



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques

Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle

Spécialité : **Biochimie Appliquée**

Présentée par M^{lle} **KHENFER Siham**

Contribution à l'inhibition des bactéries multirésistantes par des nanoparticules métalliques biosynthétisé par une bactérie lactique isolée à partir d'un produit laitier dans la région de Ouargla

Soutenue publiquement : Le 24/06/2026

Devant le jury composé de :

BOUDJENAH-HAROUN Saliha	Professeure. Univ. Ouargla	Présidente
MOSBAH Said	MCA. Univ. Ouargla	Promoteur
BOURICHA M'hamed	MCA. Univ. Ouargla	Co-promoteur
BOURAS Noureddine	Professeur. Univ. Ghardaia	Rapporteur
MAHBOUB Nasma	Professeure. Univ. Eloued	Rapporteur
KHALLEF Sakina	MCA. Univ. Ouargla	Rapporteur
BACHA Oussama	Professeur. Univ. Ouargla	Invité

Année Universitaire : 2025-2026

Remerciements

A Allah

Tout puissant Qui nous a inspiré Qui nous a guidés dans le bon chemin.
Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de cette thèse.

A ma Maître et Rapporteur de thèse **Dr. MOSBAH Saïd** Maître assistante à l'université d'Ouargla, pour son encadrement exceptionnel, ses conseils avisés et sa disponibilité tout au long de ce travail.

Je souhaite exprimer ma plus profonde reconnaissance à mon professeur **Dr. BOURICHA M'hamed**, Maître assistant à l'Université de Ouargla, pour son accompagnement constant et précieux tout au long de ce parcours académique.

Son dévouement exemplaire, sa patience inépuisable et sa disponibilité sans faille ont été pour moi une source inestimable de motivation et d'inspiration. Grâce à ses conseils éclairés, ses orientations pertinentes et son soutien moral indéfectible, j'ai pu surmonter les difficultés rencontrées et progresser dans toutes les dimensions de ma recherche.

Je lui suis profondément reconnaissante pour avoir guidé mes pas avec bienveillance, pour avoir partagé son expertise avec une grande générosité, et pour avoir contribué de manière significative à la réalisation de cette thèse. Je tiens également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement ;

A ma Présidente du jury **Pr. BOUDJENAH-HAROUN Saliha**

Pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Nous vous sommes très reconnaissantes de la spontanéité et de l'amabilité avec laquelle vous avez accepté de juger notre travail, Veuillez agréer, Docteur, l'expression de notre profond respect.

Aux **Pr. BOURAS Nouredine, Dr. MAHBOUB Nasma et Dr. KHALLEF Sakina**

Qui nous a fait l'honneur de juger, et évaluer notre travail, Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieuses remarques.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à **Pr. BACHA Oussama**, professeur à l'Université d'Ouargla, pour son accompagnement précieux tout au long de l'élaboration de cette thèse.

Son expertise, sa rigueur méthodologique et ses conseils avisés ont été déterminants dans la structuration, l'approfondissement et l'amélioration de la qualité de ce travail. Je lui suis

particulièrement reconnaissante pour sa disponibilité, sa patience et son engagement constant.

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude au **Pr. BELKHALFA Hakim**, directeur du Centre de Recherche en Analyse Physico-Chimique (CRAPC) d'Ouargla, ainsi qu'à l'ensemble du personnel du centre, pour avoir mis à ma disposition les moyens et ressources nécessaires à la réalisation de mes travaux de recherche.*

Leur soutien logistique et leur disponibilité ont joué un rôle essentiel dans le bon déroulement de cette thèse.

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Monsieur **IDDER Tahar** directeur du centre de recherche d'Ouargla, pour sa disponibilité et sa générosité dans l'acceptation de toutes mes demandes au sein du laboratoire.*

Son soutien constant et son ouverture ont grandement facilité la réalisation de mes travaux de recherche.

*Je tiens à exprimer à remercie **Dr. RAHMANI Amine** et **Dr. BOUTBICHA Imane** au laboratoire central de l'hôpital Mohamed Boudiaf, pour leur accueil chaleureux et leur aide précieuse tout au long de mon séjour à l'hôpital.*

Leur disponibilité, leur soutien et leurs conseils ont grandement facilité la réalisation de mes travaux.

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Dr. CHERBI Youssef**, directeur du laboratoire d'analyses médicales Cherbi à la wilaya de Ouargla, pour l'accueil chaleureux qu'il m'a réservé.*

Ses orientations précieuses m'ont permis de clarifier plusieurs aspects scientifiques et d'enrichir ma réflexion tout au long de ce travail.

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à l'ensemble des responsables et du personnel des laboratoires médicaux privés à la région d'Ouargla pour leur précieuse aide. Leur disponibilité, leur soutien et leur collaboration ont grandement contribué à la réussite de mes travaux de recherche, Je tiens à mentionner particulièrement **Dr. HADJAJ**, **Dr. BELAID**, **M^{me}. BENSALAH**, **M^{lle}. BABAHAMOU** et **Mr. BOUGUETAIA**.*

Je ne pourrai terminer mes remerciements sans y associer mes enseignants qui ont Contribué à ma formation et le personnel du département de science biologique de la faculté de la nature et de la vie, Université Kasdi Merbah –OUARGLA–.

Table de matière

Remerciements	i
Liste des figures	xi
Liste des tableaux	xiii
Introduction	i

Partie I : Théorique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. LES ANTIBIOTIQUES & BACTERIES MULTIRESISTANTES	7
1.1.1 I.1.1. Définition des antibiotiques	7
1.1.2. Classification des antibiotiques	7
1.1.3. Mode d'action des antibiotiques	8
1.1.4 Résistance aux antibiotiques & Bactéries multirésistantes	8
1.1.4.1 Définition des bactéries multirésistantes	9
1.1.4.2 Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques	9
1.1.4.3 Espèces bactériennes multirésistantes	11
1.1.4.4 Facteurs favorisant la résistance bactérienne	13
1.1.4.5 Implications économiques de la résistance aux antibiotiques	13
1.1.4.6. Dernières stratégies contre les micro-organismes résistants aux médicaments	15
I.2. NANOPARTICULES & NANOTECHNOLOGIE	19
1.2.1. Définition des nanotechnologies	19
1.2.2. Définition des nanoparticules	20
1.2.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules	20
1.2.3.1 Méthodes physiques	20
1.2.3.2 Méthodes chimiques	20
1.2.3.3 Méthodes biologique (synthèse verte)	21
I.3. BACTERIES LACTIQUES	23
1.3.1. Histoire des bactéries lactiques	23
1.3.2. Définition des bactéries lactiques	24
1.3.3. Taxonomie des bactéries lactiques	24
1.3.4. Métabolites des bactéries lactiques	24
1.3.5. Applications des bactéries lactiques	27
1.3.5.1 Les bactéries lactiques comme probiotiques	28
1.3.5.2 Les bactéries lactiques en nanobiotechnologie	28
1.3.6. Toxicité et biocompatibilité des nanoparticules	31

Partie II : Pratique

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 ETUDE RETROSPECTIVE SUR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES	35
II.1.1 Modalités de recueil des données	35
II.2 COLLECTE DES BACTERIES PATHOGENE	36
II.2.1 Identification des bactéries collectés	36
II.2.1.1 Identification phénotypique	37
II.2.1.2 Identification biochimique des bactéries par VITEK®2	37
II.2.2 Test de sensibilité aux antibiotiques par VITEK®2	38

II.2.3 Conservation des souches.....	38
II.2.3.1 Conservation à courte durée	39
II.2.3.2 Conservation à long terme	39
II.3 BIOSYNTHESE EXTRACELLULAIRE DES NANOPARTICULES DE CHLORURE D'ARGENT.....	39
II.3.1 Bactérie lactique <i>Streptococcus</i> sp.	39
II.3.1.1 Préparation de surnageant bactérien	39
II.3.1.2 Analyse du surnageant extracellulaire de <i>Streptococcus</i> sp.	40
II.3.2 Biosynthèse des AgCLNPs.....	41
II.3.3 Caractérisation des AgCLNPs biosynthétisées.....	42
II.3.3.1 Spectrophotométrie UV-visible (UV-vis)	43
II.3.3.2 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF).....	43
II.3.3.3 Diffraction des rayons X (DRX)	43
II.3.3.4 Microscopie électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X (MEB-EDX)	44
II.3.3.5 Distribution hydrodynamique de la lumière et potentiel zêta.....	44
II.4 POTENTIELS BIOLOGIQUES DES AGCLNPs BIOSYNTHETISE.....	45
II.4.1 Evaluation in vitro et in silico des effets des AgCLNPs contre les bactéries multirésistantes	45
II.4.1.1 Méthode de diffusion sur gélose.....	45
II.4.1.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice	46
II.4.1.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide	46
II.4.1.4 Docking moléculaire.....	46
II.4.2 Evaluation de l'activité antioxydante des AgCLNPs biosynthétisées.....	47
II.4.2.1 Test de piégeage de radical libre DPPH	47
II.4.2.2 Test de piégeage de radical libre ABTS	47
II.4.2.3 Capacité antioxydante totale (CAT)	48
II.5 EVALUATION IN VITRO, IN VIVO ET IN SILICO DE LA CYTOXICITE DES AGCLNPs BIOSYNTHETISEES	48
II.5.1 Test de viabilité de la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	49
II.5.2 Test de létalité sur <i>Artemia salina</i> (toxicité aiguë).....	49
II.5.3 Prédictions de toxicité	50

Chapitre III : Bactéries multirésistantes dans la région d'Ouargla

III.1 ETUDE RETROSPECTIVE SUR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES.....	53
III.1.1 Répartition des bactéries multirésistantes selon le sexe	53
III.1.2 Répartition des bactéries multirésistantes selon les services	54
III.1.3 Répartition des bactéries multirésistantes selon l'échantillon pathologique	55
III.1.4 Profils de résistance des bactéries multirésistantes à divers antibiotiques.....	57
III.2 BACTERIES PATHOGENE COLLECTEES	61
III.2.1 Identification des bactéries collectés.....	61
III.2.1.1 Identification phénotypique.....	61
III.2.1.2 Identification biochimique des isolats bactériens par VITEK®2	62
III.2.2 Profils de sensibilité aux antibiotiques.....	66

Chapitre IV : Biosynthèse et caractérisation des nanoparticules⁶⁰

IV.1 MOLECULES BIOACTIVES DU SURNAGEANT EXTRACELLULAIRE DU <i>STREPTOCOCCUS</i> SP. 77	
--	--

IV.1.1 Chromatographie liquide ultra-pure couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (UPLC-ESI-MS/MS)	77
IV.2 CARACTERISTIQUES DES AGCLNPs BIOSYNTHETISE	79
IV.2.1 Caractéristiques optiques	79
IV.2.1.1 Propriétés optiques (UV-Vis).....	79
IV.2.1.2 Analyse par spectroscopie IR-TF.....	81
IV.2.2 Structure et composition cristallines.....	82
IV.2.3 Analyse morphologique et élémentaire	85
IV.2.4 Distribution hydrodynamique et la stabilité des AgCLNPs.....	86
IV.3 MECANISME DE BIOSYNTHESE DES AGCLNPs PAR LE SURNAGEANT DE STREPTOCOCCUS SP.....	87
Chapitre V : Potentiels biologiques des nanoparticules biosynthétisé et leur toxicité	
V.1 EFFETS IN VITRO ET IN SILICO DES AGCLNPs BIOSYNTHETISEES CONTRE LES BACTERIES MULTIRESISTANTES	90
V.1.1 Zones d'inhibition	90
V.1.2 Concentration minimale inhibitrice et bactéricide	93
V.1.3 Amarage moléculaire des AgCLNPs aux niveaux des sites actifs des BMR.....	95
V.1.4 Mécanismes antibactériens des AgCLNPs biosynthétisées	101
V.2 ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES AGCLNPs BIOSYNTHETISEES	102
V.2.1 Test de piégeage de radical libre DPPH.....	102
V.2.2 Test de piégeage de radical libre ABTS.....	104
V.2.3 Activité antioxydante totale	105
V.3 CYTOTOXICITE IN VITRO, IN VIVO ET IN SILICO DES AGCLNPs BIOSYNTHETISEES	106
V.3.1 Viabilité de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	107
V.3.2 Bio-essai de la létalité sur <i>Artemia salina</i> (toxicité aiguë).....	108
V.3.3 Prédiction de la toxicité.....	111
Conclusion.....	115
Liste des références	119
Résumés	158
Liste des annexes.....	162
Publications	184

Liste des abréviations

µm :	Micromètre
ODEC	Base de decarboxylase
5KG	5-keto-d-gluconate
A.abd :	Abcès abdominal
A.app :	Abcès appendiculaire
ABTS :	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
ADO :	Adonitol
Ag :	Argent
AGAL	Alpha-galactosidase
AgClNPs :	Nanoparticules de chlorure d'argent
AGLTp :	Glutamyl Arylamidase pNA
AGLU	Alpha-glucosidase
AgNO ₃ :	Nitrate d'argent
AMC :	Amoxicilline + acide clavulanique
AMK	Amikacine
AMP :	Ampicilline
APPA :	Ala-phe-pro-arylamidase
AST :	Sensibilité aux antibiotiques
BAlap	Beta-alanine arylamidase pna
BGAL :	Beta-galactosidase
BGLU :	Beta-glucosidase
BGUR	Beta-glucuronidase
BL	Bactéries lactiques
BLSE :	bêta-lactamases à spectre étendu
BMH :	Bouillon muller hinton

BNAG :	Beta-n-acetyl-glucosaminidase
BXYL	Beta-xylosidase
CAT :	Capacité antioxydante totale
CAZ	Céftazidime
CAZ :	Ceftazidime
CHL	Chloramphénicol
CIP :	Ciprofloxacine
CIT	Citrate (sodium)
Cl :	Chlorure
CLN :	Clindamycine
CLSI :	Institut des normes cliniques et de laboratoire
CMB :	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMT	Coumatate
COL	Colistine
CTX	Céfotaxime
CZO	Céfazoline
D :	Taille des particules cristallines
dCEL :	D-cellobiose
dGLU :	D-glucose
DLS :	Diffusion dynamique de la lumière
dMAL :	D-maltose
dMAN :	D-mannitol
dMNE	D-mannose
DO :	Densité optique
DPPH :	2-diphényl-1-picrylhydrazyl
DRX :	Diffraction des rayons X
dSOR	D-sorbitol
dTAG	D-tagatose

dTRE	D-trehalose
EAA/ mg :	Équivalent acide ascorbique/ milligramme
ECBU :	Examen cyto bactériologique urinaire
ELLM	Ellman
ERT	Ertapénème
ERY :	Erythromycine
FEP	Céfépime
FOS	Fosfomycine
FOX	Céfoxitine
FWHM	Largeur totale à mi-hauteur
GEN	Gentamicine
GGAA	Glu-gly-arg-arylamidase
GGT :	Gamma-glutamyl-transferase
GlyA	Glycine arylamidase
GN :	Gram négatif
GP :	Gram positif
H ₂ S :	Production de H ₂ S
hkl	Miller indices
I	Intermédiaire
IHISa	Assimilation de la l-histidine
IIARL :	L-arabitol
ILATa	Assimilation du l-lactate
ILATk	Alcalinisation du l-lactate
IMLTa	Assimilation du l-malate
IPM	Imipénème
IR-TF :	Infrarouge à transformée de fourier
JCPDS :	Comité mixte sur les normes de diffraction des poudres
k :	Facteur de correction
KAN :	Kanamycine

keV :	Kilo électronvolt
LDC :	Lysine decarboxylase
LIP :	Lipase
LVX :	Levofloxacin
MEB-EDX :	Microscope électronique à balayage couplé aux rayons X à dispersion d'énergie
MER :	Méropénème
MH :	Mueller hinton
mm :	Millimètre
MNT :	Malonate
MRS :	Man, rogosa et sharpe
mV :	millivolt
NaCl :	Chloride sodium
NAGA	Beta-N-ac2tyl-galactosaminidase
NIT :	Furane
nm :	Nanomètre
NPs	Nanoparticules
Θ :	Angle de diffraction
O129R	Resistance O/129 (comp. vibrio.)
ODC	Ornithine decarboxylase
OFF :	Fermentation / glucose
OMS :	Organisation mondiale de la santé
P.int :	Plaie interfessières
P.po :	Plaie postopératoire
PDB :	Protein data bank
PDI :	Indice de polydispersité
pH :	hydrogène puissant
PHOS	Phosphatase
PIP	Pipéracilline
PLE :	Palatinose

ppm :	Partie par million
ProA	L-proline arylamidase
R :	Résistant
REF :	Référence
ROS :	Espèces réactives d'oxygène
rpm :	Rotation par minute
S :	Sensible
SAC :	Saccharose/sucrose
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
SUCT :	Alcalinisation du succinate
SXT :	Triméthoprim + sulfamethoxazole
TCC	Ticarcilline + acide clavulanique
TIC	Ticarcilline
TOB :	Tobramycine
TyrA :	Tyrosine-ARYLAMIDASE
TZP :	Pipéracilline/tazobactam
UFC/ml	Unités formant de colonies par millilitre
UPLC-ESI-MS/MS	Chromatographie liquide ultra-pure couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray
URE :	Urease
UV-vis :	Ultraviolet-visible
v/v :	Volume/volume
YPD :	Yeast extract peptone dextrose (milieu de culture)
β :	Largeur angulaire médiane (FWHM)
θ :	Angle de diffraction du pic principal
λ :	Longueur d'onde incidente des rayons X
λ_{max} :	Maximum d'absorption dans l'UV/Vis

Liste des figures

Figure 1 : Les actions antibactériennes multi-cibles de diverses nanoparticules métalliques pourraient être efficaces dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques	19
Figure 2: Protocole de production des molécules bioactives par <i>Streptococcus</i> sp.	40
Figure 3 : Protocole de biosynthèse des AgClNPs par le surnageant de <i>Streptococcus</i> sp. ...	42
Figure 4 : Prévalence des BMR selon le sexe.	53
Figure 5: Profils de sensibilité et de résistance des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) (A), <i>Escherichia coli</i> (B), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (C), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (D), <i>Acinetobacter</i> sp. (E) et <i>Staphylococcus aureus</i> (F)(amoxicilline + acide clavulanique (AMC); ampicilline (AMP); cefotaxime (CTX); ceftazidime (CAZ); imipenème (IPM); piperacilline (PIP); ticarcilline (TIC); ticarcilline + acide clavulanique (TCC); amikacine (AMK); gentamicine (GEN); chloramphénicol (CHL); colistine (COL); triméthoprim + sulfaméthoxazole (SXT); ciprofloxacine (CIP); lévofloxacine (LVX); fosfomycine (FOS); céfazoline (CZO); clindamycine (CLN); kanamycine (KAN); érythromycine (ERY); tobramycine (TOB)).	58
Figure 6: Prévalence des bactéries multirésistantes collectées.	72
Figure 7: Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques.....	73
Figure 8: Chromatogramme UPLC-ESI-MS-MS obtenu par l'analyse de surnageant de <i>Streptococcus</i> sp.	77
Figure 9: Les propriétés optiques des AgClNPs, (A) le spectre UV-Vis d'AgNO ₃ et d'AgClNPs, (B) et (C) les transitions d'énergie de bande interdite directe et indirecte respectivement, (D) l'énergie d'Urbach.	80
Figure 10: (A) Spectres FT-IR des AgClNPs biosynthétisées et du surnageant de <i>Streptococcus</i> sp. ; (B) et (C) Plaque de vues agrandies des AgClNPs biosynthétisées (800–400 cm ⁻¹) et du surnageant (1500–400 cm ⁻¹), respectivement.	82
Figure 11: (A) Diagrammes de diffraction des rayons X et (B) histogramme de distribution granulométrique des AgClNPs biosynthétisées.	83
Figure 12: (A) Image FE-MEM, (B) EDX et (C) Histogramme de distribution granulométrique des AgClNPs biosynthétisées.....	85
Figure 13: (A) distribution hydrodynamique, (B) potentiel zêta des AgClNPs biosynthétisées.	86
Figure 14: Présentation schématique d'un mécanisme possible de biosynthèse des AgClNPs à partir du surnageant de <i>Streptococcus</i> sp.	87

Figure 15: Zones d’inhibition des AgClNPs biosynthétisées à différentes concentrations contre les bactéries multirésistantes et les souches de référence.....	91
Figure 16: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses AgClNPs dans les sites actifs prédits d' <i>Escherichia coli</i> (PDB ID : 9CD2), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).....	96
Figure 17: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses AgClNP dans les sites actifs prédits de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PDB ID : 8YZ3), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).....	97
Figure 18: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses AgClNPs dans les sites actifs prédits de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (PDB ID : 9BD4), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).....	98
Figure 19: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses d'AgClNPs dans les sites actifs prédits de <i>Klebsiella aerogenes</i> (PDB ID : 9DUG), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).....	99
Figure 20: Mécanisme antibactériens des AgClNPs biosynthétisées.	101
Figure 21: Activité de piégeage des radicaux DPPH Valeurs dose-dépendantes (A) et CI50 (B) des AgClNPs et de l'acide ascorbique.	102
Figure 22: Schéma du mécanisme de réduction le radical libre DPPH par les AgClNPs biosynthétisées par le surnageant extracellulaire de <i>Streptococcus</i> sp.....	104
Figure 23: Activité de piégeage des radicaux ABTS Valeurs dose-dépendantes (A) et CI50 (B) des AgClNPs et de l'acide ascorbique.	105
Figure 24: Schéma du mécanisme de réduction le radical ABTS par les AgClNPs biosynthétisées par le surnageant extracellulaire de <i>Streptococcus</i> sp.....	105
Figure 25: Capacité antioxydante totale des AgClNPs biosynthétisées.....	106
Figure 26: Pourcentage de viabilité et de mortalité de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> après incubation pendant 48 h dans des AgClNPs.	107
Figure 27: Image de microscopie à différents moments d' <i>Artemia salina</i> exposée aux AgClNPs, contrôles négatifs et positifs.	110
Figure 28: Prédiction de la toxicité chez l’homme pour les AgClNPs.	112

Liste des tableaux

Tableau 1: Stratégies de lutte contre les bactéries résistantes aux médicaments.....	15
Tableau 2: Taille et efficacité antimicrobienne de différentes nanoparticules métalliques contre les bactéries résistantes aux antibiotiques.	17
Tableau 3: Taille des nanoparticules biosynthétisées par différentes ressources biologiques.	21
Tableau 4 : les dimensions des cases de grille et des centres de grille spécifiés des sites actif.	47
Tableau 5: Prévalence des BMR selon le service.	54
Tableau 6: Taux des bactéries multirésistantes dans différents échantillons pathologiques recueillis au niveau de l'hipotal Med Boudiaf.....	56
Tableau 7: Echantillon, site et date de prélèvement des bactéries pathogènes collectées.	61
Tableau 8: Identification biochimique des isolats collectés par VITEK®2	63
Tableau 9: Profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries collectées.....	67
Tableau 10: Pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques testées	69
Tableau 11: Caractéristiques phénotypiques des bactéries collectées	71
Tableau 12: Résultats de l'analyse UPLC-ESI-MS/MS de surnageant extracellulaire de la souche Streptococcus sp.....	78
Tableau 13: Valeurs 2θ et largeur totale à mi-hauteur des plans cristallins des AgClNPs....	84
Tableau 14: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des AgClNPs contre les bactéries résistantes aux multiples antibiotiques et de référence.	94
Tableau 15: Effets cytotoxiques des AgClNPs sur les larves d' <i>Artemia salina</i> au cours du temps.	109
Tableau 16: Profils de toxicité spécifiques à chaque organe prévus pour les AgClNPs biosynthétisées	112

Introduction

L'une des préoccupations sanitaires mondiales les plus importantes est l'émergence et la propagation rapide d'agents pathogènes résistants aux médicaments [1], qui ont développé de nouveaux mécanismes de résistance, conduisant à une résistance aux antimicrobiens [2][3].

