation (0.5%Cu/CuO,1%Cu/CuO,3%Cu/CuO et 5%Cu/CuO). Quand a la deuxième série, nous avons déposé le cuivre avec la même méthode à la surface d'oxyde de cuivre 0.5%Cu/SBA-15 ,1%Cu/SBA-15 ,3%Cu/SBA-15, 5%Cu/SBA-15 et 10% Cu/SBA-15).

En testons les deux supports seuls (SBA-15 et CuO), aucune activité antibactérienne n'est enregistré. Hai-feng Chen et al [7], ont étudié à leur tour l'activité antibactérienne du carbone

et de CuO, où aucune activité n'a été enregistrée et ceci quelque soit la nature de la souche bactérienne (gram positive ou gram négative).

Après déposition du cuivre à la surface des supports, nos catalyseurs présentent une importante activité antibactérienne comparant à celle de la littérature [8] et ceci quelque soit le support (SBA-15 ou CuO).

Nous résultats montrent aussi que les catalyseurs à base de cuivre supporté sur SBA-15 sont plus actifs que %X Cu / CuO. Cette différence d'activité peut être due à la surface spécifique des catalyseurs, sachant que la SBA-15 possède une surface spécifique de l'ordre de 800 m²/g [9] alors que celle de l'oxyde de cuivre mésoporeux est de 149 m²/g. La grande surface spécifique peut procurer une meilleure dispersion des particules du métal et par conséquent des tailles de particules plus petites.

D'après nos résultats nous constatons aussi que, l'effet antibactérien des catalyseurs à base de cuivre supporté sur la SBA-15 (X % Cu / SBA-15), dépend de la teneur en cuivre. En effet, le catalyseur 10% Cu / SBA-15 possède l'activité antibactérienne la plus importante et ceci quelque soit la souche bactérienne utilisée. Les mêmes résultats sont obtenus en présence d'oxyde de cuivre supporté (X% Cu / CuO) ou le 5 % Cu / CuO, sauf en présence de la bactérie S.aureus 25922, où le 1% est un peu plus actif que le 5%.

L'influence de la teneur du cuivre sur l'activité des catalyseurs peut être due à l'absorption des particules de cuivre résultantes sur la paroi cellulaire bactérienne chargée négativement, ce qui entraîne la désactivation des enzymes cellulaires. La perturbation de la perméabilité membranaire et l'inhibition de la chaîne respiratoire et des protéines de la membrane cellulaire provoquant la dégradation des cellules bactériennes et finalement leur mort ; où les chercheurs ont découvert que les particules du métal limitent la croissance des bactéries en passant à travers les nanopores des membranes de la plupart des bactéries, alors que les enzymes bactériennes sont la principale cause de leur mort. Il a également été démontré que la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) peut causer des dommages irréversibles aux bactéries. [10]

Référence :

1. Samanta, S. and R. Srivastava, *Simultaneous determination of epinephrene and paracetamol at copper-cobalt oxide spinel decorated nanocrystalline zeolite modified electrodes*. Journal of Colloid and Interface Science, 2016. **475**: p. 126-135.
2. Seaton, N. and J. Walton, *A new analysis method for the determination of the pore size distribution of porous carbons from nitrogen adsorption measurements*. Carbon, 1989. **27**(6): p. 853-861.
3. Cheng, Z.-L. and W. Sun, *Preparation of nano-CuO-loaded halloysite nanotubes with high catalytic activity for selective oxidation of cyclohexene*. Chinese Chemical Letters, 2016. **27**(1): p. 81-84.
4. Mokhtar, A., et al., *Preparation and characterization of layered silicate magadiite intercalated by Cu 2+ and Zn 2+ for antibacterial behavior*. Journal of Porous Materials, 2017. **24**(6): p. 1627-1636.
5. NVKV Prasad, T., V. Subba Rao Kambala, and R. Naidu, *A critical review on biogenic silver nanoparticles and their antimicrobial activity*. Current Nanoscience, 2011. **7**(4): p. 531-544.
6. Dizaj, S.M., et al., *Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles*. Materials Science and Engineering: C, 2014. **44**: p. 278-284.
7. Chen, H.-f., et al., *Preparation and antibacterial activities of copper nanoparticles encapsulated by carbon*. New Carbon Materials, 2019. **34**(4): p. 382-389.
8. Zahraoui, M., et al., *Preparation of Al-magadiite material, copper ions exchange and effect of counter-ions: antibacterial and antifungal applications*. Research on Chemical Intermediates, 2019. **45**(2): p. 633-644.
9. Azzi, H., et al., *Total oxidation of toluene-over Pd/mesoporous materials catalysts*. Chimica Oggi-Chemistry Today, 2012. **30**: p. 4.
10. Dong, P., et al., *Plasmon enhanced photocatalytic and antimicrobial activities of Ag-TiO₂ nanocomposites under visible light irradiation prepared by DBD cold plasma treatment*. Materials Science and Engineering: C, 2019. **96**: p. 197-204.