L'émergence de bactéries multirésistantes aux médicaments est due à plusieurs facteurs, notamment l'utilisation excessive et inappropriée d'antibiotiques [4], a mauvaise gestion des infections, a l'échange de gènes de résistance entre souches bactériennes [5][6], et a la surutilisation d'antibiotiques, entre autres facteurs [3]. De plus, ce processus naturel complexe est affecté par plusieurs facteurs, notamment les conditions écologiques, la concentration des communautés microbiennes et l'utilisation généralisée d'antibiotiques dans les établissements de santé [7]. En 2023, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a déclaré que la résistance aux antimicrobiens était responsable de 1,27 million de décès dans le monde en 2019. Elle entraîne une augmentation de la morbidité et de la mortalité [8], des échecs thérapeutiques, des hospitalisations prolongées [9] et des coûts de santé. De plus, les bactéries multirésistantes réduisent progressivement les options thérapeutiques disponibles, compromettant ainsi l'efficacité des traitements antibiotiques [10]. Les infections causées par des bactéries multirésistantes affectent non seulement la santé humaine, mais aussi l'économie [11], elles entraîneraient une perte pouvant atteindre 100 000 milliards de dollars par an [12]. Des efforts considérables ont été consacrés au développement de nouveaux composés ou de nouvelles stratégies pour lutter contre les bactéries multirésistantes.

Face à cette situation perieuse, les nanotechnologies apparaissent comme une alternative prometteuse pour renforcer la lutte contre la dissémination des bactéries multirésistantes. La nanotechnologie est un domaine scientifique impliquant l'ingénierie des matériaux à l'échelle nanométrique (1-100 nm) [13] [14]. Les nanostructures possèdent de nouvelles propriétés physicochimiques, électrochimiques et biologiques [15], telles que la grande surface spécifique et la présence de fractions biochimiques à leur surface, des charges de surface spécifiques, une forte réactivité chimique et la capacité à pénétrer les barrières cellulaires bactériennes [16].

Différentes approches mécaniques, physiques et/ou chimiques permettent de synthétiser des nanoparticules [17]. Cependant, les méthodes conventionnelles font souvent appel à des produits chimiques toxiques, non biodégradables et coûteux comme agents réducteurs, stabilisants et coiffants. Ces substances ont des effets néfastes sur l'environnement et les systèmes biologiques [18] [19].

La bio-nanotechnologie a été proposée comme une alternative rentable et présente de nombreux avantages, notamment une production plus rapide, une meilleure reproductibilité, une biodégradabilité, une stabilité supérieure des matériaux produits, une biocompatibilité améliorée et l'absence de réactifs chimiques supplémentaires [20]. Cette méthode repose sur l'utilisation de biomolécules issues d'organismes vivants [21] [22], notamment de bactéries [23], de plantes [24], d'algues [25], de levures [26], de champignons [27] et de cyanobactéries, capables de survivre dans des conditions extrêmes [28].

La biosynthèse microbienne de nanoparticules suscite un intérêt croissant en raison de l'intersection entre la nanotechnologie et la biotechnologie microbienne [29]. Les micro-organismes peuvent biosynthétiser des nanoparticules de deux manières : intracellulaire et/ou extracellulaire [18]. La biosynthèse extracellulaire est plus avantageuse que la biosynthèse intracellulaire car cette dernière nécessite des méthodes de lyse cellulaire spécifiques [30], tandis que la biosynthèse extracellulaire est moins coûteuse et plus simple [31]. Pour cela, la recherche de souche bactériennes bénéfiques constitue une étape clé dans le développement de méthodes biologiques pour la production de nanoparticules, offrant une alternative écologique aux procédés chimiques traditionnels.

Le lait de chamelle et ses dérivés sont une source importante de bactéries lactiques [32], telles que *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., *Enterococcus* sp. et *Streptococcus* sp. [33] [34]. Ces bactéries peuvent produire une large gamme de composés bioactifs, notamment des polyphénols [35], des peptides [36], des acides organiques [37], des polysaccharides [38] [39] et des protéines [40]. Ces produits offrent des avantages particuliers qui en font des éléments clés d'une biosynthèse respectueuse de l'environnement de nanoparticules.

Les nanoparticules de chlorure d'argent (AgClNPs) ont démontré un fort potentiel antibactérien contre des bactéries pathogènes d'origines diverses, notamment médicales [41] et alimentaires, ainsi que de fortes propriétés de piégeage des radicaux libres [42], ce qui les rend applicables dans de nombreux domaines.

Afin d'empêcher la propagation des souches résistantes aux antibiotiques, l'OMS a déclaré en 2021, la nécessité d'une action immédiate dans de multiples secteurs afin d'en étudier les causes et de trouver des solutions appropriées pour éviter de compromettre les objectifs de développement durable. Étant donné que les établissements de santé génèrent quotidiennement d'importantes quantités de données complexes, des études rétrospectives en milieu hospitalier sont essentielles. En effet, une revue de la littérature montre que la majorité des études

rétrospectives sur les bactéries multirésistantes dans les établissements de santé sont concentrées sur un seul type de produit pathologique ou une bactérie multirésistante.

En passant en revue les études menées dans ce sens, aucune étude n'a rapporté jusqu'à présent l'utilisation d'un extrait extracellulaire de bactéries lactiques de sém de chamelle comme agent réducteur et stabilisant dans la biosynthèse de nanoparticules de chlorure d'argent. Cette méthode est considérée comme peu coûteuse et sûre pour l'opérateur et l'environnement, car elle utilise une bactérie probiotique bénéfique pour la santé humaine et ne fait pas appel à l'utilisation de réactifs dangereux. Ainsi, aucune étude antérieure n'a exploré l'effet des nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées sur des bactéries multirésistantes aux antibiotiques via deux approches *in vitro* et *in silico*, ainsi que, l'étude de la cytotoxicité et la biocompatibilité par des approches *in vitro*, *in vivo* et *in silico*.

Ce manque de données scientifiques souligne la nouveauté et la pertinence de notre travail, qui adopte une approche combinée, intégrant une étude rétrospective afin de déterminer la distribution et les taux de résistance aux antibiotiques des bactéries isolées de divers services et produits pathologiques de l'Hôpital Public de la région du sud algérien (Ouargla) en 2023, dans le but d'explorer des solutions potentielles à ce problème de santé publique mondial.

Ainsi que, l'étude et l'évaluation d'une nouvelle application de la biosynthèse extracellulaire de nanoparticules de chlorure d'argent par *Streptococcus* sp. isolé de sém de chamelle, un produit alimentaire fermenté traditionnel du sud algérien, et l'évaluation de leur activité antibactérienne contre des bactéries multirésistantes à l'aide d'approches *in vitro* (diffusion sur disque, concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)) et *in silico* pour élucider leurs mécanismes d'action moléculaires. De plus, l'étude de la biosécurité et la compatibilité des AgClNPs biosynthétisés par trois approches *in vitro*, *in vivo* et *in silico*.

Une telle approche intégrée représente une avancée significative dans le domaine de la nano-biotechnologie appliquée à la lutte contre les pathogènes multirésistants aux antibiotiques. Afin de proposer des solutions innovantes aux problèmes liés aux infections résistantes aux traitements disponibles, nous abordons également l'activité antioxydante des nanoparticules produites par plusieurs tests.

Cette thèse comporte cinq chapitres distincts :

Le premier chapitre présente une revue bibliographique explorant des matériaux et procédés innovants, structuré en trois parties interdépendantes. Il introduit les bactéries multirésistantes comme risque mondiale, se concentre ensuite sur la nanotechnologie et les

nanoparticules comme solution innovante contre les bactéries multirésistantes, et enfin, explore les bactéries lactiques comme des souches probiotiques produisant des molécules bioactives utilisées comme des agents réducteurs et stabilisantes dans la biosynthèse des nanoparticules.

Le deuxième chapitre détaille les matériaux et les méthodes expérimentales mis en œuvre dans cette étude. Il expose initialement l'étude rétrospective sur les bactéries multirésistantes à l'hôpital Mohamed Boudhiaf Ouargla, l'identification et l'antibiogramme des bactéries collectées, Ainsi que, la biosynthèse des nanoparticules de chlorures d'argent par une bactérie lactique *Streptococcus* sp. et leur caractérisation. Au terme de cette recherche le potentiel biologique des nanoparticules de chlorures d'argent biosynthétisée et leur toxicité a été abordé.

Le troisième chapitre expose et discute les résultats obtenus lors de l'étude rétrospective sur les bactéries multirésistantes à l'hôpital Mohamed Boudhiaf Ouargla pendant l'année 2023.

Le quatrième chapitre expose et discute les résultats obtenus lors de la biosynthèse et la caractérisation des nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées extracellulairement par la souche lactique *Streptococcus* sp.

Le cinquième chapitre expose et discute les résultats de l'effet des nanoparticules de chlorure d'argent contre les bactéries multirésistantes par des approches *in vitro* et *in silico*. De plus les résultats de la cytotoxicité de ces nanoparticules par trois approches *in vitro*, *in vivo* et *in silico*.

Enfin, une conclusion générale synthétise les résultats majeurs suivie de perspectives achève cette étude.

Partie I

Théorique

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Ce chapitre présente le cadre théorique de l'étude en synthétisant les connaissances scientifiques relatives au sujet, afin de situer la recherche dans son contexte, d'identifier les avancées et les limites des travaux antérieurs, et de justifier l'intérêt de l'étude. Il est organisé en trois parties : les bactéries multirésistantes, les nanoparticules et la nanotechnologie, ainsi que les bactéries lactiques.

I.1. Les antibiotiques & Bactéries multirésistantes

I.1.1. Définition des antibiotiques

Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui détruit ou bloque la croissance de bactéries. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique. Un antibiotique peut être à la fois bactériostatique et bactéricide, tout dépendant de sa dose [43].

I.1.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon les critères suivants :

A. Origine

Les antibiotiques d'origine naturels : sont synthétisés par des microorganismes procaryotes ou eucaryotes présents dans l'environnement, tels que les tétracyclines, les bêta-lactames, les oligosaccharides, les aminosides, les macrolides, la rifamycine, les polypeptides, les glycopeptides, les fosfomycines, la novabiorine et l'acide fusidique.

Les antibiotiques d'origine synthétique : sont produits soit par synthèse chimique ou semi synthétique telles que les sulfonamides, les quinolones etc [44].

B. Spectre d'activités

La gamme d'efficacité d'un antibiotique englobe toutes les bactéries qui y sont généralement sensibles, ce qui permet son application stratégique en milieu clinique. L'étendue de son spectre peut varier en fonction des divers degrés d'activité potentielle de l'antibiotique contre différentes souches bactériennes. Sa portée plus ou moins étroite, plus ou moins large [45].

C. Structures chimique

Les structures chimiques des antibiotiques sont très diverses et constituent la base de la classification des antibiotiques en familles. Par exemple, les macrolides ont un noyau lactone au centre et les beta-lactamines ont un cycle beta-lactame [45].

D. Types d'activités des antibiotiques

Les antibiotiques bactéricides « tuent » les bactéries, les antibiotiques bactériostatiques « empêchent la croissance » des bactéries [46].

E. Mode d'action

Il existe actuellement une très large gamme d'antibiotiques avec différents mécanismes d'action selon leur cible au sein de la cellule bactérienne. La plupart des antibiotiques empêchent la croissance des bactéries en les détruisant ou en inhibant la synthèse de leurs parois cellulaires et de leur matériel génétique (ADN ou ARN). Certains antibiotiques peuvent également agir sur la structure des membranes cellulaires ou bloquer certains processus métaboliques, comme la synthèse des folates [47].

I.1.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques ciblent principalement la biochimie et la physiologie des cellules microbiennes afin de réduire leur croissance ou de les tuer. Certains antibiotiques détruisent les parois ou les membranes cellulaires des bactéries en dissolvant les composants beta-lactame et glycopeptidique, tandis que d'autres ciblent la machinerie de synthèse protéique en se liant aux ribosomes. Parmi ces antibiotiques ciblant la paroi cellulaire, on trouve les aminoglycosides, la tétracycline, le linézolide, le chloramphénicol et les macrolides. Les autres antibiotiques ciblant la machinerie cellulaire et interférant avec la synthèse des acides nucléiques comprennent la rifampicine et les fluoroquinolones. Les antibiotiques restants interfèrent avec les voies métaboliques et détruisent la matrice membranaire, notamment les analogues de l'acide folique, la daptomycine, les polymyxines et les sulfamides [48].

I.1.4 Résistance aux antibiotiques & Bactéries multirésistantes

Les premiers cas de résistance ont été signalés dès l'introduction des sulfamides en 1930 ; ils laissaient présager l'apparition de résistances dans l'environnement naturel à l'antibiotique, sans pour autant confirmer l'existence de pathogènes résistants mortels. Conséquence de l'activité humaine, l'utilisation de fortes concentrations d'antibiotiques, a entraîné une altération significative de leur efficacité intrinsèque et une prolifération rapide de bactéries résistantes [48].

La résistance aux antibiotiques est un phénomène dans lequel un médicament ne parvient pas à inhiber efficacement la croissance bactérienne. D'un autre côté, la capacité des pathogènes à survivre à l'exposition et à l'administration d'antibiotiques susceptibles de les tuer ou de limiter leur prolifération est appelée résistance aux antibiotiques [49]. La résistance aux

antibiotiques naît d'un processus de sélection naturelle, mais une utilisation irresponsable augmente la tendance au développement de micro-organismes résistants [50].

I.1.4.1 Définition des bactéries multirésistantes

Les bactéries multirésistantes (BMR) sont des organismes présentant des résistances multiples par rapport au phénotype sauvage de leurs espèces respectives. Cela suggère que la classification d'une souche particulière en tant que souche BMR dépend du développement de mécanismes de résistance. Ces souches présentent généralement une convergence de divers mécanismes de résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques [51].

I.1.4.2 Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques

Les bactéries développent une résistance aux antibiotiques principalement selon trois mécanismes : intrinsèque, acquis et phénotypique [52].

La résistance acquise résulte de mutations génétiques ou de l'acquisition de nouveaux gènes de résistance. Quant à la résistance phénotypique, elle correspond à une capacité temporaire des bactéries à tolérer les antibiotiques grâce à des modifications de l'expression génique ou protéique induites par des facteurs environnementaux [53]. De plus, les bactéries développent souvent une résistance aux antibiotiques par divers mécanismes, notamment l'inactivation enzymatique des médicaments, la modification des cibles ou la réduction de la pénétration des antibiotiques dans la cellule bactérienne [52].

Perméabilité altérée : Des modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne peuvent influencer la façon dont les antibiotiques pénètrent dans la cellule. Une perméabilité réduite peut diminuer l'absorption de l'antibiotique et donc son efficacité. Exemple : Les bactéries Gram négatif, telles que *Escherichia coli*, peuvent développer une résistance aux tétracyclines en réduisant la perméabilité de leur membrane externe, limitant ainsi l'entrée de l'antibiotique dans la cellule [48].

Pompes d'efflux : Les cellules bactériennes peuvent utiliser des pompes d'efflux, des protéines membranaires, pour expulser activement les antibiotiques de la cellule. Cela réduit la concentration intracellulaire de l'antibiotique, le rendant moins efficace. Par exemple, *Pseudomonas aeruginosa*, un pathogène opportuniste, possède des pompes d'efflux comme MexAB-OprM, capables d'expulser des antibiotiques tels que les fluoroquinolones, les tétracyclines et les aminoglycosides. Ce mécanisme d'efflux contribue à la résistance de la bactérie à plusieurs classes de médicaments [48].

Voies métaboliques alternatives : Certaines bactéries peuvent contourner les effets des antibiotiques en utilisant des voies métaboliques alternatives. Par exemple, au lieu d'utiliser la dihydrofolate réductase ciblée par le triméthoprim, les bactéries peuvent utiliser une autre enzyme, rendant ainsi l'antibiotique inefficace [48].

Inactivation enzymatique : Certaines bactéries produisent des enzymes capables de modifier ou de dégrader chimiquement les antibiotiques. Par exemple, les bêta-lactamases peuvent décomposer les bêta-lactamines comme la pénicilline et les céphalosporines. L'antibiotique est ainsi inactivé avant de pouvoir exercer son action antimicrobienne [48]

Mutations génétiques : Les mutations génétiques peuvent survenir par cinq mécanismes : substitution, délétion, addition, inversion et duplication. Par exemple, une résistance spontanée aux fluoroquinolones comme la ciprofloxacine et la norfloxacine peut se développer suite à des mutations des gènes codant pour l'ADN gyrase, *gyrA* et *gyrB* [54].

Un autre mécanisme de résistance, probablement le plus important, est le transfert de plasmides ; il peut transmettre à l'organisme hôte et à sa descendance des informations génétiques supplémentaires conférant une résistance aux antibiotiques. Les antibiotiques contribuent à ce phénomène en provoquant la transmission de gènes de résistance entre les micro-organismes et en exerçant une pression de sélection favorisant le développement de bactéries résistantes. D'autres souches résistantes aux antibiotiques transfèrent les gènes codant pour la résistance à des antibiotiques spécifiques, qui évoluent par mutation [55].

De plus, les mutations peuvent également affecter les sites cibles des antibiotiques, tels que les enzymes avec lesquelles l'antibiotique interfère ou les ribosomes bactériens auxquels il se lie [56]. Les mutations de ces sites cibles peuvent altérer la structure du site de liaison, réduisant ainsi l'affinité de l'antibiotique pour sa cible et diminuant son efficacité. De ce fait, la bactérie devient moins sensible à l'action de l'antibiotique, ce qui induit une résistance. De plus, les mutations peuvent également activer les pompes d'efflux, des protéines spécialisées qui expulsent activement les antibiotiques de la cellule bactérienne avant qu'ils ne puissent agir.

Transfert horizontal de gènes (THG): Le transfert horizontal de gènes joue un rôle majeur dans la propagation et le maintien de la résistance bactérienne. Un exemple notable est la diffusion du gène *blaNDM-1* chez les entérobactéries, conférant une résistance aux carbapénèmes grâce à la production d'une carbapénémase capable d'inactiver ces antibiotiques[57].

Formation de biofilms : les bactéries induisent des propriétés de résistance par la formation de biofilms. Ces biofilms sont des polymères fortement hydratés composés de polysaccharides, de protéines et d'ADN, collectivement appelés substances polymériques extracellulaires [52]. La formation de biofilms permet aux bactéries d'adhérer aux surfaces et de se protéger des antibiotiques et du système immunitaire. Au sein d'un biofilm, les bactéries peuvent communiquer par un processus appelé quorum sensing, ce qui leur permet de coordonner leurs mécanismes de résistance. Cela peut conduire à une tolérance aux antibiotiques plus élevée que celle des cellules planctoniques (libres) individuelles. La matrice protectrice du biofilm peut entraver la pénétration des antibiotiques, rendant difficile l'accès des médicaments aux bactéries et leur destruction. La formation de biofilms est particulièrement préoccupante en milieu clinique, car elle entrave le traitement antibiotique des infections en raison de l'acquisition facilitée de gènes de résistance aux antibiotiques [58].

I.1.4.3 Espèces bactériennes multirésistantes

Parmi les bactéries associées à la résistance aux antibiotiques, un groupe de sept agents pathogènes constitue une menace importante. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a classé les pathogènes suivants comme « ESKAPE » en fonction de leur importance clinique et de leur niveau de résistance : (E : *Enterococcus faecium*, S : *Staphylococcus aureus*, K : *Klebsiella pneumoniae*, A : *Acinetobacter baumannii*, P : *Pseudomonas aeruginosa* et E : *Enterobacteriaceae*). Ainsi que, affirme que les bactéries résistantes constituent le problème de santé publique le plus urgent et constituent le principal objectif de notre recherche.

Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (ESBLE) : Les entérobactéries constituent une grande famille de bacilles à Gram-négatif regroupés en plusieurs genres et espèces. Toutes ces bactéries ont en commun une localisation préférentielle dans le système digestif [59].

Ces bactéries jouent un rôle important en pathologie humaine et représentent plus de 80 % des germes isolés dans les laboratoires de biologie médicale. La fréquence et la gravité des infections communautaires ou nosocomiales que ces bactéries peuvent provoquer reflètent les difficultés de prise en charge, liées principalement à leur résistance aux antibiotiques. Ils sont souvent traités par des beta-lactamines [59].

Depuis une vingtaine d'années, on observe une augmentation de la résistance des bactéries intestinales à ces antibiotiques. Ils peuvent être naturellement résistants (*Klebsiella*

est naturellement résistant à l'ampicilline) ou acquérir cette résistance par des mutations chromosomiques ou par l'acquisition de matériel génétique sous forme de plasmides [60].

La propagation des bactéries entériques productrices de beta-lactamase était principalement associée aux milieux hospitaliers [61]. Les entérobactéries produisent des bêta-lactamases, des enzymes responsables de la destruction des bêta-lactamines [62].

Bactéries produisent des carbapénémases : Les carbapénèmes sont un groupe d'antibiotiques possèdent le spectre d'activité le plus large. Les molécules de cette famille actuellement commercialisées sont : l'imipénème, l'ertapénème, le méropénème et le doripénème ; Ils sont actifs contre la plupart des bacilles à Gram-négatif, notamment les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

La résistance des entérobactéries aux carbapénèmes repose principalement sur deux mécanismes : la production de β -lactamases associée à une diminution de la perméabilité membranaire par altération des porines, et la production de carbapénémases, des enzymes capables d'hydrolyser efficacement les carbapénèmes [63].

***Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes :** Le *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'infections urinaires, respiratoires et cutanées. L'ampleur des infections attribuées à bacille pyocyanique est influencée par l'état de santé général du patient et la virulence particulière de l'espèce qui lui permet d'adhérer, de coloniser, d'infiltrer les tissus et d'induire des dommages en déclenchant des réponses inflammatoires [64]. En plus de la résistance naturelle, *Pseudomonas aeruginosa* se caractérise par une forte capacité à développer une résistance à de nombreux antibiotiques [65].

***Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème :** *Acinetobacter baumannii*, un coccobacille à Gram-négatif non fermentant, est souvent résistant à de nombreux antibiotiques et est la cause la plus fréquente d'infections nosocomiales dans les services accueillant des patients fragiles [66].

La multi-résistance d'*A.baumannii* aux antibiotiques, notamment aux carbapénèmes engendre des possibilités thérapeutiques limitées. La résistance aux carbapénèmes est souvent associée à la production de carbapénémases avec imperméabilité membranaire [67]. L'implication des systèmes de flux naturels ou acquis dans la multirésistance chez *A. baumannii* est de plus en plus étudiée et rapportée [68].

***Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) :** Les Staphylocoques sont des bactéries sphériques aéro-anaérobies facultatives à Gram-positif, ont une très haute résistance dans l'environnement extérieur. *Staphylococcus aureus*, est un staphylocoque à coagulase positive. C'est une bactérie préoccupante en raison de sa capacité à provoquer un large éventail d'infections et sa capacité à s'adapter à différentes conditions environnementales [69].

La résistance à la méthicilline confère généralement une résistance à l'ensemble des β -lactamines et s'accompagne fréquemment d'une résistance à d'autres familles d'antibiotiques, notamment les aminosides, les macrolides, les synergistines et les fluoroquinolones [70].

Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) : Les entérocoques, qui sont des cocci à Gram positif disposés en diplocoques ou en chaînes, sont considérés comme des bactéries commensales couramment présentes dans le tractus gastro-intestinal et la flore génitale féminine. Deux espèces prédominantes sont associées aux maladies infectieuses humaines : *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Malgré leur faible pouvoir pathogène, ces bactéries sont fréquemment impliquées dans des infections nosocomiales [71].

I.1.4.4 Facteurs favorisant la résistance bactérienne

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue suite à des problèmes de dosage, à un manque de pratique clinique appropriée et à une méconnaissance des doses d'antibiotiques nécessaires au traitement des maladies [72]. De ce fait, les signes distinctifs d'infections bactériennes persistent jusqu'à ce qu'une concentration suffisante d'antibiotiques soit atteinte, moment où les symptômes commencent à s'atténuer. L'exposition bactérienne à des doses insuffisantes de ces substances est considérée comme le principal facteur contribuant à l'apparition de pathogènes résistants, et pourrait également être à l'origine du développement bactérien [73]. Par conséquent, les activités humaines favorisent l'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques en milieu clinique, au-delà de la résistance naturelle des bactéries. L'étude et la simulation des habitats microbiens permettent de mieux comprendre les mécanismes de diffusion de cette résistance au sein des communautés bactériennes [74].

I.1.4.5 Implications économiques de la résistance aux antibiotiques

Les implications économiques de la résistance aux antibiotiques sont considérables et multiformes, avec des répercussions importantes sur les coûts des soins de santé, le développement de médicaments et l'économie mondiale. Ces implications constituent des défis

majeurs pour les systèmes de santé, l'industrie pharmaceutique et la société dans son ensemble [9]. Nous examinons ici les aspects économiques de la résistance aux antibiotiques :

Augmentation des coûts des soins de santé : Les infections résistantes nécessitent souvent des hospitalisations plus longues, des traitements complexes et après échec on passe aux céphalosporines 2^{ème} generation couteux. De plus, l'augmentation de la charge financière pesant sur les systèmes de santé peut limiter les ressources disponibles pour d'autres services de santé essentiels [75].

Perte de productivité : Les infections résistantes aux antibiotiques peuvent entraîner des arrêts maladie prolongés, une baisse de la productivité, voire une invalidité ou un décès, engendrant des pertes économiques. Lorsque des personnes sont dans l'incapacité de travailler ou nécessitent des soins médicaux prolongés en raison d'infections résistantes aux antibiotiques, cela affecte non seulement leurs revenus personnels, mais aussi la productivité globale de la main-d'œuvre [76].

Coûts de la recherche et du développement des antibiotiques : L'industrie pharmaceutique est confrontée à des freins financiers à l'investissement dans la recherche et le développement d'antibiotiques, car le marché de ces médicaments est limité [77].

Dynamique du marché : Face aux difficultés rencontrées par les nouveaux antibiotiques pour accéder au marché, les antibiotiques existants peuvent subir des hausses de prix. Les pénuries de médicaments, souvent liées à des problèmes de production et de distribution, peuvent entraîner une augmentation des prix des antibiotiques, impactant à la fois les établissements de santé et les patients [78].

Commerce mondial et production alimentaire : La résistance aux antibiotiques peut avoir des conséquences économiques indirectes en raison de son impact sur le commerce mondial et la production alimentaire. En agriculture, le taux d'usage des antibiotiques en élevage peut entraîner le développement de bactéries résistantes et contribuer à la propagation de cette résistance. Cela peut perturber l'approvisionnement alimentaire, augmenter les coûts de production et potentiellement affecter les prix des denrées alimentaires, impactant ainsi les secteurs agricole et agroalimentaire [79].

Impact économique mondial : La résistance aux antibiotiques est un problème mondial susceptible d'avoir des répercussions économiques internationales. La propagation des souches résistantes au-delà des frontières peut affecter le commerce, le tourisme et les relations

internationales. Les efforts de collaboration visant à résoudre ce problème et à partager les meilleures pratiques peuvent atténuer ces conséquences économiques [80].

I.1.4.6. Dernières stratégies contre les micro-organismes résistants aux médicaments

L'émergence et la propagation des organismes résistants aux antibiotiques constituent un nouveau danger pour la santé publique, nécessitant une action mondiale et une stratégie multidimensionnelle pour s'attaquer aux difficultés fondamentales liées à la réduction de la résistance aux médicaments et tracer la voie à suivre [81].

Les méthodes les plus récentes testées pour lutter contre les bactéries résistantes aux médicaments sont répertoriées dans le tableau 1.

Tableau 1: Stratégies de lutte contre les bactéries résistantes aux médicaments

Stratégie	Description	Exemples	Réf.
Nouveaux antibiotiques	Développement de nouveaux antibiotiques ciblant les BMR.	Teixobactine, Léfamuline, Zoliflodacine, Éravacycline	[82]
Bactériophage thérapie	Utilisation de bactériophages pour cibler et détruire les BMR	Cocktails de phages ciblant les BMR	[83]
Associations thérapies	Utilisation de plusieurs antibiotiques en association pour renforcer et prévenir la résistance	Triméthoprim, Sulfaméthoxazole, associations de bêta-lactamines et d'inhibiteurs de bêta-lactamases.	[84]
Immunomodulation	Stimulation de la réponse immunitaire pour améliorer l'élimination des infections bactériennes	Interférons, interleukines, facteurs de stimulation des colonies, etc.	[85]
Thérapies par anticorps	Développement d'anticorps monoclonaux ou de molécules dérivées d'anticorps ciblant les agents pathogènes bactériens	Bezlotoxumab, altastaph, lysibodies, conjugués anticorps-toxine	[86]
Composés hétérocycliques	Utilisation de composés hétérocycliques comme nouveaux agents antimicrobiens	Thiazole, imidazole, thiazolidinone, oxazole, pyrrole, pyridine, pyrimidine	[87]
Peptides antimicrobiens	Exploration de peptides naturels aux propriétés antimicrobiennes.	LL-37, défensines, magainines, temporines, méliittine.	[88]
Nanotechnologie	Utilisation de nanoparticules pour l'administration de médicaments ou la perturbation des membranes bactériennes.	Réseaux métallo-organiques.	[89]

Nouveaux antibiotiques : Le développement de nouveaux antibiotiques ciblant les bactéries résistantes aux médicaments est un enjeu crucial face à la résistance croissante aux antimicrobiens. Les chercheurs s'efforcent activement de trouver de nouvelles options thérapeutiques pour lutter contre ces pathogènes résistants. Un exemple notable est la teixobactine, un antibiotique révolutionnaire découvert en 2015. La teixobactine cible efficacement un large éventail de bactéries Gram-positives résistantes aux antibiotiques [90]. Un autre antibiotique innovant, la léfamuline, est utilisée pour traiter les pneumonies bactériennes communautaires, notamment les infections causées par *Streptococcus pneumoniae* résistant aux médicaments. Il inhibe la synthèse des protéines bactériennes (en se liant au centre peptidyltransférase du ribosome bactérien 50S, empêchant ainsi la fixation de l'ARN de transfert pour le transfert peptidique), offrant un traitement alternatif dans les cas où une résistance aux anciens antibiotiques est apparue [91].

Bactériophages : Les bactériophages (virus qui infectent les bactéries) produisent des lysines pour dégrader la paroi cellulaire bactérienne, entraînant la mort des bactéries [92]. Les lysines peuvent être efficaces contre un large éventail de bactéries et peuvent être développées relativement rapidement. Elles offrent une réponse potentiellement rapide aux infections bactériennes, en particulier celles causées par des souches résistantes aux antibiotiques [93].

Thérapies combinées : L'utilisation de plusieurs antibiotiques en association est une stratégie prometteuse pour améliorer l'efficacité des traitements et prévenir l'apparition de résistances bactériennes. Cette approche consiste à administrer simultanément deux antibiotiques ou plus, ayant des mécanismes d'action distincts. En ciblant différents aspects de la physiologie bactérienne. Un exemple notable de thérapies combinées est les associations bêta-lactamine/inhibiteur de bêta-lactamase [84].

Les associations bêta-lactamine/inhibiteur de bêta-lactamase associent un antibiotique bêta-lactamine (tel que l'ampicilline, la pipéracilline ou le céfotaxime) à un inhibiteur de bêta-lactamase (comme le sulbactam, l'acide clavulanique ou le tazobactam). L'inhibiteur empêche la dégradation enzymatique de l'antibiotique bêta-lactamine, lui permettant ainsi de rester efficace contre un spectre bactérien plus large, y compris celles produisant des bêta-lactamases. Parmi ces associations, on peut citer l'ampicilline/sulbactam et la pipéracilline/tazobactam, utilisées pour lutter contre diverses infections bactériennes, notamment celles causées par des organismes producteurs de bêta-lactamases [94] [48].

Nanotechnologie : Les nanoparticules constituent une classe prometteuse de nouveaux antimicrobiens aux mécanismes d'action variés et aux nombreux avantages. L'un de leurs principaux mécanismes est l'inhibition microbienne directe : leur petite taille et leur grande surface spécifique leur permettent de perturber physiquement les membranes cellulaires microbiennes. Ceci peut entraîner la lyse cellulaire et l'inactivation des micro-organismes [95].

Les nanoparticules métalliques (NPs) comme le cuivre, l'or, le fer, le platine, le palladium et l'argent, ainsi que les NPs d'oxydes métalliques comme l'oxyde de cobalt, l'oxyde de zinc, l'oxyde d'argent et l'oxyde de cuivre, ont toutes démontré une remarquable efficacité antibactérienne [96][97].

Tableau 2 présente la taille et l'efficacité antibactérienne de différentes nanoparticules métalliques contre les bactéries résistantes aux médicaments.

Tableau 2: Taille et efficacité antimicrobienne de différentes nanoparticules métalliques contre les bactéries résistantes aux antibiotiques.

NPs	D (nm)	BMR	ZI/CMI/CMB	Réf.
Al ₂ O ₃	34,5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CMI : 1600 - 3200 µg/mL	[98]
Ag	33,6	(a) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , (b) <i>Escherichia coli</i> , (c) <i>Klebsiella pneumoniae</i> et (d) <i>Staphylococcus aureus</i>	ZI (a) 11 mm, (b) 10 mm, (c) 13 mm, et (d) 10 mm.	[99]
ZnO	100 ± 30	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant aux médicaments	CMI : 8 - 256 µg/mL	[100]
ZnO	15	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline.	CMI : 156 µg/mL	[101]
ZnO	25	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1.	CMI : 1600 µg/ml	[102]
Au	3 ± 1	(a) <i>Escherichia coli</i> , (b) <i>Staphylococcus aureus</i> et (c) <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline.	CMI: (a) 1, (b) 4 et (c) 128 µg/mL.	[103]

Se	32.5 ± 5.6	(a) <i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méthicilline, (b) <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline, (c) <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la vancomycine et (d) <i>Entérocoques</i> résistants à la vancomycine.	CMI: (a) 20 µg/mL, (b) 80 µg/mL, (c) 320 µg/mL et (d) >320 µg/mL	[104]
Ag	10 - 30	<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 700221 vanA résistant à la vancomycine, <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 12493 résistant à la céfoxitine, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC BAA-2108 résistant à la ceftazidime	MIC : 3,125 - 12,5 µg/mL	[105]
TiO ₂	/	(a) <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline, (b) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , (c) <i>Escherichia coli</i> et (d) <i>Enterococcus faecalis</i>	ZI : (a) 22 ± 3, (b) 17 ± 4, (c) 11 ± 2 et (d) 15 ± 3 mm. CMI : 3,906 - 31,25 µg/mL CMB : 7,812 - 62,5 µg/mL	[106]
Ag	30 - 150	(a) <i>Escherichia coli</i> résistant à la méthicilline, (b) <i>Klebsiella</i> sp. résistant à l'oxacilline, (c) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> résistant à la méthicilline et (d) <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline.	ZI : (a) 19,7, (b) 26,8, (c) 22,9 mm et (d) 24,1 mm CMI et CMB entre 25 - 50 mg/mL	[107]

NPs : nanoparticules ; D : diamètre ; BMR : bactéries multirésistantes ; Al₂O₃ : oxyde d'aluminium ; Ag : argent ; ZnO : oxyde de zinc ; Au : Or ; Se : Sélénium ; TiO₂ : dioxyde de titane ; ZI : zone d'inhibition ; CMI : concentration minimal inhibitrice ; CMB : concentration minimale bactéricide.

Certaines nanoparticules, comme les nanoparticules d'argent, libèrent des ions qui interfèrent avec la réplication de l'ADN microbien et la synthèse protéique [108]. De plus, certaines nanoparticules peuvent générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO) lorsqu'elles sont exposées à la lumière. Ces ERO, notamment l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, possèdent de puissantes propriétés antimicrobiennes qui endommagent les composants microbiens [109]. Les nanoparticules peuvent également inhiber la formation de biofilms, un facteur de virulence crucial chez de nombreux pathogènes. Elles y parviennent en perturbant la communication intercellulaire, en empêchant l'adhérence initiale ou en déstabilisant la matrice du biofilm [110] (Figure.1).

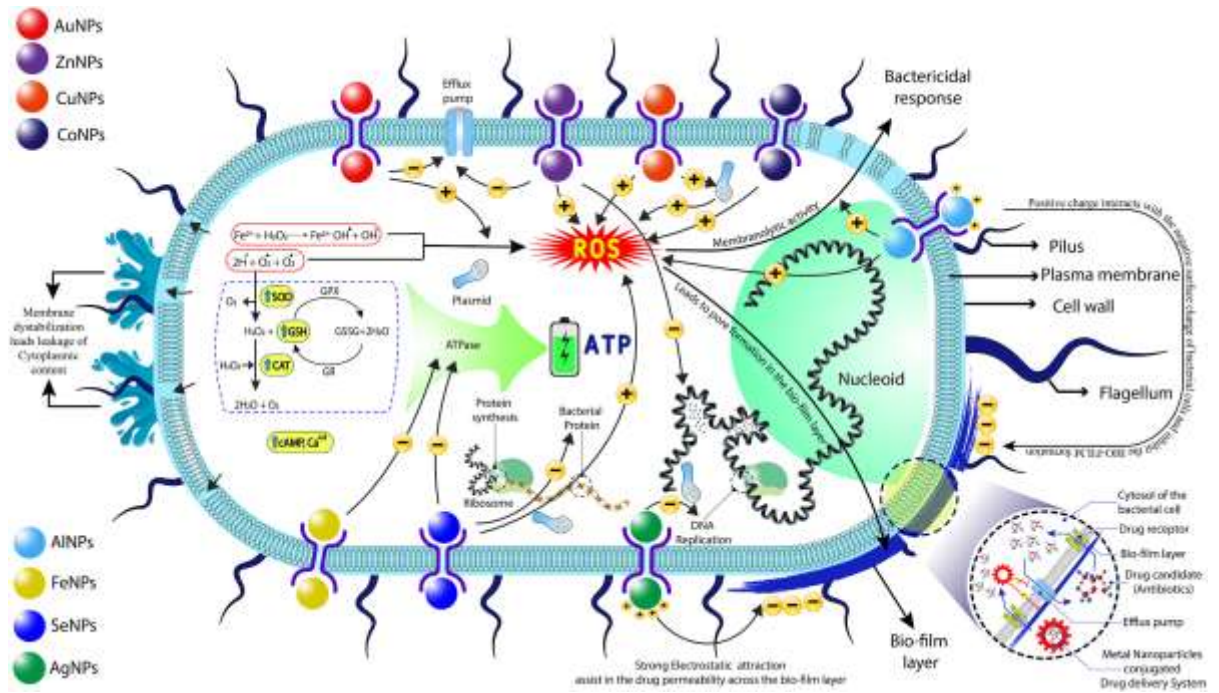


Figure 1 : Les actions antibactériennes multi-cibles de diverses nanoparticules métalliques pourraient être efficaces dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques [52] .

Par ailleurs, les nanoparticules peuvent être conçues pour l'administration de médicaments, permettant l'encapsulation et la libération ciblée d'agents antimicrobiens directement sur le site d'infection. Cela améliore la stabilité et la biodisponibilité des médicaments, et minimise les effets secondaires systémiques, ce qui en fait un outil précieux en antibiothérapie [111].

I.2. Nanoparticules & Nanotechnologie

I.2.1. Définition des nanotechnologies

Les nanotechnologies ont révolutionné le domaine des sciences et de l'ingénierie des matériaux, offrant des solutions novatrices pour une vaste gamme d'applications. Ceci a été principalement rendu possible grâce à divers matériaux nanostructurés présentant des rapports surface/volume très élevés, leur conférant ainsi des propriétés physiques et biochimiques sans précédent [112]. Parmi ceux-ci, les nanoparticules métalliques et d'oxydes métalliques ont suscité un vif intérêt en raison de leurs qualités distinctives et de leurs applications potentielles dans divers secteurs, notamment l'énergie, l'électronique, la théranostique, l'agriculture, l'agroalimentaire, les revêtements et la médecine [113].

La nanotechnologie est une branche qui se concentre sur la conception et la synthèse de matériaux de taille nanométrique destinés à être utilisés dans un large éventail de disciplines, notamment la chimie biologique et synthétique [114].

I.2.2. Définition des nanoparticules

Les nanoparticules métalliques (NPs) sont définies comme des particules métalliques dont les dimensions sont inférieures à 100 nm. Grâce à leur surface spécifique élevée, les NPM présentent des propriétés nettement supérieures à celles du métal massif [115].

Les nanomatériaux ont des propriétés biologiques et physicochimiques particulièrement utiles en fonction de leur taille, de leur morphologie et de leur forme. Ces propriétés les rendent utiles dans un large éventail d'applications, et ils ont été utilisés comme nanomédicaments et l'agriculture, entre autres domaines [114].

I.2.3. Méthodes de synthèse des nanoparticules

Les nanoparticules sont généralement élaborées par de multiples méthodes physiques, chimiques et biologiques.

I.2.3.1 Méthodes physiques

Plusieurs méthodes physiques, telles que la décharge d'arc, le broyage à billes, la pyrolyse à la flamme, l'ablation laser, le mélange en fusion, le dépôt par pulvérisation cathodique, le dépôt en phase vapeur, l'irradiation, la gravure, et la sonication sont utilisées pour la synthèse de nanoparticules métalliques et d'oxydes métalliques monodispersés [116]. Ces méthodes physiques consomment énormément d'énergie et dissipent les radiations [117].

I.2.3.2 Méthodes chimiques

Les méthodes chimiques de synthèse des nanoparticules comprennent l'hydrothermie, la microémulsion, le dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma, le polyol, la pyrolyse, l'électrochimie et le procédé sol-gel. Ces méthodes font appel à des produits chimiques hautement toxiques et dangereux pour la réduction des ions métalliques en nanoparticules correspondantes ainsi que pour leur stabilisation [118].

Cependant, les approches physiques et chimiques existantes, déployées pour la fabrication de diverses NP de métaux, d'oxydes métalliques, de chlorures métalliques et de sulfures métalliques, sont coûteuses et néfastes pour l'environnement en raison de l'utilisation de divers produits chimiques nocifs et destructeurs lors de leur fabrication, ainsi que, associés au coût élevé, à l'exposition aux rayonnements, à la température élevée et à une productivité moindre entraînant de nombreux risques sanitaires et environnementaux [119]. De plus, l'altération de la propriété physico-chimique des nanoparticules pendant la synthèse peut affecter les applications biomédicales souhaitées [116].