Conclusion général

Conclusion :

Notre travail est consacré à la préparation des catalyseurs à base de cuivre, en le déposant avec différentes teneur à la surface des supports mésostructurés à savoir ; la SBA-15 et l'oxyde de cuivre. Les catalyseurs synthétisés ont été caractérisés par : RX et BET. Leur activité a été évaluée dans le domaine biologique. En effet l'activité antibactérienne et antifongique des catalyseurs synthétisés a été étudiée sur deux séries de souche bactérienne, une série de gram positif (*S. aureus*1 ATCC 25922, *S. aureus*2 ATCC 43300) et une autre de gram négatif (*E. coli* ATCC 87339, *P. aeruginosa* ATCC 22). Les résultats obtenue ont montré que:

- L'oxyde de cuivre synthétisé présente une structure monoclinique ;
- La SBA-15 et le CuO sont des matériaux mésoporeux avec une importante surface spécifique. En effet la SBA-15 a une surface de l'ordre de 800 m²/g et l'oxyde de cuivre à une surface égale à 149 m²/g. Sachant que les oxyde en masse possèdent une surface qui ne dépasse pas 20 m²/g ;
- Les catalyseurs X% Cu/SBA-15 et X%Cu/CuO ont une activité antibactérienne contre les souches bactériennes et ceci quelque soit la teneur en cuivre ou le support utilisé ;
- Le Cu/SBA-15 présente une très bonne activité et meilleur à celle du Cu/CuO ;
- La teneur en cuivre joue un important rôle dans l'activité antibactérienne des catalyseurs synthétisés, en bon accord avec les travaux précédents, plus la teneur en cuivre est élevée, plus l'activité antibactérienne est importante ;
- L'oxyde de cuivre pure (CuO) ne présente aucune activité antibactérienne et ceci quelque soit le type de la souche, que se soit de Gram positif ou Gram négatif;
- X%Cu/CuO et CuO pure, ont enregistré une bonne activité antifongique contre le champignon *C.alibicans* et ceci quelque soit la teneur en cuivre.

Résumé :

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la synthèse de matériaux à base de cuivre et à l'étude de leurs effets antibactériens et antifongiques dans le domaine médical et biologique, qui constituent un vaste champ de recherche, en raison de leurs diverses propriétés. C'est pourquoi nous avons travaillé sur la synthèse des catalyseurs à base de cuivre avec différents teneurs supportés sur des matériaux mésoporeux à savoir; la SBA-15 et le CuO, par la méthode d'imprégnation à humidité en phase aqueuse. Ces catalyseurs ont été évalués dans le domaine biologique à savoir l'élimination des bactéries. Les résultats obtenus ont montré que ; les catalyseurs X% Cu / SBA-15 et X% Cu / CuO, présentent une bonne activité antibactérienne quelque soit la nature de la souche ; de gram négatif ou positif, tandis que l'oxyde de cuivre mésoporeux ne présente aucune activité. Les résultats ont montré aussi que les catalyseurs X% Cu / CuO et CuO pur, ont enregistré une bonne activité antifongique.

Les mots clés : cuivre supporté, SBA-15, oxyde de cuivre, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract:

In this study, we are interested in the synthesis of copper-based materials and the study of their antibacterial and antifungal effects in the medical and biological fields, which constitute a vast field of research due to their various properties. In this purpose, we have been working on the synthesis of copper supported by SBA-15 and CuO, using witness impregnation method. Therefore, we have tested these catalysts on certain bacteria and fungi, where we have obtained an interesting antibacterial activity for both X% Cu / SBA-15 and X% Cu / CuO whatever the nature of bacteria, gram positive or gram negative, while (CuO) has shown no antibacterial activity. X% Cu / CuO and pure CuO catalysts have also shown a good antifungal activity.

Keywords: supported copper, SBA-15, copper oxide, antibacterial activity, antifungal activity.

ملخص:

في هذه الدراسة، كنا مهتمين بتركيب المواد النحاسية و دراسة تأثيراتها المضادة للبكتيري أو الفطريات في المجال الطبي و البيولوجي ، و التي تشكل مجالاً كبيراً من الأبحاث، نظراً لخصائصها المختلفة. هذا هو السبب في أننا عملنا على تصنيع محفزات قائمة على النحاس بمحتويات مختلفة مدعومة ب مواد مسامية وهي ؛ SBA-15 و CuO، بطريقة التشريب بالرطوبة في المرحلة المائية. تم تقييم هذه المحفزات في المجال البيولوجي، أي القضاء على البكتيريا. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها: تُظهر المحفزات X% Cu / SBA-15 و X% Cu / CuO نشاطاً جيداً مضاداً للبكتيريا مهما كانت طبيعة السلالة؛ الجرام سالب أو موجب، بينما أكسيد النحاس متوسط المسام ليس له نشاط. أظهرت النتائج أيضاً أن المحفزات X% Cu / CuO و CuO النقي سجلت نشاطاً مضاداً جيداً للفطريات.

الكلمات الأساسية: النحاس المدعوم، SBA-15 ، أكسيد النحاس، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للفطريات.