Au cours des deux dernières décennies, les chercheurs ont manifesté leur intérêt pour les approches écologiques employées dans la fabrication de NP de métaux, de chlorures métalliques, d'oxydes métalliques et de sulfures métalliques.

I.2.3.3 Méthodes biologique (synthèse verte)

Le développement de cette approche biologique s'impose comme une discipline importante des sciences des matériaux et des nanotechnologies [120]. Ces stratégies de fabrication écologiques exploitent l'utilisation de divers extraits de plantes, d'enzymes, de microbes, de champignons et de déchets de fruits et légumes pour la production de NP [121].

La biosynthèse des NPs constitue un moyen efficace et écologique de synthétiser les NP. Les composés actifs de l'extrait végétal, notamment les terpènes, les alcaloïdes, les phénols et les tanins, agissent comme agents réducteurs. Chez les bactéries et les champignons, les enzymes dépendantes du NADH et du NADPH jouent un rôle crucial en tant qu'agents réducteurs. Le NADH transfère l'enzyme sous l'influence des enzymes dépendantes du NADH et devient un porteur d'électrons. Tous ces composés actifs fournissent des NP coiffantes, responsables de la stabilité. La biosynthèse est une méthode simple et facile d'utilisation des ressources biologiques. Cette méthode semble prometteuse par rapport à la méthode chimique [122]. Cette voie est simple, écologique, biocompatible et facile pour la synthèse de nanoparticules [114].

Le tableau 3 ci-dessous présente le diamètre et les types des nanoparticules biosynthétisées par différentes ressources biologiques.

Tableau 3: Taille des nanoparticules biosynthétisées par différentes ressources biologiques.

	NPs	Espèce	D (nm)	Réf.
Plante	TiO ₂	<i>Ocimum basilicum</i>	50	[123]
		<i>Calotropis gigantean</i>	10 - 52	[124]
		<i>Acanthophyllum laxiusculum</i>	20 - 25	[125]
		<i>Phyllanthus niruri</i>	35	[126]
	Cu	<i>pomegranate peel</i>	47,8	[24]
Bactéries	Ag	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	200	[127]
		<i>Rhodococcus sp.</i>	10 - 30	[128]
		<i>Desmodesmus sp.</i>	10 - 30	[129]

	Au	<i>Tetraselmis kochinensis</i>	26 - 35	[130]
	Bi	<i>Delftia sp.</i>	20 - 120	[131]
	Se	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	75 - 200	[132]
	Cu	<i>Stereum hirsutum</i>	5 – 20	[133]
		<i>Salmonella typhimurium</i>	40 – 60	[134]
		<i>Shewanella loihica</i> PV-4 EET	10 - 16	[135]
	Fe	<i>Alternaria alternata</i>	9	[136]
Champignon	Ag	<i>Calonectria eucalypti</i>	0,84 – 17,06	[115]
	ZnO	<i>Schizophyllum commune</i>	17	[137]
Algue	Ag	<i>Turbinaria conoides</i>	96	[138]
		<i>Porphyra vietnamensis</i>	12	
		<i>Botryococcus braunii</i>	16	

NPs : nanoparticules ; D : diamètre ; TiO₂ : dioxyde de titane; Cu : cuivre ; Ag : argent ; Au : Or ; Bi : ; Se : Sélénium ; Fe : fer ; ZnO : oxyde de zinc.

Cependant, plusieurs aspects pourraient être pris en compte pour la production future de NP à partir des méthodes biologiques signalées.

- (1) Sélection d'espèces végétales, bactériennes et fongiques : pour atteindre la taille spécifique et la pureté maximale des NPs, les chercheurs doivent se concentrer sur les propriétés intrinsèques de l'extrait végétal, le taux de croissance et l'activité enzymatique des bactéries et des champignons. Plus important encore, le mécanisme par lequel des espèces spécifiques de champignons et de bactéries synthétisent les NPs et le point de vue de leur application.
- (2) Sélection de l'état de catalyse fongique et bactérienne : Dans la littérature, nous avons découvert que les bactéries et les champignons possèdent des biocatalyseurs qui agissent comme un agent de coiffage dans la synthèse des NPs. Par conséquent, le surnageant cellulaire pourrait être utilisé pour améliorer la vitesse de réaction et le rendement de production. La plupart des études rapporté que les réactions de réduction sont responsables de la synthèse des NPs, qui utilisent des coenzymes. Ces enzymes peuvent être recyclées dans les cellules ; par conséquent, il pourrait être préférable d'utiliser des cellules entières.

- (3) Extraire et purifier les NPs des champignons et des bactéries : Les méthodes de purification et d'extraction des NPs synthétisées ne sont pas bien étudiées. Il est nécessaire de se concentrer sur un processus méthodologique détaillé d'extraction et de purification. Plusieurs étapes impliquant l'extraction et la purification peuvent utiliser des ondes ultrasonores ou ajouter un détergent pour éliminer la biomasse bactérienne et fongique afin d'acquérir des NPs pures. De plus, les méthodes physicochimiques comprenant le chauffage, la congélation, la décongélation et le choc osmotique peuvent aider à extraire les NPs synthétisées des cellules. Cependant, cela peut interférer avec la structure des NPs, c'est-à-dire la précipitation et l'agrégation.
- (4) Production haut de gamme : une production à l'échelle industrielle peut être réalisée en optimisant les conditions de réaction en laboratoire pour améliorer le rendement en NPs. Les méthodes biologiques peuvent produire des NPs tout en tenant compte du type d'organismes, de leurs propriétés génétiques et héréditaires ainsi que des conditions optimales pour les activités enzymatiques. Les caractéristiques morphologiques peuvent être contrôlées en modifiant les conditions de réaction [122].

I.3. Bactéries lactiques

I.3.1. Histoire des bactéries lactiques

L'humanité a traditionnellement utilisé les bactéries lactiques (BL) à ses propres fins. Des preuves archéologiques fiables situent leur origine il y a environ 10 000 ans. Au cours de cette longue histoire, l'utilisation des BL a considérablement influencé les progrès et les modes de vie au sein de la société humaine [139].

À la fin du XIXe et au début du XXe siècle, alors que les sciences naturelles et l'ingénierie connaissaient un essor considérable et que les sciences microbiennes et de la vie, ainsi que d'autres sciences connexes, se développaient rapidement, la science et la technologie des bactéries lactiques ont connu des progrès sans précédent [140].

Les BL comptent parmi les premiers êtres vivants apparus sur Terre [141]. Étant donné qu'elles possèdent toutes les protéines nécessaires à la respiration et un certain nombre d'enzymes impliquées dans les processus de fermentation, elles semblent bien adaptées aux conditions environnementales aérobies et anaérobies [142]. Ainsi que, elles ont occupé des niches écologiques dans les fruits, les légumes, le fromage, le vin et surtout le lait, qu'elles apprécient pour sa richesse en lactose [143].

I.3.2. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries Gram-positives, non sporulées, anaérobies ou anaérobies facultatives qui jouent un rôle important dans la fermentation des aliments. Elles sont présentes naturellement dans divers environnements, tels que les produits laitiers, la viande, les légumes et le tube digestif humain [144]. Riches en biodiversité, elles revêtent une importance socio-économique considérable et sont intimement liées à l'existence et à la productivité humaines [145]. Les bactéries lactiques tolèrent les faibles niveaux de pH, les fortes concentrations de sel et les traitements thermiques. Ainsi que, sont des anaérobies aéro-tolérants. Elles sont dépourvues de chaînes respiratoires et de catalase [146].

I.3.3. Taxonomie des bactéries lactiques

Une réorganisation taxonomique des bactéries lactiques en 2020 a conduit au reclassement de plus de 300 espèces appartenant à 7 genres et 2 familles dans la famille des *Lactobacillaceae*, qui comprend désormais 23 nouveaux genres incluant des organismes auparavant classés comme espèces de *Lactobacillus*, et 31 genres, dont *Convivina*, *Oenococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Fructobacillus* et *Paralactobacillus* [147]. Depuis 2020, 37 nouvelles espèces ont été décrites. Ces espèces sont toutes compatibles avec les caractéristiques écologiques et métaboliques précédemment proposées pour leur genre respectif [148].

I.3.4. Métabolites des bactéries lactiques

A. Bactériocines

Les bactériocines sont des polypeptides, des protéines ou des complexes protéiques métabolisés par les bactéries possédant des ribosomes et présentant une activité antibiotique. Les bactériocines qui doivent biologiquement sortir de la cellule doivent être sécrétées [149]. Le processus de sécrétion des bactériocines repose sur le système de transport à double séquence guide de glycine. Dans certains cas, cependant, le système de protéines membranaires de transfert (GSP) du mécanisme de sécrétion traite et transporte les bactériocines dépendantes d'un signal. De plus, un système de transporteurs ABC spécifique facilite la sortie de la majorité des bactériocines de type I et de type II de la cellule [146].

Les projets de l'industrie agroalimentaire concernant les futures recherches sur la synthèse des bactériocines mettront l'accent sur les méthodes permettant d'induire la synthèse de bactériocines par les bactéries lactiques en quantité contrôlée, et d'assurer efficacement et durablement leurs rôles dans la conservation des aliments, l'activité antimicrobienne et le maintien de la santé intestinale [150].

B. Vitamines

Les BL peuvent produire diverses vitamines, telles que la riboflavine, le pyridoxal, la vitamine K, l'acide folique, la cobalamine, etc., comme l'ont récemment démontré de nombreuses études [150]. La plupart des souches capables de synthétiser l'acide folique appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*. Les voies de la ptérine et du pABA sont utilisées par les BL dans leurs voies métaboliques de production d'acide folique. Elles ne peuvent synthétiser l'acide folique que lorsque ces deux voies sont actives simultanément [150].

Un autre axe de recherche en ingénierie métabolique concerne l'augmentation de la production de vitamines B (folate et riboflavine [B2]) par les BL. Ces vitamines, produites en grande quantité par de nombreuses BL et bactéries propioniques, sont des cofacteurs essentiels à d'importants processus métaboliques de la cellule productrice (et de toutes les cellules vivantes), tels que la production d'acides aminés et d'acides nucléiques, et elles améliorent la qualité des aliments fermentés [151].

C. Exopolysaccharides

De nombreuses bactéries lactiques, notamment *Lactocaseibacillus casei*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactiplantibacillus plantarum*, sont capables de synthétiser plusieurs types d'EPS. Outre leur rôle dans l'adhésion bactérienne, les exopolysaccharides des BL confèrent des propriétés nouvelles aux aliments fermentés [152]. La synthèse des précurseurs a été au cœur des stratégies d'ingénierie métabolique visant à améliorer la production d'EPS par les bactéries lactiques. Les nucléotides de sucre, notamment l'UDP-glucose, l'UDP-lactose et le TDP-rhamnose, sont synthétisés à partir du glucose-1-phosphate (G1P), précurseur général [146]. Chez *S. thermophilus*, la surexpression de PGM et de GalU a induit un doublement de la synthèse d'EPS [153]. Une autre stratégie consiste à modifier la structure des EPS produits par les BL, ce qui peut être réalisé par des techniques de génie génétique ou en régulant les conditions de culture [154]. La possibilité de contrôler la formation de la structure des EPS en introduisant des glycosyltransférases existantes ou nouvelles dans les bactéries lactiques [155].

D. Acide gamma-aminobutyrique

L'acide gamma-aminobutyrique (γ -aminobutyrique, GABA) est un acide aminé naturel qui n'est pas présent dans les protéines. Le principal processus de production intracellulaire de GABA est la réaction de décarboxylation du L-glutamate. L'enzyme limitante principale qui catalyse la synthèse du GABA est la glutamate décarboxylase (GAD). Le L-glutamate est

décarboxylé pour produire de l'acide γ -aminobutyrique par l'action de la GAD (glutamate décarboxylase) et du pyridoxal-5'-phosphate [156].

E. Substances aromatiques

Presque tous les aliments fermentés contiennent des BL, dont la majorité possède diverses fonctions liées à la saveur [146]. La génération de composés aromatiques et de précurseurs d'arômes, essentiels à l'expérience sensorielle des produits fermentés, est grandement favorisée par l'activité des BL lors de la fermentation des céréales, qu'elle soit contrôlée ou spontanée [157]. Les aliments fermentés produisent une variété de composés sapides hydrosolubles et de composés volatils odorants. Les BL créent divers composés aromatiques, tels que des esters, des acides organiques, des cétones et des alcools [158].

De plus, Les BL peuvent produire de l'acétaldéhyde, un composant aromatique essentiel des produits laitiers, par différentes méthodes. Par l'intermédiaire du pyruvate et de l'acétyl-CoA issus de la glycolyse, le glucose constitue un substrat métabolique crucial pour la synthèse de l'acétaldéhyde par les BL [159]. La production d'acétaldéhyde peut également être favorisée par les acides aminés et d'autres métabolites transformés en pyruvate. Cependant, la thréonine aldolase catalyse l'étape la plus cruciale : la conversion de la thréonine en acétaldéhyde et en glycine [160]. La sérine hydroxyméthyltransférase (SHMT), codée par le gène *glyA*, est l'enzyme qui présente une activité thréonine aldolase chez *Streptococcus thermophilus*. Comparées aux souches parentales, les souches de *S. thermophilus* surexprimant *glyA* produisent 80 à 90 % d'acétaldéhyde en plus. Près de la moitié du glucose ingéré est convertie en acétaldéhyde par le double mutant en conditions anaérobies [146].

F. Acide lactique

L'utilisation des sucres et les flux glycolytiques et lactiques qui en résultent constituent une cible privilégiée pour l'ingénierie métabolique visant à accroître la production d'acide lactique. Les bactéries lactiques peuvent produire de l'acide lactique sous sa forme isomère L ou D. Contrairement à l'acide D-lactique, toxique pour l'homme, l'acide L-lactique est privilégié pour les applications alimentaires et pharmaceutiques, ainsi que comme matière première pour la production de biopolymères [161].

G. Les édulcorants

Plusieurs édulcorant sécruté par les BL. La conversion du pyruvate en alanine se déroule en une seule étape enzymatique, catalysée par l'alanine déshydrogénase, et a lieu chez diverses

bactéries anaérobies [162]. Lorsque des cellules au repos cultivées sur glucose ont été utilisées en présence d'ammonium en abondance, nécessaire à la conversion du pyruvate en alanine par l'ALAD, sa surexpression a conduit à une efficacité de réorientation de 30 à 40 % du lactate vers l'alanine [163]. Bien que des quantités importantes de mannitol (jusqu'à 66 % ont été enregistrées) puissent être produites à partir de fructose par des BL hétérofermentaires, ce dernier est invariablement coproduit avec de l'acide lactique et de l'acide acétique, ainsi que des traces d'autres métabolites [164].

Semblable au mannitol, le sorbitol est un sucre-alcool à six carbones utilisé dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique. Il a été rapporté que *L. plantarum* et *L. casei* peuvent produire du sorbitol dans les BL par ingénierie métabolique [146]. Le rendement en sorbitol dans les cellules au repos, en utilisant le glucose comme substrat, était de 0,65 mol/mol de glucose, ce qui correspond presque au rendement théorique [165]. De plus, la synthèse de sorbitol atteint 0,043 mol de sorbitol par mol de glucose après délétion du gène *ldhL*. Cette augmentation est probablement due à une plus grande concentration de NADH dans les cellules, ce qui accélère la conversion du glucose en sorbitol [166].

Actuellement, la xylose est réduite chimiquement pour créer du xylitol, un alcool de sucre à cinq carbones. Puisque la xylose réductase permet aux bactéries de convertir le D-xylose en xylitol, leur potentiel pour la production microbienne de xylitol a été étudié [167].

I.3.5. Applications des bactéries lactiques

Les BL ont de multiples domaines d'application tels que la microbiologie, les sciences alimentaires, la nutrition, la biotechnologie et l'industrie pharmaceutique. De ce fait, elle est pertinente et largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire pour la fermentation. Les BL sont peu coûteuses à cultiver, à conserver et à utiliser, et simples à récolter [168]. Elles sont reconnues comme l'un des types de micro-organismes les plus fréquemment utilisés au monde. Aujourd'hui encore, ce groupe de micro-organismes est l'un des plus étudiés [169].

Les applications des BL sont fortement influencées par leurs caractéristiques de croissance et leur activité métabolique. Pour une croissance et une activité métabolique optimales, les BL nécessitent des milieux de culture complexes afin de répondre à leurs besoins nutritionnels précis. L'étude de ces besoins et de ces capacités métaboliques peut être affectée par la nature même des BL [146].

I.3.5.1 Les bactéries lactiques comme probiotiques

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites, tels que des acides organiques, des acides aminés, des vitamines, des bactériocines et des EPS. Ces métabolites ont un impact significatif sur la santé de l'hôte et constituent le fondement de la fonction des BL [170].

Les probiotiques ont été définis comme des « bactéries vivantes qui, lorsqu'elles sont administrées en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte » et sont destinées à être ingérées par l'alimentation. Les probiotiques issus de BL constituent une approche simple pour bénéficier de nombreux bienfaits pour la santé. Amélioration de la digestibilité, stimulation du péristaltisme intestinal, amélioration de la circulation sanguine, normalisation de l'acidité des sucs gastriques et contribution au maintien du pH (équilibre acido-basique) de l'organisme sont quelques-uns des avantages des BL et de leurs produits de fermentation [171].

I.3.5.2 Les bactéries lactiques en nanobiotechnologie

La synthèse de nanoparticules à l'aide de bactéries probiotiques est supérieure à celle d'autres bactéries en raison de sa disponibilité facile et de sa facilité de croissance sur des compléments alimentaires ordinaires plutôt que sur des milieux de croissance commerciaux complexes. Le processus est non seulement rentable, mais également facilement évolutif pour la production de masse [172].

Contrairement aux méthodes chimiques et physiques de synthèse des nanoparticules, la synthèse de nanoparticules métalliques et d'oxydes métalliques médiée par des bactéries probiotiques n'implique pas l'utilisation d'agents réducteurs et/ou de coiffage coûteux et potentiellement dangereux. Par conséquent, cette méthode peut être considérée comme l'une des meilleures approches de « synthèse verte », qui est rapide, efficace et économique. Comme vu ci-dessus, la méthode implique des métabolites cellulaires pour réduire et stabiliser les ions métalliques en nanoparticules. De plus, le rendement et la stabilité des NPs générées par des bactéries probiotiques sont tout à fait satisfaisants. Les extraits acellulaires de bactéries probiotiques sont riches en biomolécules actives comme les protéines, les glucides, les vitamines, les polymères et les tensioactifs naturels qui offrent une stabilité élevée et une dispersité améliorée aux NPs synthétisées. Par conséquent, cette approche de synthèse verte peut être une alternative viable et économique aux méthodes de synthèse existantes [173].

Les métabolites secondaires des bactéries probiotiques jouent un rôle clé dans la réduction des ions métalliques en nanoparticules correspondantes et dans leur stabilisation

ultérieure. Un processus de synthèse optimisé peut donner lieu à des nanoparticules de métal et d'oxyde métallique avec une taille et une forme ajustables, essentielles pour leurs propriétés physicochimiques et biomédicales (Patil et Chandrasekaran. 2020).

L'exopolysaccharide capsulaire du BL varie considérablement dans sa composition, qui est principalement composée de divers glucides tels que le galactose, le glucose, le mannose et le rhamnose. Les nanoparticules synthétisées à base de disaccharides associés au BL sont de taille beaucoup plus petite et de nature hautement antibactérienne. Par conséquent, les biopolymères capsulaires de BL sont un modèle important qui peut être utilisé pour contrôler la forme et la distribution de la taille des nanoparticules bactériogènes qui sont supérieures à celles dérivées d'autres processus biogéniques [174].

La nature a développé divers procédés pour la synthèse de matériaux inorganiques à petite échelle par les bactéries lactiques. Selon leur localisation, la synthèse de ces nanoparticules peut être intracellulaire ou extracellulaire.

A. Synthèse intracellulaire

La réduction des ions métalliques par les cellules bactériennes jusqu'à leur forme nanométrique est l'une des stratégies de survie visant à rendre les ions métalliques toxiques non toxiques [127]. La méthode de synthèse intracellulaire nécessite des étapes supplémentaires pour récupérer les nanoparticules accumulées dans les cellules et est donc moins préférée. L'échographie des cellules bactériennes est la technique la plus courante pour récupérer les NP [175]. En plus de cela, un traitement thermique comme l'autoclavage et l'utilisation de détergents et de sels peuvent également être utilisés pour lyser les cellules [176].

Certaines bactéries ont la capacité de produire simultanément des AgNP extracellulaires et intracellulaires. Ceux-ci incluent *Lactobacillus* sp. [177]. Cela conduit à la possibilité que ces bactéries synthétisant deux modes soient obligées de passer à un mode de synthèse et il sera intéressant de connaître les conditions environnementales/le stress et les mécanismes responsables d'une telle synthèse [178].

B. Synthèse extracellulaire

La synthèse extracellulaire de nanoparticules se déroule en dehors de la cellule bactérienne. Ces nanoparticules de formes variées (sphériques, discoïdes, cuboïdes, hexagonales, triangulaires, etc.) ont été synthétisées à partir de cellules, de surnageant de culture ou d'extrait aqueux acellulaire. Les méthodes de synthèse extracellulaires présentent l'avantage

d'une récupération aisée des nanoparticules à partir de la solution, par rapport à la synthèse intracellulaire.[179].

Tableau 3 présente les méthodes de biosynthèses, la taille, les méthodes de caractérisation et les applications des différentes nanoparticules biosynthétisé par les bactéries lactiques.

Tableau 4 : Nanoparticules biosynthétisé par des bactéries lactiques et leurs applications.

Espèce	Extr/intra	NPs	D (nm)	Caractérisation	Application	Réf.
<i>Lactobacillus</i> sp.	Extra	Ag	41	UV-Vis, TEM et EDX.	antibactériens et antifongiques	[180]
<i>L. plantarum</i> , <i>L. johnsonii</i>	Extra/intra	Se	25 - 250	MET, DRX, EDX, et DLS.	antifongiques	[181]
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Extra	Ag	50,1 – 70,1	UV-Vis, MEB, DRX.	antibactériens	[182]
<i>L. acidophilus</i>	Extra	Ag	4 - 50	/	antibactériens	[183]
<i>Lactobacillus</i> sp. (CPS)	Extra	Ag	10 – 40	/	antibactériens	[174]
<i>Lactobacillus casei</i>	Extra (EPS)	Ag	0,2 – 10	UV-Vis, MEB, IRTF.	antibactériens	[184]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp.	Extra	Ag	4,4 – 8,9	/	/	[185]
<i>Lactobacillus</i> sp.	Extra	Ag	30 - 100	/	antioxydante	[186]
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	Intra	Se	50 - 80	TEM, MEB, EDX, XPS, IRTF.	Anticancer et antioxydante	[187]
<i>Lactobacillus casei</i>	Extra	Au	44,9	MEB, TEM, DLS, EDX, DRX.	/	[188]
<i>Lactobacillus</i> sp.	Extra	Ag	13.84±4.56	UV-Vis et TEM.	antibactériens	[189]
<i>Lactobacillus plantarum</i> TA4	Intra	Ag	14.0 - 4.7	UV-Vis, DLS, IRTF et TEM.	antioxydante, antibactériens	[190]
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Extra	Ag	58.06 - 72.91	UV-Vis, MEB et IRTF.	antioxydante	[191]
<i>Lactobacillus</i> sp	Intra	ZnO	18,6	DRX, UV-Vis, IRTF, MEB, EDX, AFM.	antibactériens	[192]

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Extra	CdS	19,07 ± 2,54	UV-Vis, DRX, IRTF et MEB.	/	[193]
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Extra	Ag	30 - 100	/	Antibactériens	[194]
<i>Lactobacillus</i> sp	Intra	ZnO	25 – 35	XRD, UV-Vis, IRTF, MEB, EDX, AFM.	antimicrobiens, anticancéreux et photodégradation	[192]
<i>Lactobacillus plantaire</i> CAM 4	Extra	Ag	19,2 ± 4,8	UV-Vis, DLS, TEM, MEB et EDX.	antibactérienne	[13]
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Extra	Ag	14 - 4,7	UV-Vis, IRTF, TEM et EDX	antibactériens antioxydant	[195]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> MTCC-1423	Extra	Ag	6,26	UV-Vis, IRTF, TEM et EDX	antibactériens antibiofilms	[195]
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (ATCC 7469)	Extra	Se	25,34 – 74,66	IRTF, XRD, TEM, MEB, TGA, et DLS.	/	[196]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sub. sp. <i>Bulgaricus</i>			48,65 - 95,87			
<i>Streptococcus</i> sp.	Extra	AgCl	5,29	UV-Vis, IRTF, MEB, EDX, DRX, DLS.	Antioxydantes, antibactériens et antibiofilms.	[197]

NPs : nanoparticules : Extra : extracellulaire, Intra : intracellulaire, UV-Vis : ultraviolet-visible, IRTF : infrarouge à transformée de fourier, MEB : microscopie électronique à balayage, EDX : spectroscopie par dispersion d'Énergie de rayons X, DRX : diffraction des rayons X, DLS : diffusion dynamique de lumière, TEM : microscopie électronique à transmission, TGA : thermogravimétrie, XPS : spectrométrie de photoélectron X. AFM : microscopie à force atomique.

I.3.6. Toxicité et biocompatibilité des nanoparticules

La toxicité des NPs dans l'environnement dépend fortement du type, de la taille et de la forme des NPs. Dans les nanoparticules d'argent, la dissolution oxydative est responsable de la libération d'ions Ag^+ , hautement toxiques pour de nombreux organismes, même à de faibles concentrations susceptibles d'être présentes dans l'environnement [198]. L'exposition et le temps de séjour des nanoparticules dans l'environnement peuvent être considérablement prolongés par leur adsorption sur des matières organiques ou inorganiques, augmentant ainsi leur persistance [199].

Les nanoparticules biosynthétisées présentent une toxicité moindre, généralement due à l'utilisation de composants biologiques comme agents de coiffage et stabilisants, ainsi qu'à l'absence de solvants toxiques lors de leur fabrication [200].

L'application des nanoparticules en médecine dépend de la minimisation des effets secondaires potentiels des nanoparticules et de leur impact sur l'organisme. Les interactions entre les nanoparticules et les tissus hôtes dépendent de leurs propriétés, telles que leur nature, leur taille et leur forme [201].

La plupart des nanoparticules sont capables de traverser les membranes cellulaires et de circuler dans le sang, se disséminant ainsi dans différents organes. Il a même été démontré qu'elles peuvent franchir la barrière hémato-encéphalique. Leur accumulation sélective dans certains tissus représente également un risque potentiel [201].

L'interaction avec les cellules et leurs composants intracellulaires peut avoir des effets néfastes et provoquer des lésions cellulaires, notamment par stress oxydatif. La taille des NPs semble être le facteur déterminant de leur dissémination dans l'organisme et de leur impact sur le système immunitaire. Le stress oxydatif induit par la présence de NPs peut contribuer à l'inflammation, à la toxicité, aux lésions de l'ADN et des mitochondries, et donc au développement d'affections graves telles que l'inflammation pulmonaire ou des atteintes rénales et hépatiques [202].

Avant toute application médicale, il est indispensable d'établir les effets biologiques et la compatibilité avec les organismes et tissus vivants. Des critères d'évaluation peuvent être définis à l'aide de tests de cytotoxicité *in vitro*, d'hémolyse, d'agrégation des cellules sanguines, de neurotoxicité, d'immunotoxicité, de compatibilité histologique et d'autres attributs [203].

En conclusion, ce chapitre met en évidence certaines limites relevées dans la littérature, ce qui justifie l'importance et la pertinence de notre propre contribution. Les connaissances dégagées dans ce chapitre constituent ainsi une base solide pour la compréhension des résultats expérimentaux et pour l'élaboration de l'approche méthodologique adoptée.

Partie II

Pratique

Chapitre II

Matériels et méthodes

Afin de répondre aux objectifs fixés dans cette étude, un ensemble de matériels, de réactifs et de méthodes expérimentales a été mis en œuvre. Ce chapitre est subdivisé en cinq parties principales :

La première partie est consacrée à une étude rétrospective sur les bactéries multirésistantes dans l'hôpital publique d'Ouargla pendant la période de 1 janvier à 31 décembre 2023.

La deuxième partie est consacrée à la description des isolats bactériens pathogènes collectés aux laboratoires médicaux, ainsi que l'identification et la détermination des profils d'antibiorésistance.

La troisième partie décrit en détail la méthode de biosynthèse des nanoparticules de chlorures d'argent (AgCINPs) à partir de la souche lactique *Streptococcus* sp. isolée de smen camelin d'Ouargla, ainsi que les conditions expérimentales de production. De plus, cette partie regroupe les différentes techniques de caractérisation employées afin de confirmer la formation des nanoparticules.

La quatrième partie est pour évaluer les activités biologiques des AgCINPs, notamment l'activité antioxydante et leur effet antibactérien par deux approches *in vitro* et *in silico* par contre les souches multirésistantes collectées.

Enfin, un test de cytotoxicité a été réalisé par trois approches complémentaires *in vitro*, *in vivo* et *in silico* afin d'évaluer la compatibilité biologique et la sécurité potentielle des AgCINPs biosynthétisées vis-à-vis des cellules eucaryotes. Ainsi que, les analyses statistiques utilisées pour l'interprétation des résultats expérimentaux.

II.1 Etude rétrospective sur les bactéries multirésistantes

Notre étude descriptive, rétrospective et observationnelle des dossiers médicaux a été menée sur une année (du 1^{er} janvier au 31 décembre 2023) au laboratoire centrale de microbiologie de l'hôpital Mohammed Boudhiaf d'Ouargla (sud algérien), où les majorités des bactéries multirésistantes sont liées à des infections nosocomiales.

II.1.1 Modalités de recueil des données

Un recueil rigoureux des variables d'étude a été réalisé à partir du registre du laboratoire central de bactériologie à l'hôpital Mohamed Boudhiaf Ouargla, incluant les données suivantes : type d'échantillon, sexe du patient, espèce bactérienne isolée, service d'origine et

résultats de l'antibiogramme. Une fiche d'exploitation contenant ces informations a été élaborée (annexe 1).

L'antibiogramme des souches bactériennes pathogène isolées à l'hôpital a été réalisé selon la standardisation algérienne. (2020), basée sur la méthode Institut des normes cliniques et de laboratoire (Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI (CLSI. 2024)). Pour chaque type de bactérie identifiée, un ensemble d'antibiotique spécifique a été testé à l'aide de l'antibiogramme afin de déterminer son profil de sensibilité ou de résistance (annexe 2).

Dans cette étude, des bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* sp. résistants aux antibiotiques testés ont été inclus dans la catégorie des bactéries multirésistantes.

L'analyse statistique des données a été réalisée avec Python, comparant chaque type bactérien (résistant ou non) dans chaque échantillon. Le test de Fisher a été utilisé pour évaluer l'association entre la résistance bactérienne et le type d'échantillon, en se concentrant sur la significativité des différences observées. La valeur P a été calculée pour évaluer la significativité statistique de ces associations, avec un seuil de $P < 0,05$ considéré comme significatif. Cette approche a permis un examen détaillé des profils de résistance entre différentes espèces bactériennes et différents types d'échantillons, révélant ainsi la prévalence et la distribution des bactéries multirésistantes au sein de l'hôpital durant la période d'étude.

II.2 Collecte des bactéries pathogène

Au cours de la période allant de mars à décembre 2023, les isolats bactériens multirésistantes ont été collectés de manière prospective aléatoire à partir des échantillons pathologiques reçus aux laboratoires médicaux de la région d'Ouargla. Les critères d'inclusion reposaient sur la résistance aux multiples antibiotiques.

II.2.1 Identification des bactéries collectés

L'identification des bactéries collectées constitue une étape essentielle pour la compréhension de leur nature et de leur origine. Dans le cadre de cette étude, l'identification des souches pathogènes collectées a été réalisée selon une approche combinant des méthodes culturelles, morphologiques et biochimiques.

L'association de ces deux approches observation chromogène et identification automatisée a permis d'assurer une caractérisation complète et fiable des bactéries pathogènes étudiées dans ce travail.

II.2.1.1 Identification phénotypique

L'identification phénotypique des isolats bactériens collectés a été réalisée par des méthodes standards, incluant l'examen morphologique des colonies (macroscopique) et la coloration de Gram (microscopique).

L'identification macroscopique des échantillons cliniques collectés constitué à ensemencés les souches sur des milieux sélectifs et différentiels, notamment le CHROMagarTM orientation, permettant une présomption rapide du genre bactérien à partir de la couleur et de l'aspect des colonies. Ces observations sont cruciales pour faciliter la poursuite des processus d'identification [204].

L'identification microscopique, en tant que technique, permet l'analyse morphologique des cellules appartenant à une espèce microbienne particulière. Ce processus consiste à examiner les cellules à l'état frais ainsi qu'après l'application de la coloration de Gram.

L'examen de la coloration de Gram est considéré comme la coloration standard dans le domaine de la bactériologie. Les bactéries sont différenciées en Gram-positives ou Gram-négatives en fonction des caractéristiques structurales spécifiques de leurs parois cellulaires.

II.2.1.2 Identification biochimique des bactéries par VITEK®2

Afin de confirmer l'identification de l'espèce bactérienne avec une précision élevée, les souches collectées ont été soumises à une identification biochimiques plus précise à l'aide d'un système automatisé VITEK®2 (bioMérieux, France) selon les recommandations du CLSI. (2024). Cette méthode repose sur l'analyse de profils biochimiques spécifiques et fournit un pourcentage de fiabilité permettant de valider les résultats obtenus par observation macroscopique.

Les cartes d'identification Gram négatif (GN card REF 21341) et Gram positif (GP card REF 21342) du VITEK®2 s'utilise avec VITEK®2 Systems pour l'identification automatique des bacilles à Gram négatif fermentant et non fermentant et les germes Gram positif respectivement, fréquemment rencontrés en microbiologie clinique. Les cartes d'identification VITEK®2 GN et GP sont à usage unique.

Les cartes GN et GP font appel à des tests biochimiques conventionnels et à des substrats récemment développés mesurant l'utilisation des sources de carbone, l'activité enzymatique et la résistance. Il existe 47 et 43 tests biochimiques pour les cartes GN et GP respectivement, et un puits de contrôle négatif. Le puits de contrôle négatif décarboxylase (puits 52) est utilisé comme référence pour les tests décarboxylase. La composition des puits des cartes GN et GP est présentée dans l'annexe 3.

Les colonies isolées ont été suspendues dans une solution saline à 0,45 % NaCl pour obtenir une densité standardisée équivalente à 0,5–0,63 McFarland, mesurée par densitomètre intégré. Les cartes d'identification appropriées ont été utilisées conformément aux recommandations du fabricant. Les résultats d'identification définitifs sont obtenus automatiquement par le système VITEK®2 en dix heures maximum.

II.2.2 Test de sensibilité aux antibiotiques par VITEK®2

Des tests automatisés de sensibilité aux antibiotiques (AST) ont été réalisés à l'aide de cartes VITEK®2 (bioMérieux, France) conformément aux recommandations du CLSI. (2024). Des cartes AST spécifiques AST-N222 pour les pathogènes non fermentatifs tels que *Pseudomonas aeruginosa*, AST-N365 pour les pathogènes fermentatifs tels qu'*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* et AST-P586 pour les bactéries pathogène Gram positif ont été utilisées conformément aux instructions du fabricant.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par dilution en bouillon pour divers agents antimicrobiens testés, notamment l'ampicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, la céftazidime, la pipéracilline/tazobactam, l'ertapénème, le méropénème, la ciprofloxacine, la gentamicine, l'amikacine, la fosfomycine, le chloramphénicol, le triméthoprim/sulfaméthoxazole et la colistine, classés en neuf classes d'antibiotiques.

Les résultats AST/CMI ont été interprétés avec précision conformément aux valeurs critiques d'Institut des normes cliniques et de laboratoire (CLSI. 2024) et du Comité européen pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens.

De plus, les caractéristiques phénotypiques des bactéries collectées, telles que la production de bêta-lactamases à spectre étendu, de carbapénémases et de céphalosporénases, ont été déterminées à l'aide du système VITEK®2. La souche ATCC25922 d'*Escherichia coli* a été utilisée pour le contrôle qualité et comme témoin négatif. Les résultats ont été interprétés automatiquement par le système et validés en fonction des valeurs critiques de sensibilité et de CMI.

II.2.3 Conservation des souches

La conservation des souches microbienne a pour objectifs de garder leurs puretés, garder les cultures vivantes sans multiplication et conserver leurs propriétés d'origine (propriétés morphologiques, métaboliques, génétique et physiologiques)[205]. Selon le temps de conservation désiré, les souches pures sont conservées de la manière suivante :

II.2.3.1 Conservation à courte durée

Les souches purifiées sont ensemencées sur gélose nutritive inclinée, et sont incubées à 37°C pendant 18 h en culture jeune et après croissance bactérienne, ces cultures sont conservées à 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication) [206].

II.2.3.2 Conservation à long terme

A partir d'une culture jeune de 16 h des colonies sont ensemencées dans des tubes eppendorfs contenant un bouillon nutritif additionné de 30% de glycérol, et agité au vortex pour bien homogénéiser la suspension bactérienne avant de conserver au congélateur à -20°C [207].

II.3 Biosynthèse extracellulaire des nanoparticules de chlorure d'argent

Les nanoparticules de chlorure d'argent (AgCINPs) sont issues d'une synthèse verte réalisée à partir d'une souche lactique *Streptococcus* sp., précédemment isolée en 2023 du smen camelin de la région d'Ouargla et obtenue au laboratoire de microbiologie du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) d'Ouargla.

II.3.1 Bactérie lactique *Streptococcus* sp.

Les cellules de la souche *Streptococcus* sp. seront réactivées en inoculant 100 µL de suspension cellulaire conservée dans 9 mL de bouillon MRS (Man, Rogosa et Sharpe), suivis d'une incubation de 24 heures à 37°C. La purification sera obtenue par repiquages successifs sur gélose MRS jusqu'à isolation de colonies pures et homogènes. La viabilité cellulaire sera confirmée par coloration de Gram et test à la catalase [208].

II.3.1.1 Préparation de surnageant bactérien

Le surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp. est préparé en cultivant une colonie pure dans du bouillon MRS sous conditions anaérobies à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, la turbidité bactérienne sera ajustée à une densité optique $DO_{600nm} = 1,65$ au densitomètre, correspondant à la phase logarithmique tardive du cycle cellulaire [209]. Le surnageant extracellulaire a été obtenu par centrifugation (4000 rpm, 4°C, 7 min) [210] (Figure 2).

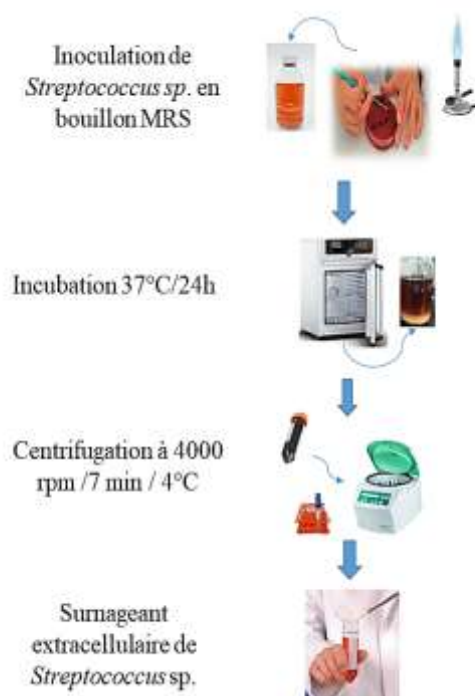


Figure 2: Protocole de production des molécules bioactives par *Streptococcus* sp.

II.3.1.2 Analyse du surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp.

L'analyse des molécules bioactives présentes dans le surnageant extracellulaire produit précédemment par la souche lactique *Streptococcus* sp. a été effectuée par deux méthodes:

A. Chromatographie liquide ultra-pure couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (UPLC-ESI-MS/MS)

L'identification des molécules bioactives sécrétées par *Streptococcus* sp. dans le surnageant extracellulaire a été réalisée à l'aide du système UPLC-ESI-MS/MS Shimadzu 8040, intégrant la technologie UFMS à ultra-haute sensibilité.

Lors de l'étape d'optimisation initiale, une injection directe a été effectuée sans utilisation de colonne. Les paramètres d'ionisation par électrospray (ESI) ont été réglés comme suit : pression du gaz de dissociation induite par collisions (CID) à 230 kPa, tension de la dynode de conversion à -6,00 kV, température de la ligne de désolvatation à 250 °C, débit du gaz de nébulisation à 3,00 L/min, température du bloc chauffant à 400 °C et débit du gaz de séchage à 15,00 L/min.

La séparation chromatographique a ensuite été effectuée sur une colonne Restek Ultra C18 (150 × 4,6 mm, 3 µm), en utilisant comme phase mobile un mélange constitué du solvant A (eau contenant 0,1 % d'acide formique) et du solvant B (méthanol), à un débit de 0,2 mL/min et pour un volume d'injection de 5 µL.

Le programme de gradient était structuré comme suit :

0–0.22 min, 98 % A ;

0.2–2.5 min, 25 % A ;

2.5–4 min, 0 % A ;

4–10 min, 0 % A ;

10–10.1, 98% A ;

10.1–15 min, 98 % A pour la rééquilibration.

B. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier est une technique d'analyse chimique largement utilisée pour identifier les composants chimiques d'un échantillon en fonction de leur absorption de la lumière infrarouge (situé entre 4000 et 400 cm^{-1}) [211].

La capacité d'une molécule à absorber les vibrations dépend de sa géométrie, particulièrement de sa symétrie. La position des bandes d'absorption est étroitement liée à la différence d'électronégativité des atomes ainsi qu'à leurs masses respectives. Par conséquent, pour un matériau de composition chimique et de structure définie, l'observation d'un ensemble spécifique de bandes d'absorption caractéristiques permet son identification précise [211].

Dans notre étude, le surnageant extracellulaire obtenue précédemment lyophilisé suivi pour la spectroscopie IR-TF (Happ-Genzel Apodization en Allemagne, Göttingen) dans la gamme 4000 - 400 cm^{-1} . Les fréquences d'étirement et de flexion des liaisons dans les molécules ont été obtenues à partir de l'interaction du rayonnement infrarouge avec la matière [212].

II.3.2 Biosynthèse des AgCINPs

Le surnageant extracellulaire de la souche *Streptococcus* sp. contenant divers métabolites secondaires et enzymes capables de réduire les ions métalliques a été utilisé pour la production biologique des nanoparticules de chlorure d'argent.

Le protocole de Patra et Baekb. [213], a été utilisé pour la réduction de la solution métallique nitrate d'argent (AgNO_3) par le surnageant de *Streptococcus* sp., avec quelques modifications (Figure 3).

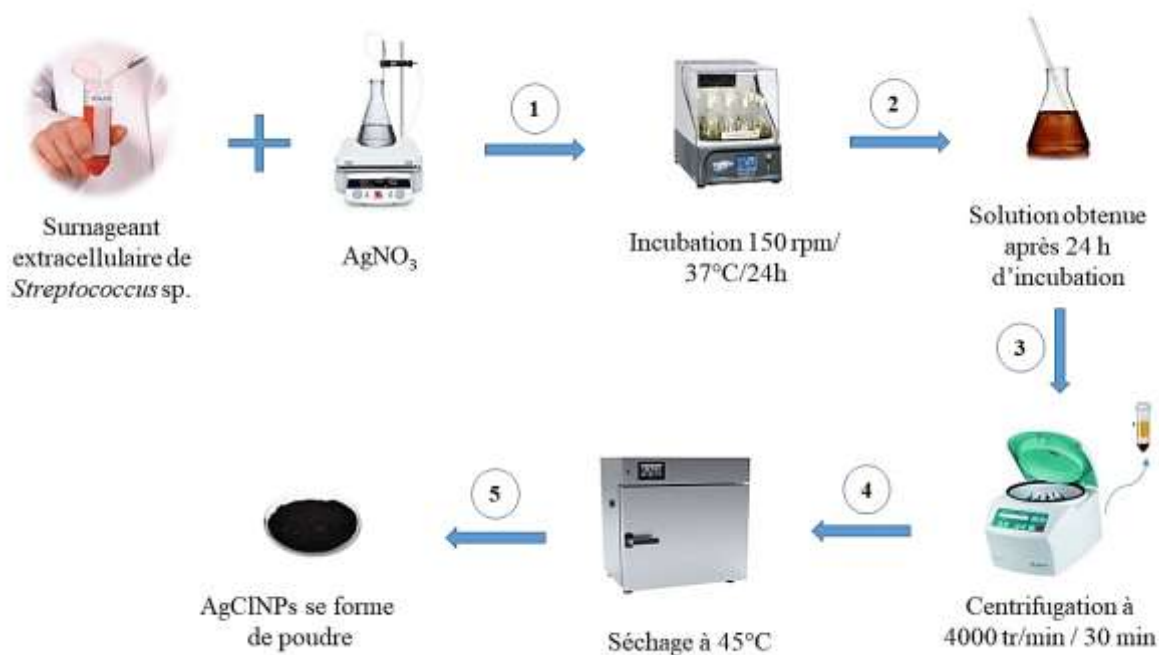


Figure 3 : Protocole de biosynthèse des AgClNPs par le surnageant de *Streptococcus* sp.

Une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) à une concentration de 1 mM a été ajoutée au surnageant préparé précédemment, selon un rapport volumique (v/v). Le mélange réactionnel a été incubé pendant 24 heures dans un agitateur à 150 tr/min à température 37 °C. La solution d' AgNO_3 est utilisée comme source d'ions argent (Ag^+) et le surnageant comme source d'ions chlorure (Cl^-) et de molécules bioréductrices (les étapes 1 et 2 de la figure 3).

Les solutions surnageant-eau distillée stérile et bouillon MRS- AgNO_3 ont été incubés dans les mêmes conditions que l'échantillon et utilisés comme témoins 1 et 2, respectivement.

Après incubation, les AgClNPs biosynthétisées ont été collectés par centrifugation (4000 rpm/4°C) pendant 30 min. Le surnageant obtenu a été éliminé et le précipité a été lavé à l'eau distillée et à l'éthanol pour éliminer l'excès de surnageant cellulaire et l' Ag^+ n'ayant pas réagi. Le précipité a été séché à 45 °C pour obtenir des AgClNPs sous forme de poudre (les étapes 3, 4 et 5 de la figure 3).

II.3.3 Caractérisation des AgClNPs biosynthétisées

La biosynthèse des AgClNPs à partir du surnageant du *Streptococcus* sp. est observée par un changement visuel de la couleur dans le mélange réactionnel après 24 heures d'incubation, suivi par une caractérisation plus approfondie par l'utilisation des instruments plus spécifique pour déterminer la phase cristalline, la morphologie, les caractéristiques optiques, la distribution hydrodynamique des nanoparticules et la charge de surface.

II.3.3.1 Spectrophotométrie UV-visible (UV-vis)

La spectrophotométrie UV-vis était la technique la plus importante et la plus simple pour confirmer la formation de nanoparticules métalliques. Le principe de la spectroscopie UV-Visible implique l'absorption de la lumière ultraviolette ($200 \leq \lambda \leq 400$ nm) et visible ($400 \leq \lambda \leq 800$ nm) par les molécules. Lorsqu'une molécule absorbe la lumière UV ou visible, elle subit des transitions électroniques des états d'énergie plus basse à des états d'énergie plus élevée. Ces transitions sont associées à l'excitation des électrons à l'intérieur de la molécule, passant de l'état fondamental à un état excité [214].

Dans notre étude, la solution colorée résultante a été largement purifiée par centrifugation pour éliminer les éventuels ligands libres, les sels métalliques et les sous-produits nanoparticulaires [215], puis balayée dans la gamme de 200 à 800 nm par spectrophotométrie UV-Vis Agilent, Cary 100 (Agilent Technologies, Santa Clara, en Californie, aux États-Unis).

II.3.3.2 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

La IR-TF peut être utilisée pour identifier les groupes fonctionnels présents à la surface des nanoparticules en comparant le rayonnement incident et celui transmis à travers l'échantillon, qui offre des informations détaillées sur leur composition chimique, leur structure et leurs propriétés [212].

Dans notre étude, la suspension d'échantillon a été centrifugée à 4000 tr/min pendant 30 min, le précipité recueilli a été remis en suspension pour 1 à 3 lavages supplémentaires dans de l'eau distillée et une centrifugation pour se débarrasser des espèces qui ne sont pas responsables du coiffage des nanoparticules [211], le précipité séché suivi directement pour la spectroscopie IR-TF (Happ-Genzel Apodization en Allemagne, Göttingen) dans la gamme $4000 - 400$ cm⁻¹. Les fréquences d'étirement et de flexion des liaisons dans les molécules ont été obtenues à partir de l'interaction du rayonnement infrarouge avec la matière [212].

II.3.3.3 Diffraction des rayons X (DRX)

Les informations cristallographiques tels que, la nature cristalline, le type de cristal, la taille des cristaux, l'homogénéité, la pureté des échantillons et l'orientation des cristaux dans l'espace, ont été recueillies à partir des schémas de diffraction cristallographique des rayons X. Le principe de DRX repose sur l'interaction entre un faisceau de rayons X et les plans atomiques du réseau cristallin [216].

Dans notre étude, le diffractomètre Rigaku Miniflex 600 a été utilisé pour déterminer les données cristallographiques des AgClNPs biosynthétisés, les échantillons ont été réalisés par une lame en verre et subit du rayonnement Cu α ($\lambda = 1,5406$ Å) sous mode balayage sur 2θ

dans l'intervalle de 20° à 80°. L'instrument fonctionnait à un courant de 30 mA et une tension de 40 kV.

Les données DRX obtenues ont été comparées aux fichiers de la bibliothèque du Comité mixte sur les normes de diffraction des poudres (Joint Committee on Powder Diffraction Standards, JCPDS) pour tenir compte de leur structure cristalline.

II.3.3.4 Microscopie électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X (MEB-EDX)

Le microscope électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X est un instrument précieux dans le domaine des sciences des matériaux, largement utilisé pour caractériser les nanoparticules en raison de sa capacité à fournir des informations précieuses des nanomatériaux, il permet de visualiser la morphologie des nanomatériaux, y compris leur forme, leur taille, leur agglomération, leur distribution sur une échelle nanométrique, ainsi que, une analyse de la composition et une évaluation de l'homogénéité des matériaux solides [217].

Le principe de MEB-EDX repose sur l'utilisation d'un faisceau d'électrons pour sonder la surface des échantillons avec une résolution élevée, ce qui permet d'obtenir des images détaillées et informatives des structures à l'échelle nanométrique [218].

Dans notre étude, La taille des particules, la morphologie de surface et la composition élémentaire de l'échantillon ont été examinées par le FE-SEM-EDX Thermo Fisher Apreo 2 C, équipé d'une source d'électrons FE-Schottky (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) après la dispersion de la poudre d'échantillon dans l'éthanol et le séchage.

II.3.3.5 Distribution hydrodynamique de la lumière et potentiel zêta

L'analyse du potentiel zêta est une technique utilisée pour mesurer la charge électrique à la surface d'une particule et pour caractériser sa stabilité dans les suspensions aqueuses. Les particules possèdent une charge de surface qui attire les ions de charge opposée à leur surface, formant une double couche d'ions qui se déplace avec les particules lors de leur diffusion dans la solution aqueuse. Le potentiel de charge électrique net entre les couches est connu sous le nom de potentiel zêta. La stabilité de toute suspension est étroitement liée au potentiel zêta des particules en suspension. Lorsque le potentiel zêta est proche de zéro, aucune force n'empêche les particules de s'agréger [219]. Les suspensions stables ont des valeurs de potentiel zêta supérieur à +25 mV ou inférieur à -25 mV ($> +25$ mV ou < -25 mV) [220].

La diffusion dynamique de la lumière (Dynamic Light Scattering, DLS) est une technique simple pour déterminer la taille moyenne des nanoparticules en solution aqueuse.

Lorsque la lumière laser est appliquée, les particules de la solution diffusent la lumière avec une intensité variable et celle-ci est enregistrée [221].

Dans notre étude, L'appareil de diffusion dynamique de la lumière (HORIBA Scientific SZ-100, Kyoto, Japon) est utilisé pour déterminer la distribution hydrodynamique et la stabilité des AgClNPs biosynthétisés.

II.4 Potentiels biologiques des AgClNPs biosynthétisés

Dans le but d'évaluer les potentiels biologiques des AgClNPs, une série d'essais *in vitro*, *in vivo* et *in silico* a été réalisée afin d'étudier leurs interactions avec les systèmes biologiques. Ces évaluations ont inclus l'analyse de l'activité antibactérienne, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante à l'aide de méthodes appropriées. Toutes les expériences ont été menées dans des conditions contrôlées, avec répétition des essais et analyse statistique des résultats afin d'assurer la fiabilité et la reproductibilité des données obtenues.

II.4.1 Evaluation *in vitro* et *in silico* des effets des AgClNPs contre les bactéries multirésistantes

II.4.1.1 Méthode de diffusion sur gélose

Le potentiel antibactérien de différentes concentrations des AgClNPs (1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL) a été évalué sur dix souches Gram-négatives résistantes à plusieurs antibiotiques collectées dans la région d'Ouargla, et les souches de référence *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27653 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603. La méthode de diffusion sur gélose recommandée par l'Institut des normes de laboratoire clinique (Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI. 2024) a été utilisée. Les souches ont été repiquées dans un bouillon nutritif, puis incubées à 37 °C pendant 18 heures. Après solidification d'environ 20 mL de milieu gélosé Mueller-Hinton (MH) versé dans des boîtes de Petri, la surface de la gélose a été ensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile imprégné d'un inoculum bactérien ajusté à une densité de 1×10^6 UFC/mL.

Des disques de papier filtre stériles de 5 mm de diamètre ont ensuite été disposés à la surface de la gélose, 10 µL de chaque concentration des AgClNPs ont été placés sur les disques. L'eau distillée stérile a été utilisée comme témoin négatif. L'ampicilline et la ticarcilline ont été utilisées comme témoins positifs pour les souches d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa*, respectivement. Après 18 heures d'incubation à 37 °C, les zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques ont été mesurées. Chaque test a été réalisé en triple.

II.4.1.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des AgClNPs vis-à-vis des bactéries pathogènes testées a été déterminée par un test de dilution en microbouillon standard réalisé dans des plaques de microtitration stériles à 96 puits, conformément aux normes CLSI. (2024), Une série de concentrations des AgClNPs (1000 à 1 µg/mL) a été préparée dans les puits des plaques. Chaque puit a été inoculé avec 100 µL d'une culture bactérienne logarithmique standardisée diluée pour obtenir une population initiale d'environ 100 UFC/mL. Les puits de contrôle positif contenaient uniquement la suspension bactérienne (200 µL) et ceux de contrôle négatif, 200 µL de bouillon Mueller-Hinton (BMH). La ciprofloxacine a été utilisée comme antibiotique standard. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 18 heures. La croissance bactérienne a été évaluée en mesurant l'absorbance à 600 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (BioTek, 800TSUVI). Tous les tests ont été réalisés en triplicat.

II.4.1.3 Détermination de la concentration minimale bactéricide

Pour la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) des AgClNPs, 50 µL d'aliquotes ont été prélevées dans les puits de la plaque de microtitration qui n'ont montré aucune croissance dans l'analyse CMI [222]. Les aliquotes ont été étalées sur des plaques d'agar MH fraîchement préparées qui ont ensuite été incubées pendant 24 h à 37°C. Après l'incubation, les plaques ont été examinées pour détecter tout signe de croissance bactérienne. Le CMB est la concentration qui inhibe 99,9 % de la croissance bactérienne. Ainsi, la plus faible concentration de nanoparticules qui a tué les bactéries sur les plaques a été considérée comme MBC pour les nanoparticules [223].

II.4.1.4 Docking moléculaire

Pour les études *in silico*, notamment l'amarrage moléculaire, sont devenues des outils essentiels pour prédire l'affinité des nanoparticules avec des cibles bactériennes spécifiques, telles que les enzymes de biosynthèse de la paroi cellulaire ou les protéines membranaires [224]. Cependant, plusieurs études ont mis en évidence un écart entre l'activité observée expérimentalement et les prédictions issues de l'amarrage, soulignant l'importance d'une approche intégrative combinant des méthodes biologiques et informatiques [225].

Un protocole d'amarrage moléculaire standardisé et largement accepté a été utilisé pour garantir la cohérence et la précision des résultats [226][227]. Les études d'amarrage des composés sélectionnés ont été réalisées à l'aide de la suite logicielle AutoDock 4.2 [228]. L'analyse et la visualisation ultérieures des interactions ligand-protéine ont été réalisées avec Discovery Studio (<https://www.3ds.com/products-services/biovia/>). Les structures protéiques utilisées dans l'étude ont été récupérées de la Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

Les étapes de préparation des protéines comprenaient l'élimination des molécules d'eau et des atomes non pertinents, l'ajout d'atomes d'hydrogène polaires et l'attribution de charges partielles. Les fichiers ligands et protéines ont été convertis au format PDBQT pour faciliter l'amarrage. Les régions du site actif ont été définies par des dimensions des cases de grille et des centres de grille spécifiés comme présenté dans le tableau (4).

Tableau 5 : les dimensions des cases de grille et des centres de grille spécifiés des sites actif.

Souche	ID proteine	Dimensions des cases de grille (Å)	Centres de grille spécifiés
<i>Escherichia coli</i>	9CD2	60 × 52 × 90	x = 67,276, y = -15,694, z = 12,347
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8YZ3	60 × 52 × 82	x = -22,945, y = -47,392, z = 22,29
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9BD4	70 × 60 × 80	x = 21,389, y = 6,223, z = -3,987
<i>Klebsiella aerogenes</i>	9DUG	44 × 60 × 104	x = 14,296, y = 11,925, z = 66,349

Toutes les procédures d'amarrage ont été réalisées avec un espacement de grille de 0,375 Å. Pour prédire les conformations de liaison les plus favorables, l'algorithme génétique (GA) a été utilisé comme stratégie de recherche d'amarrage [229].

II.4.2 Evaluation de l'activité antioxydante des AgCINPs biosynthétisées

II.4.2.1 Test de piégeage de radical libre DPPH

L'activité antiradicalaire des AgCINPs biosynthétisées a été évaluée à l'aide de la méthode du piégeage du radical libre 2,2-diphénul-1-picrylhydrazyle (DPPH) décrite par Brand-Williams *et al.* [230], avec quelques modifications. Différentes concentrations des AgCINPs sont préparées dans l'eau désionisée (100, 80, 60, 40, 20, 10 et 5 µg/mL). Un volume de chaque concentration préparée a été mélangé avec un volume de DPPH (0.1 mM) (v/v). Le mélange réactionnel a été incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min, l'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence. Ensuite l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm.

II.4.2.2 Test de piégeage de radical libre ABTS

L'activité de piégeage du radical libre 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6 sulphonique (ABTS) des AgCINPs biosynthétisé est évaluée en utilisant la méthode de Sultana *et al.* [231], avec quelques modifications.

Une solution des AgCINPs à des concentrations (100, 80, 60, 40, 20, 10 et 5 µg/mL) est préparée avec de l'eau distillée. La solution d'ABTS est préparée en ajoutant 20 ml d'ABTS (7 mM) à 10 mL de persulfate de potassium (2,45 mM). Le mélange est conservé à l'abri de la

lumière et à température ambiante pendant 24 heures. La solution d'ABTS est diluée jusqu'à une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Pour 1 ml de solution d'ABTS, est ajouté à 50 μ L de solution d'AgClNPs, puis incubé pendant 30 mn à l'obscurité. L'acide ascorbique est utilisé comme un contrôle positif et l'essai est répété trois fois. L'absorbance est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 734 nm à l'aide du spectrophotomètre.

II.4.2.3 Capacité antioxydante totale (CAT)

Le protocole de Sriranjani *et al.* [232], a été utilisé pour évaluer l'activité de piégeage du phosphomolybdate. Une série de concentration des AgClNPs a été préparée dans de l'eau désionisée (100, 80, 60, 40, 20, 10 et 5 μ g/mL). Une solution de réactif phosphomolybdate composée de phosphate de sodium (28 mM), d'acide sulfurique (0,6 M) et de phosphomolybdate (4 mM) a été mélangée avec AgClNPs dans un rapport volumique 10 :1 (v/v). Le mélange a été incubé à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement des échantillons, l'absorbance a été mesurée à 695 nm. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence. Les résultats sont exprimés en μ g EAA/ mg des AgClNPs.

II.5 Evaluation *in vitro*, *in vivo* et *in silico* de la cytotoxicité des AgClNPs biosynthétisées

Les principes fondamentaux de la toxicologie verte soulignent la nécessité de prendre en compte la sécurité dès le début de la création de médicaments et de produits chimiques. Cela implique l'utilisation de méthodes de conception plus sûres qui réduisent les dangers, ainsi que des méthodes d'évaluation prédictive et précoce de la toxicité. Non seulement ces procédures réduisent le risque de conséquences négatives, mais elles rendent également le processus de test plus durable en réduisant le recours à des expérimentations animales à grande échelle, en réduisant les coûts et en limitant l'impact environnemental [233].

L'étude de la cytotoxicité *in vitro* permet d'identifier rapidement leur impact direct sur la viabilité et la prolifération des cellules, fournissant ainsi une première indication de leur biocompatibilité et de leur potentiel toxique. Ainsi que l'étude *in vivo* de la cytotoxicité des AgClNPs apporte des informations essentielles sur la morphologie de l'organisme, reflétant mieux leur comportement réel dans un contexte biologique. De plus, l'approche *in silico*, à travers la modélisation et la simulation informatique offre une prédiction rapide et économique des interactions moléculaires et cellulaires, permettant de déterminer la classe de toxicité des AgClNPs biosynthétisés et la probabilité et la prédiction aux organes humains et l'écotoxicité.

II.5.1 Test de viabilité de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

Le potentiel cytotoxique des AgCINPs biosynthétisés a été évalué à l'aide d'un test de sensibilité et de viabilité de croissance impliquant la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Une solution mère du composé a été préparée à 10 mg/mL dans un tampon phosphate de potassium 100 mM (pH 7,0). À partir de cette solution mère, six dilutions en série de 2 fois ont été réalisées pour obtenir des concentrations finales de 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312 et 0,156 mg/mL, en utilisant des volumes égaux d'AgCINPs et de tampon pour atteindre 1 ml à chaque étape de dilution.

Les cellules de levure ont été cultivées pendant une nuit dans un bouillon YPD, récoltées par centrifugation et remises en suspension dans du milieu frais pour atteindre une densité cellulaire finale de 2×10^7 cellules/mL. Pour chaque condition de test, des volumes égaux de suspension de levure et de chaque dilution d'AgCINPs ont été mélangés dans des microplaques stériles à 96 puits. Les plaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 30 minutes afin de permettre l'interaction AgCINPs-cellule. Les puits témoins contenaient des cellules de levure traitées avec le tampon seul.

Après incubation, 2,5 µL de chaque mélange traité ont été soigneusement déposés sur des plaques de gélose YPD additionnées de 2% de glucose. Pour chaque concentration, des plaques dupliquées ont été utilisées : une contenant le composé (plaque d'exposition) et une sans (plaque de récupération), permettant d'évaluer les effets cytostatiques et cytocides. Les plaques ont été incubées à 37°C pendant 48 heures en conditions aérobies.

Après la période d'incubation, la croissance des levures a été évaluée visuellement et documentée à l'aide d'un scanner à plat (Epson®). La taille et l'intensité des taches de levure ont été comparées entre les échantillons traités et témoins afin de déterminer le degré d'inhibition de la croissance [234].

II.5.2 Test de létalité sur *Artemia salina* (toxicité aiguë)

La toxicité aiguë des AgCINPs biosynthétisés a été évaluée à l'aide du bio-essai de létalité sur *Artemia salina*, un modèle largement accepté et rentable pour le criblage préliminaire de la toxicité des composés naturels et synthétiques. La méthode a été adaptée et optimisée sur la base de protocoles antérieurs [235] avec des modifications légères pour améliorer la compatibilité des microplaques et la reproductibilité analytique.

Éclosion d'Artemia salina

Les larves nauplii d'*Artemia salina* ont été obtenus par incubation de kystes dans de l'eau de mer artificielle (préparée avec du sel marin commercial à 35 g/L) sous illumination continue et aération douce pendant 24 à 48 heures à température ambiante (~25°C). Seuls des nauplii nageant activement ont été utilisés dans le bio-essai afin de garantir la viabilité et une sensibilité constante.

Préparation des échantillons

Une solution mère de nanoparticules de chlorures d'argent a été préparée en dissolvant 4 mg d'AgClNPs dans 1 mL d'un mélange de solvants contenant 50 µL de méthanol et 950 µL d'eau de mer artificielle, garantissant une concentration finale en méthanol de 0,05 %, ce qui se situe dans la plage de non-toxicité pour les larves d'*Artemia salina*. La solution a été vortexée pour assurer son homogénéité et préparée fraîchement avant chaque expérience.

Procédure de bio-essai

Dans une microplaque stérile de 96 puits, chaque puit a été rempli de 100 µl d'eau de mer contenant environ 20 larves viables d'*Artemia salina*, puis de 80 µL d'eau de mer artificielle et de 20 µL de la solution d'essai d'AgClNPs pour atteindre la concentration d'essai souhaitée. Les microplaques ont été incubées pendant 24 heures à température ambiante sous lumière constante afin de simuler les conditions naturelles et de garantir l'activité métabolique des larves.

Post-incubation et évaluation

Après incubation, le nombre de larves survivantes dans chaque puits a été compté au stéréomicroscope. Les larves étaient considérées comme mortes si elles ne bougeaient pas pendant l'observation.

Témoins et répliqués

Tous les traitements ont été réalisés en triple, et un groupe témoin positif traité au dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) a été inclus pour valider la sensibilité du test. Un témoin négatif (méthanol à 0,05 % dans de l'eau de mer) a été utilisé pour confirmer l'absence de toxicité liée au solvant [236].

II.5.3 Prédiction de toxicité

Les propriétés toxicologiques potentielles des nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisé ont été évaluées à l'aide de la plateforme de prédiction ProTox-III. Cet outil *in*

silico a permis une évaluation complète de leur profil de sécurité en identifiant les types de toxicité possibles (tels que l'hépatotoxicité, la cancérogénicité, l'immunotoxicité, la mutagénicité et la cytotoxicité), en estimant la dose létale médiane (DL₅₀) et en classant les nanoparticules dans la classe de toxicité correspondante selon des critères mondialement reconnus. Une telle prédiction intégrée de la toxicité est essentielle, car elle permet d'alerter précocement sur les risques potentiels des AgClNPs, de minimiser le recours aux tests sur les animaux et de favoriser le développement de nanomatériaux plus sûrs pour les applications biomédicales et pharmaceutiques [237].

L'analyse statistique des données expérimentales a été réalisée à l'aide du logiciel OriginLab 2018. La normalité des données a été testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Comme les données suivaient une distribution normale ($P > 0,05$), une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée suivie par le test de Tukey qui a été utilisé pour examiner les différences statistiquement significatives entre les échantillons. Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ écart-type et une valeur de ($P < 0,05$) a été considérée comme statistiquement significative.

En conclusion, l'ensemble des protocoles décrits dans ce chapitre constitue la base expérimentale de cette recherche. Ces approches méthodologiques permettront, dans le chapitre suivant, de présenter et d'interpréter les résultats obtenus afin de dégager des conclusions scientifiques solides sur l'efficacité et la biocompatibilité des nanoparticules biosynthétisées.

Chapitre III

*Bactéries multirésistantes dans
la région d'Ouargla*

Ce chapitre rassemble l'ensemble des résultats obtenus pendant l'étude rétrospective portant sur les bactéries multirésistantes à l'hôpital publique d'Ouargla, visant à analyser leur fréquence, leur profil de résistance ainsi que leur répartition selon le sexe, les types d'échantillons et les services médicaux. De plus, l'identification et l'antibiogramme des bactéries pathogènes collectées à partir de différents laboratoires médicaux de la région d'Ouargla.

III.1 Etude rétrospective sur les bactéries multirésistantes

Au cours de l'année 2023, les dossiers de patients recueillis au niveau de l'hôpital Mohamed Boudiaf et analysés étaient 2736. Parmi eux, 2 558 (93,4 %) ont été exclus en raison de résultats négatifs, tandis que 178 (6,5 %) ont été inclus dans l'étude comme cas positifs. Parmi ceux-ci, 43 (24,16%) ont été identifiés comme multirésistants et 135 (24,16%) non multirésistants, la distribution statistique de ces bactéries est significative ($P = 0,02$).

III.1.1 Répartition des bactéries multirésistantes selon le sexe

En 2023, à l'hôpital Mohamed Boudiaf de Ouargla. Le taux de bactéries sensibles était supérieur à celui des multirésistantes chez les femmes et les hommes, avec une différence significative ($P = 0,02$). 24 femmes sont atteintes de multirésistance contre 19 hommes, ce qui donne un ratio femmes/hommes (F/H) de 1,26. Bien que numériquement plus de femmes soient touchées, la différence n'était pas statistiquement significative ($P = 0,86$) (Figure 4).

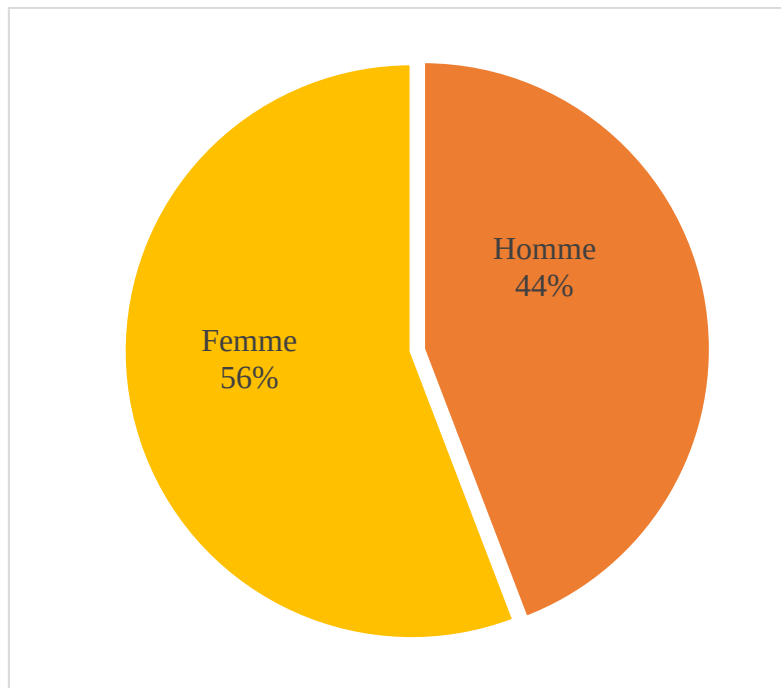


Figure 4 : Prévalence des BMR selon le sexe.

III.1.2 Répartition des bactéries multirésistantes selon les services

La répartition des bactéries multirésistantes et non multirésistantes entre les services hospitaliers est présentée dans le tableau 5.

Tableau 6: Prévalence des BMR selon le service.

		BMR	
		(n)	(%)
Unité de soins intensifs (USI)		9	21
Pédiatrie		3	16
Ophtalmologie		3	7
Centre de cancérologie		3	7
Traumatologie		1	3
Maladies infectieuses		1	2
Hémodialyse		1	2
Médecine	Femmes	7	16
	Hommes	4	9
Chirurgie	Femmes	5	12
	Hommes	6	14
Totale		43	100

BMR : bactéries multirésistantes, n : fréquence, % : pourcentage.

Des bactéries multirésistantes ont été isolées et identifiées dans 11 des 13 services médicaux examinés au cours de la période d'étude. Les différences observées entre les services n'étaient pas statistiquement significatives ($P > 0,05$). De même, aucune différence significative n'a été relevée entre la proportion de bactéries sensibles et celle de bactéries multirésistantes dans l'ensemble des services ($P > 0,05$). Le taux le plus élevé de résistance a été enregistré en unité de soins intensifs (USI) avec 21% ($n=9$), suivi par le service de médecine femme 16% ($n=7$), tandis que le taux le plus faible a été observé au niveau du service des maladies infectieuses et l'hémodialyse avec 2% ($n=1$). Cette forte prévalence en unité de soin intensif met en évidence la nécessité urgente de renforcer la gestion des antimicrobiens et les mesures de prévention et de contrôle des infections.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de plusieurs chercheurs ces dernières années, y compris l'étude menée par Moriyama *et al.* [238] au Japon, qui ont rapporté que le taux de bactéries multirésistantes est de 35,6% chez les patients hospitalisés ou ceux retenus en

consultation externe à l'étranger au cours des 12 mois précédents. Ainsi que, l'étude algérienne menée par Benzaid *et al.* (2022) dans l'unité de réanimation médicale abouti a des résultats cohérents avec les nôtres, avec une prévalence significative de BMR chez les femmes (53,80%) et les hommes (46,20%). De plus, l'unité de soins intensifs (USI) est la plus touchée par les bactéries multirésistantes pendant la période d'étude, comme le rapportent Harzallah *et al.* (2022) qui ont classé l'USI comme une unité à haut risque où séjournent les patients immunodéprimés, avec un taux global d'épisodes d'infection de 18% parmi les patients hospitalisés à l'USI de l'hôpital de Constantine. De meme, des resultats similaires aux notres ont ete rapportes par Carvalho-Brugger *et al.* [239] et Strazzulla *et al.* [240], dans les unités de soins intensifs en Espagne et en France, respectivement.

III.1.3 Répartition des bactéries multirésistantes selon l'échantillon pathologique

Le tableau 6 résume la répartition et le taux de résistance des bactéries multirésistantes dans divers échantillons pathologiques. Les bactéries isolées du pus ont montré un taux de BMR élevé par rapport aux autres échantillons (n = 22 ; 51,2%), réparties entre *Acinetobacter baumannii* (n = 9), suivi d'*Esherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (n = 4) pour chacun, puis de *Pseudomonas aeruginosa* (n = 2), le reste étant réparti entre *Enterobacteriaceae* sp. Le taux de BMR dans l'examen cytobactériologique de l'urine est (n = 9 ; 21%), réparti entre *Esherichia coli* (n = 4), *Klebsiella* sp. et *Acinetobacter baumannii* (n = 2) pour chacun, et enfin *Enterobacteria cloacae* avec (n = 1). Le reste de BMR se répartit dans les échantillons de liquide de drainage, de cathéter, du distal protégé, de liquide péritonéal, de liquide séreux, de liquide céphalo-rachidien, de cathéter et d'hémoculture.

Tableau 7: Taux des bactéries multirésistantes dans différents échantillons pathologiques recueillis au niveau de l'hôpital Med Boudiaf.

Echantillon	<i>Enterobacteriaceae</i>																		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Acinetobacter baumannii</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	<i>Escherichia coli</i>			<i>Klebsiella</i> sp.			<i>Serratia marcescens</i>			<i>Citrobacter koseri</i>			<i>Enterobacter cloacae</i>			<i>Morganella morganii</i>			S	R	P-value	S	R	P-value	S	SARM	P-value
	S	R	P-value	S	R	P-value	S	R	P-value	S	R	P-value	S	R	P-value	S	R	P-value									
Pus	24	4	0.01	6	1	0.18	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	10	2	0.07	0	9	0.11	15	4	0.09
ECBU	23	4	0.01	6	2	0.4	0	0		1	0	1	0	1	1	0	0		4	0	0.11	0	2	0.48	0	0	
LD	0	0		0	0		0	1	1	0	0		0	0		0	0		3	0	0.22	0	1	1	0	0	
EC	0	1	1	0	0		0	0		0	1		0	0		0	0		0	1	1	0	0		0	0	
DP	0	0		0	2	0.48	0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		0	2	0.42	0	0	
LP	1	1	1	1	0	1	0	0		0	0		1	0	1	0	0		0	0		0	0		0	0	
LCR	0	1	1	0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		0	0	
HC	0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		0	0		1	1	1	0	0	

S : sensible ; R : résistant, SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, ECBU : Examen cyto bactériologique des urines, LD : Liquide de drainage, EC : Échantillon de cathéter, DP : distal protégé, LP : Liquide péritonéal, LCR : Liquide céphalorachidien, HC : Hémoculture.

Pour les entérobactéries du pus, *Escherichia coli* a montré un profil de résistance significatif avec 24 isolats sensibles et 4 résistants ($P = 0,01$), tandis que *Klebsiella* sp. a montré 6 isolats sensibles contre 1 isolat résistant ($P = 0,18$). D'autres entérobactéries, dont *Serratia marcescens*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii*, ont montré des profils de résistance variables selon les échantillons, plusieurs comparaisons atteignant une signification statistique. Alors que le groupe des non-entérobactéries isolé du pus a de nouveau révélé une tendance inquiétante. Les isolats d'*Acinetobacter baumannii* ont montré une résistance (0 sensible contre 9 résistants ; $P = 0,11$), tandis que *Pseudomonas aeruginosa* a montré résistance (10 sensibles contre 2 résistants ; $P = 0,075$). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline a également montré une résistance considérable, notamment dans les échantillons de pus (15 sensibles contre 4 résistants ; $P = 0,09$). Globalement, ces résultats soulignent la distribution hétérogène des bactéries multirésistantes dans différents échantillons biologiques en milieu hospitalier, les échantillons de pus constituant un réservoir important de pathogènes résistants. Ces résultats sont similaires à ceux de différentes études, telles que l'étude rétrospective menée dans un centre tertiaire au Japon par Moriyama *et al.* [238], qui ont rapporté un taux de positivité urinaire de 15,4 % ($n = 2$). D'autre part, une étude menée par Nobel *et al.* [241] a rapporté que *Pseudomonas* sp. était la bactérie multirésistante la plus prédominante dans l'échantillon de pus.

III.1.4 Profils de résistance des bactéries multirésistantes à divers antibiotiques

La figure 5 dresse les profils de résistance des bactéries multirésistantes à divers antibiotiques. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) excluant *Escherichia coli* et *Klebsiella* sp. présentent une résistance de 100 % à l'ampicilline, à l'amoxicilline + acide clavulanique et à la céfoxitine, ainsi qu'une résistance de 75 % à l'amikacine et au céfotaxime, suivies de la céfazoline avec un pourcentage de résistance de 68 %, puis de la ciprofloxacine et du triméthoprim + sulfaméthoxazole avec un pourcentage de résistance de 60 %.

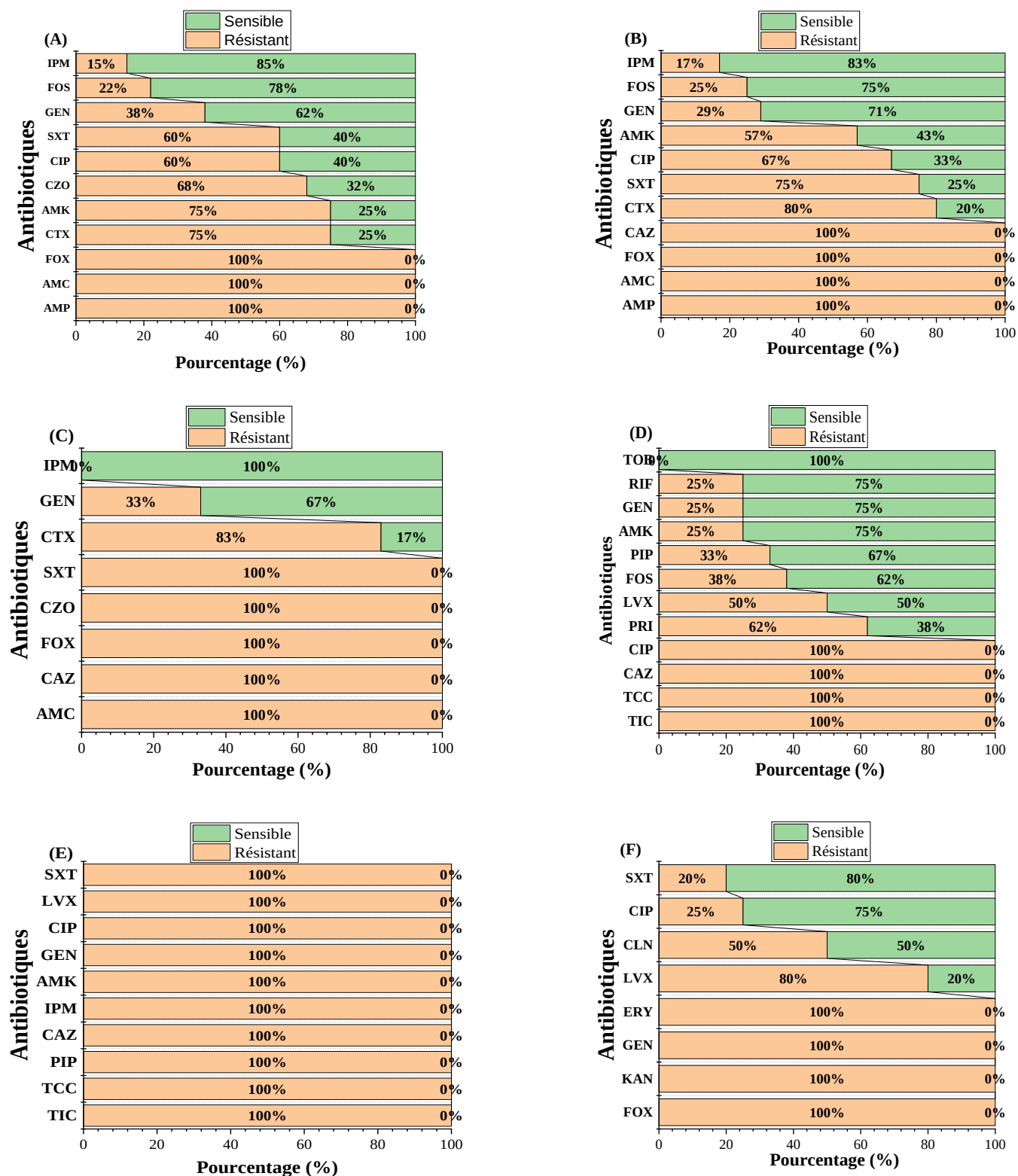


Figure 5: Profils de sensibilité et de résistance des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) (A), *Escherichia coli* (B), *Klebsiella pneumoniae* (C), *Pseudomonas aeruginosa* (D), *Acinetobacter* sp. (E) et *Staphylococcus aureus* (F) (amoxicilline + acide clavulanique (AMC); ampicilline (AMP); cefotaxime (CTX); cefoxitine (FOX); ceftazidime (CAZ); imipenème (IPM); piperacilline (PIP); ticarcilline (TIC); ticarcilline + acide clavulanique (TCC); amikacine (AMK); gentamicine (GEN); chloramphenicol (CHL); colistine (COL); triméthoprim + sulfaméthoxazole (SXT); ciprofloxacine (CIP); lévofloxacine (LVX); fosfomycine (FOS); céfazoline (CZO); clindamycine (CLN); kanamycine (KAN); érythromycine (ERY); tobramycine (TOB)).

Le profil de résistance d'*Escherichia coli* productrices des bêta-lactamases aux antibiotiques montre une résistance élevée (100 %) à l'ampicilline, à l'amoxicilline + acide clavulanique, à la céfoxitine et au ceftazidime. Une résistance est également notable pour le céfotaxime (80 %), ainsi que pour le triméthoprim + sulfaméthoxazole à 75 %. La ciprofloxacine et l'amikacine présentent des taux de résistance respectifs de 67 % et 57 %. *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamases présente une résistance complète à plusieurs antibiotiques tels que l'amoxicilline + acide clavulanique, la céfoxitine, le ceftazidime, la céfazoline et le triméthoprim + sulfaméthoxazole. Un pourcentage significatif de résistance (83 %) est également observé pour le céfotaxime. Toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées à l'hôpital en 2023 étaient résistantes à la ticarcilline, à la ticarcilline + acide clavulanique, à la céftazidime et à la ciprofloxacine. *Acinetobacter baumannii* isolée à l'hôpital présentait une résistance élevée (100 %) à la plupart des antibiotiques testés. Les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline isolées à l'hôpital en 2023 présentaient un taux de résistance très élevé (100 %) à la céfoxitine, à la kanamycine, à l'érythromycine et à la gentamicine, suivies par la lévofloxacine (80 %) et la clindamycine (50 %).

Le pourcentage de résistance des bactéries aux antibiotiques a l'hôpital Mohamed Boudhief en 2023 varie selon la bactérie et l'antibiotique. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont résistantes à l'ampicilline, à l'amoxicilline + acide clavulanique, à la céftazidime et à la céfoxitine, à l'exception de *Klebsiella pneumoniae*, naturellement résistante à l'ampicilline. De même, tous les *Acinetobacter baumannii* isolés de l'hôpital de Ouargla (n = 15) en 2023 présentent une résistance totale aux bêta-lactamines testées, à savoir la céftazidime, l'imipénème, la pipéracilline, la ticarcilline + acide clavulanique et la ticarcilline, ainsi que toutes les souches résistantes à l'amikacine et à la gentamicine de la famille des aminosides. Outre tous les *Acinetobacter baumannii* résistants aux antibiotiques quinolones, sulfamides et dérivés. Ainsi que, tous les *Pseudomonas aeruginosa* (n = 3) étaient résistants à la quinolone. De plus, tous les *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (n = 4) étaient résistants au antibiotique de la famille bêta-lactamine, aux aminosides, et au macrolide.

Les résultats de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont reflétés dans divers projets de recherche nationaux et internationaux, notamment l'étude menée par Benammar *et al.* [242] en Algérie, qui a montré que 95 % des entérobactéries étaient résistantes à l'amikacine et 78 % étaient résistantes aux aminopénicillines et à l'amoxicilline. En 2020, le Comité algérien de normalisation a expliqué la résistance accrue des entérobactéries à la famille des beta-

lactamines par le développement de mécanismes permettant la résistance à un large éventail de beta-lactamines, notamment les céphalosporines de troisième génération et les carbapénèmes. Ces mécanismes impliquent principalement les enzymes beta-lactamases, telles que les céphalosporinases AmpC, les beta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et les carbapénémases. Chaque type d'enzyme présente un profil de résistance aux beta-lactamines distinct, identifiable par antibiogramme. Une étude distincte de Foka Fonkam *et al.* (2023) à Yaoundé a démontré qu'*Escherichia coli* présentait un taux élevé de résistance aux quinolones, à l'amoxicilline et aux aminopénicillines. Dans une enquête distincte de Zhang *et al.* [243], les bactéries *E. coli* isolées de l'unité de gynécologie pédiatrique ont montré une résistance à la ciprofloxacine et à la céfazoline (50 %), à l'ampicilline (90,91 %) et au triméthoprim-sulfaméthoxazole (63,64 %). En revanche, la recherche de sensibilité aux médicaments a révélé que *Klebsiella pneumoniae* avait un taux de résistance à l'ampicilline de 100 % et un taux de résistance de 10 % ou moins aux autres antibiotiques. Une autre étude rétrospective a été menée dans deux hôpitaux tertiaires de l'est de l'Ouganda par Obakiro *et al.* [244], qui ont rapporté qu'*Escherichia coli* et *K. pneumoniae* étaient résistants à plusieurs agents, dont l'amoxicilline/acide clavulanique, le céfotaxime, la ciprofloxacine, la gentamicine, l'imipénème, la tétracycline et le triméthoprim-sulfaméthoxazole.

Des études menées en 2023 par les chercheurs Markkanen *et al.* [245] et Taghreed *et al.* [246] au Burkina Faso et en Arabie saoudite, respectivement, ont montré que *Pseudomonas* présentait une forte résistance à la tobramycine, à la ticarcilline, à la céftazidime, à la pipéracilline, à la ciprofloxacine, à l'amikacine, à la lévofloxacine et à la ticarcilline + acide clavulanique.

Les résultats d'une étude jordanienne menée par Al-Tamimi *et al.* [247] ont montré qu'*Acinetobacter baumannii* était résistant aux antibiotiques bêta-lactamines tels que la céftazidime, l'imipénème, les aminosides (amikacine et gentamicine), les quinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine) et le triméthoprim + sulfaméthoxazole. Une autre étude menée par Motbainor *et al.* [248] en Éthiopie a rapporté qu'*Acinetobacter baumannii* était résistant à la pipéracilline, à la céftazidime et à la ciprofloxacine. Une autre étude menée par Guimarães *et al.* [249] au Brésil a rapporté que *Staphylococcus* présentait une résistance de 98,73 % aux macrolides (clindamycine et érythromycine), aux bêta-lactamines (oxacilline et céfoxitine) et aux aminosides (amikacine).

III.2 Bactéries pathogène collectées

Pendant la période d'étude de mars à décembre 2023, 15 souches pathogènes ont été collectées à partir des laboratoires médicaux dans la région d'Ouargla. L'échantillon, le site et la date de prélèvement sont présentées dans le tableau 7.

Tableau 8: Echantillon, site et date de prélèvement des bactéries pathogènes collectées.

Code	Echantillon	Site de prélèvement	Date de prélèvement	Laboratoire
M1	Urine	/	19.05.2023	Elmanar
M2	Pus	Abcès appendiculaire	24.05.2023	Elmanar
M3	Pus	Abcès abdominaux	20.05.2023	Elmanar
M4	Pus	Plaie poste opératoire	15.06.2023	Cherbi
M5	Pus	Plaie poste opératoire	15.06.2023	Cherbi
M6	Pus	Plaie poste opératoire	15.06.2023	Cherbi
M7	Pus	Abces	20.06.2023	Belaid
M8	Urine	/	14.11.2023	Elmanar
M9	Urine	/	10.6.2023	Ibn sina
M11	Pus	Abces	18.6.2023	Ibn sina
M12	Pus	Plaie interfessière	17.12.2023	Cherbi
M13	Urine	/	19.12.2023	Cherbi
M14	Pus	Abces	20.12.2023	Cherbi
M15	Urine	/	20.11.2023	Elamel
M16	Urine	/	24.11.2023	Elamel

Les bactéries collectées ont des origines pathologiques différentes 9 souches isolés à partir du pus réparti dans différents sites de prélèvement dont 3 isolés à la plaie post-opératoire, 1 abcès appendiculaire, 1 abcès abdominaux, 1 plaie interfessière et 3 abcès superficielles, et 7 souches sont isolés aux urines.

III.2.1 Identification des bactéries collectés

III.2.1.1 Identification phénotypique

Les observations obtenues sur le milieu CHROMagar™ Orientation ont permis une identification rapide et fiable de principales bactéries pathogènes collectées. La différence de

coloration et d'aspect entre les colonies résulte de la spécificité enzymatique de chaque espèce (production ou non de beta-glucuronidase, formation de capsule, production de pigments, etc.).

Les résultats de l'identification macroscopique des isolats bactériens collectés sur le milieu CHROMagar™ Orientation ont révélé la présence de trois genres bactériens distincts.

Premièrement, on observe des colonies rondes, lisses et brillantes, de couleur rose. Cette teinte caractéristique indique une activité beta-glucuronidasique positive, spécifique des entérobactéries du genre *Escherichia*. Donc, selon la coloration observée et les caractères morphologiques, l'isolat est identifié comme *Escherichia coli* [250].

Deuxièmement, les colonies apparaissent grandes, épaisses, brillantes et très muqueuses, avec une couleur bleu-vert à bleu métallique. Cet aspect visqueux traduit la présence d'une capsule abondante, typique des bactéries du genre *Klebsiella*. Donc ces caractéristiques permettent d'identifier la souche comme *Klebsiella pneumoniae* [251][252].

Troisièmement, les colonies observées sont beige clair à translucides, parfois avec de légers reflets verdâtres, et présentent un aspect sec ou légèrement rugueux. Une odeur fruitée se dégage du milieu, ce qui oriente fortement vers un *Pseudomonas* [253]. Donc ces observations sont compatibles avec une souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Identification microscopique

L'observation microscopique des isolats collectés après coloration de Gram montre que toutes les bactéries collectées de couleur rose indiquent que ces souches sont de Gram négatif.

III.2.1.2 Identification biochimique des isolats bactériens par VITEK®2

Les résultats de l'identification biochimique par VITEK®2 des souches collectées sont présentés dans le tableau 8 et l'annexe 4. L'identification biochimique par le système automatisé VITEK®2 des 15 souches collectées révèle que la souche prédominante est *E. coli* (n = 8 ; 53.4%) suivie par *Pseudomonas aeruginosa* (n = 3 ; 20%), *Klebsiella aerogenes* (n = 2 ; 13.3%), *Klebsiella pneumoniae* (n = 2 ; 13.3%), avec des probabilités entre 85 et 99%.

Tableau 9: Identification biochimique des isolats collectés par VITEK®2

	code	1 APPA	2 H2S	3 BGLU	4 ProA	5 SAC	6 ILAT	7 GlyA	8 O129	9 ADO	10 BNA	11 dMAL	12 LIP	13 dTAG	14 AGL	15 ODC	16 GGA	17 PyrA	18 AGLT	19 dMA	20 PLE	21 dTRE	22 SUCT	23 LDC	24 IMLT	25 IARL	26 dGLU	27 dMNE	28 TyrA	29 CIT	30 NAG	31 NAG	32 ELLM	33 dCEL	3 GGT	35 BXYL	36 URE	37 MNT	38 AGA	39 CMT	40 ILATa	41 BGAL	42 OFF	43 Balap	44 dSOR	45 5KG	46 PHOS	47 BGU	Espèce
M1	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	P. aeruginosa				
M2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	K. aerogenes			
M3	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. coli			
M4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	K.pneumoniae		
M5	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	E. coli		
M6	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	K. pneumoniae		
M7	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	P. aeruginosa		
M8	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	E. coli		
M9	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	K. aerogenes	
M11	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	P. aeruginosa		
M12	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. coli		
M13	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. coli		
M14	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	E. coli	

M15	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+		<i>E. coli</i>		
M16	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+		<i>E. coli</i>

Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA), ADONITOL (ADO), L-Pyrrolidonyl-Arylamidase (PyrA), L-ARABITOL (IIARL), D-CELLOBIOSE (dCEL), BETA-GALACTOSIDASE (BGAL), PRODUCTION DE H₂S (H₂S), BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE (BNAG), Glutamyl Arylamidase pNA (AGLTp), D-GLUCOSE (dGLU), GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE (GGT), FERMENTATION / GLUCOSE (OFF), BETA-GLUCOSIDASE (BGLU), D-MALTOSE (dMAL), D-MANNITOL (dMAN), D-MANNOSE (dMNE), BETA-XYLOSIDASE (BXYL), BETA-Alanine arylamidase pNA (BALap), L-Proline ARYLAMIDASE (ProA), LIPASE (LIP), PALATINOSE (PLE), Tyrosine-ARYLAMIDASE (TyrA), UREASE (URE), D-SORBITOL (dSOR), SACCHAROSE/SUCROSE (SAC), D-TAGATOSE (dTAG), D-TREHALOSE (dTRE), CITRATE (SODIUM) (CIT), MALONATE (MNT), 5-KETO-D-GLUCONATE (5KG), Alcalinisation du L-LACTATE (ILATk), ALPHA-GLUCOSIDASE (AGLU), Alcalinisation du SUCCINATE (SUCT), Beta-N-AC2TYL-GALACTOSAMINIDASE (NAGA), ALPHA-GALACTOSIDASE (AGAL), PHOSPHATASE (PHOS), Glycine ARYLAMIDASE (GlyA), ORNITHINE DECARBOXYLASE (ODC), LYSINE DECARBOXYLASE (LDC), BASE DE DECARBOXYLASE (ODEC), Assimilation de la L-HISTIDINE (IHISa), COUMATATE (CMT), BETA-GLUCURONIDASE (BGUR), RESISTANCE O/129 (comp. Vibrio.) (O129R), Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE (GGAA), Assimilation du L-MALATE (IMLTa), ELLMAN (ELLM), Assimilation du L-LACTATE (ILATa).

L'identification biochimique automatisée réalisée à l'aide du système VITEK®2 a permis de confirmer la présence de bactéries pathogènes appartenant majoritairement au *Enterobacteriaceae* et à celui des *Pseudomonas*. Parmi les quinze souches analysées, *Escherichia coli* s'est révélée être l'espèce la plus prédominante, représentant 53,4 % des isolats. Cette dominance est cohérente avec de nombreuses études menées dans des milieux hospitaliers, où *E. coli* constitue l'un des principaux agents responsables des infections d'origine nosocomiale [254].

La présence de *Pseudomonas aeruginosa* (20 %) en deuxième position peut être attribuée à sa capacité d'adaptation exceptionnelle dans les environnements hospitaliers humides, notamment les unités de soins intensifs, les dispositifs médicaux et les plaies postopératoires. Ce pathogène opportuniste représente une menace croissante pour la prise en charge thérapeutique, surtout dans les cas d'infections chroniques ou de patients immunodéprimés [255].

Les souches de *Klebsiella aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* (13,3 % chacune) observées dans cette étude confirment la diversité des entérobactéries isolées et leur implication fréquente dans les infections nosocomiales.

Le profil biochimique correspondant, caractérisé par la production de capsule et l'absence d'activité beta-glucuronidasique, concorde avec les données de la littérature décrivant le comportement métabolique de ces espèces.

Les probabilités d'identification élevées obtenues (comprises entre 85 % et 99 %) témoignent de la fiabilité du système VITEK®2 dans la discrimination des différentes espèces bactériennes. Ce dispositif, reposant sur l'analyse d'un large spectre de réactions biochimiques miniaturisées, s'avère un outil efficace pour l'identification rapide des pathogènes cliniques, facilitant ainsi la mise en place de stratégies de traitement adaptées et de mesures de prévention ciblées.

En somme, ces résultats mettent en évidence la prédominance d'*Escherichia coli* parmi les isolats étudiés, suivie par *Pseudomonas aeruginosa* et les espèces du genre *Klebsiella*. Cette distribution reflète une situation typiquement observée dans les infections hospitalières, soulignant la nécessité d'un suivi continu de la flore bactérienne et d'une gestion rigoureuse des antibiotiques pour limiter la propagation des souches multirésistantes.

III.2.2 Profils de sensibilité aux antibiotiques

Les résultats de sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram-négatif ont été recueillis et identifiés par le système automatisé VITEK®2, qui calcule la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour chaque antibiotique testé et classe les bactéries comme sensibles (S), intermédiaires (I) et résistantes (R) conformément aux normes CLSI. 2024 (Tableau 9).

Tableau 10: Profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries collectées.**(a) Enterobacteriaceae fermentaire**

code	Antibiotiques	Antibiogramme																															
		AMP		AMC		TZP		CZO		FOX		CTX		CAZ		ERT		IPM		AMK		GEN		CIP		FOS		NIT		CHL		SXT	
	souches	MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC	
M2	K. aerogenes			≥32	R*	≥128	R	≥64	R	≥64	R*	8	R	≥64	R	≥8	R	8	R	≥64	R	≥16	R	≥4	R	≥256	R	≥512	R	≤2	R	160	R
M3	E. coli			≤2	R	≤4	S	≤4	R	≤4	R	≤0.25	S	16	R	≤0.12	S	≤0.25	S	≤2	S	≤1	S	≤0.25	S	≥256	R	≤16	S	4	S	≤20	S
M4	K. pneumoniae	≤2	R*	≤2	S	≤4	S	≤4	R	≤4	S	≥64	R	4	S	≤0.12	S	≤0.25	S	≤2	S	≤1	S	≤0.25	S	≥256	R	≤16	S	≤2	S	≤20	S
M5	E. coli	≥32	R	16	I	≤4	S	≥64	R	≤4	S	≥64	R	8	I	≤0.12	S	≤0.25	S	4	S	≥16	R	1	S	≤16	S	≤16	S	≤2	S	≥320	R
M6	K. Pneumoniae	≤2	R	≤2	S	≤4	S	≤4	R	≤4	S	8	R	16	R	≤0.12	S	≤0.25	S	≤2	S	≤1	S	≤0.25	S	≥256	R	≤16	S	≤2	S	≤20	S
M8	E. coli	≥32	R	≥32	R	≥128	R	≥64	R	8	S	16	R	≥64	R	4	R	2	I	≤2	S	≤1	S	0.5	S	64	R	128	R	8	S	≥320	R
M9	K. aerogenes			≤2	R*	≤4	S	16	R	32	R*	≤0.25	S	4	S	≤0.12	S	≤0.25	S	32	I	8	I	1	S	≥256	R	64	I	≤2	S	≤20	S
M12	E. coli			16	R	16	S	8	R	16	R	≤0.25	S	0.25	S	≤0.12	S	≤0.25	S	≤2	S	≥16	R	≥4	R	≤16	S	≤16	S	≥64	R	≥320	R
M13	E. coli	≥32	R	≥32	R	≥128	R	≥64	R	32	R	≥64	R	32	R	≤0.12	S	1	S	4	S	2	S	≥4	R	≥256	R	≤16	S	≥64	R	≥320	R
M14	E. coli			≤2	R	≤4	S	≤4	R	≥64	R	1	S	4	S	0.5	S	≤0.25	S	≥64	R	8	I	≥4	R	≥256	R	32	S	4	S	≥320	R
M15	E. coli	≥32	R	8	S	≤4	S	≥64	R	≤4	S	≤0.25	S	0.25	S	≤0.12	S	≤0.25	S	≤2	S	≤1	S	≤0.25	S	≤0.16	S	≤16	S	4	S	≤20	S
M16	E. coli	16	I	8	S	≤4	S	≤4	S	8	S	≤0.25	S	0.5	S	≤0.12	S	≤0.25	S	≤2	S	≤1	S	≤0.25	S	≤0.16	S	≤16	S	16	I	≤20	S

(b) *Enterobacteriaceae* non-fermentaire

code	Antibiotiques	Antibiogramme																									
		TIC		TCC		PIP		TZP		CAZ		FEP		IPM		MER		AMK		GEN		TOB		CIP		COL	
	souches	MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC		MIC	
M1	<i>P. aeruginosa</i>	≥128	R	≥128	R	≥128	R	≥128	R	≥64	R	≥64	R	≥16	R	8	R	≥64	R	≥16	R	≥16	R	≥4	R	2	S
M7	<i>P. aeruginosa</i>	≤8	S	≤8	S	≤4	S	≤4	S	≤1	S	≤1	S	0.5	S	≤0.25	S	≤2	S	≤1	S	≤1	S	≤0.25	S	≤0.5	S
M11	<i>P. aeruginosa</i>	≥128	R	≥128	R	≥128	R	≥128	R	16	I	8	I	2	S	8	R	8	S	≥16	R	≥16	R	≥4	R	4	I

CMI : concentration minimale inhibitrice, S : sensible, I : intermédiaire, R : résistant, AMP : ampicilline, AMC : amoxicilline/acide clavulanique, TZP : pipéracilline/tazobactam, CZO : céfazoline, FOX : céfoxitine, CTX : céfotaxime, CAZ : céftazidime, ERT : ertapénème, IPM : imipénème, AMK : amikacine, GEN : gentamicine, CIP : ciprofloxacine, FOS : fosfomycine, NIT : furane, CHL : chloramphénicol, SXT : triméthoprim + sulfaméthoxazole, TIC : ticarcilline, TCC : ticarcilline + acide clavulanique, PIP : pipéracilline, TZP : pipéracilline-tazobactam, FEP : céfépime, MER : méropénème, TOB : tobramycine, COL : colistine, * : Résistance naturelle.

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches collectées a montré que la majorité des souches sont résistantes à plusieurs antibiotiques couramment utilisés pour traiter les infections causées par ces bactéries, notamment les pénicillines (ampicilline, amoxicilline/clavulanate), les céphalosporines (céftazidime, céftriaxone, céfépime), les aminosides (gentamicine), les carbapénèmes (ertapénème, méropénème) et les fluoroquinolones (ciprofloxacine). La différence entre résistance et non-résistance des bactéries étudiées aux antibiotiques testés n'est pas significative pour les entérobactéries fermentaires ($P > 0,05$), tandis qu'elle est hautement significative pour les entérobactéries non fermentaires ($P \leq 0,01$) (Tableau 10).

Tableau 11: Pourcentages de résistance des bactéries aux antibiotiques testées

Families des antibiotiques	Antibiotiques	Entérobactéries fermentaires			Entérobactéries non fermentaires		
		R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)
Pénicillines	AMP	62.5	0	37.5	-	-	-
	AMC	62.5	12.5	25	-	-	-
	TZP	37.5	0	62.5	100	0	0
	TCC	-	-	-	100	0	0
	TIC	-	-	-	100	0	0
	PIP	-	-	-	100	0	0
Céphalosporines	CAZ	50	12.5	37.5	50	50	0
	CZO	100	0	0	-	-	-
	CTX	75	0	25	-	-	-
	FOX	50	0	50	-	-	-
	FEP	-	-	-	50	50	0
Carbapénèmes	IPM	12.5	12.5	75	50	0	50
	ERT	25	0	75	-	-	-
	MER	-	-	-	100	0	0
Fluoroquinolones	CIP	50	0	50	100	0	0
Aminoglycosides	AMK	25	0	75	50	0	50
	GEN	37.5	12.5	50	100	0	0

	TOB	-	-	-	100	0	0
Nitrofurantoines	NIT	25	0	75	-	-	-
Phoenicoles	CHL	37.5	0	62.5	-	-	-
sulfamides et les composés associés	SXT	75	0	25	-	-	-
Polypeptides	COL	-	-	-	0	50	50
Autres	FOS	75	0	25	-	-	-

S : sensible, I : intermédiaire, R : résistant, “-” : non testé, AMP : ampicilline, AMC : amoxicilline/acide clavulanique, TZP : pipéracilline/tazobactam, CZO : céfazoline, FOX : céfoxitine, CTX : céfotaxime, CAZ : céftazidime, ERT : ertapénème, IPM : imipénème, AMK : amikacine, GEN : gentamicine, CIP : ciprofloxacine, FOS : fosfomycine, NIT : furane, CHL : chloramphénicol, SXT : triméthoprim + sulfaméthoxazole, TIC : ticarcilline, TCC : ticarcilline + acide clavulanique, PIP : pipéracilline, TZP : pipéracilline-tazobactam, FEP : céfépime, MER : méropénème, TOB : tobramycine, COL : colistine.

Dans cette étude, le profil de résistance des entérobactéries fermentaires aux antibiotiques a montré que tous les bactéries (100%), étaient résistantes à la céfazoline (CZO), 75 % étaient résistantes au céfotaxime (CTX), à la fosfomycine (FOS) et au triméthoprim + sulfaméthoxazole, 62,5% étaient résistantes à l'ampicilline (AMP) et à l'amoxicilline + acide clavulanique (TCC), 50% étaient résistantes à la céfoxitine (FOX), à la céftazidime (CAZ) et à la ciprofloxacine (CIP), 37,5% des bactéries étaient résistantes à la gentamicine (GEN), au chloramphénicol et à la pipéracilline + tazobactam, 25% étaient résistantes à l'amikacine (AMK), au furane et à l'értapénème, et 12,5% étaient résistantes à l'imipénème. La résistance la plus élevée observée pour la céfazoline, tandis que la sensibilité la plus élevée a été notée pour l'imipénème. Le profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries non fermentatives (*Pseudomonas aeruginosa*) a montré que tous les isolats (100%) étaient résistants à la ticarcilline (TIC), à la ticarcilline + acide clavulanique (TCC), à la pipéracilline (PIP), à la pipéracilline + tazobactam (TAZ), au méropénème (MER), à la gentamicine (GEN), à la tobramycine (TOB) et à la ciprofloxacine (CIP). De plus, 50% des isolats étaient résistants à l'imipénème (IPM), à la céftazidime (CAZ), à l'amikacine (AMK) et à la FEP, et aucun isolat n'était résistant à la colistine (COL). Par conséquent, les *Pseudomonas aeruginosa* étudiés étaient plus résistants aux bêta-lactamines et aux aminosides que les autres classes d'antibiotiques. De plus, le système VITEK®2 a permis de détecter certains phénotypes de résistance, tels que la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), de carbapénémases et de céphalosporinases. Les résultats de l'analyse phénotypique des bactéries collectées (Annexe 4) sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 12: Caractéristiques phénotypiques des bactéries collectées

Code	Souche	Caractéristiques phénotypiques
M1	<i>P. aeruginosa</i>	Production de beta-lactamase à spectre étendu, carbapénémase et céphalosporinases haut niveau.
M2	<i>K. aerogenes</i>	Imperméabilité aux carbapénème Production de carbapénémase
M3	<i>E. coli</i>	/
M4	<i>K. pneumoniae</i>	Production de beta-lactamase à spectre étendu
M5	<i>E. coli</i>	Production de beta-lactamase à spectre étendu
M6	<i>K. pneumoniae</i>	Production de beta-lactamase à spectre étendu
M7	<i>P. aeruginosa</i>	/
M8	<i>E. coli</i>	Imperméabilité aux carbapénème Production de carbapénémase
M9	<i>K. aerogenes</i>	/
M11	<i>P. aeruginosa</i>	Production de céphalosporinases haut niveau
M12	<i>E. coli</i>	/
M13	<i>E. coli</i>	Production de beta-lactamase à spectre étendu et céphalosporinases haut niveau.
M14	<i>E. coli</i>	Production de beta-lactamase à spectre étendu
M15	<i>E. coli</i>	/
M16	<i>E. coli</i>	/

Concernant les caractéristiques phénotypiques des bactéries collectées, la production de bêta-lactamase représente une proportion élevée par rapport aux autres enzymes (60 %), suivie par la production de carbapénémase et de céphalosporinase de haut niveau (30 %). De plus, certaines souches présentent une résistance aux antibiotiques de la famille des carbapénèmes par imperméabilité, des bactéries résistantes aux polypeptides et des bactéries productrices d'enzymes bêta-lactamases de type AmpC.

Selon la standardisation algérienne. (2020), Dix bactéries collectées ont été classé comme des bactéries résistantes aux multiples antibiotiques (Figure 6).

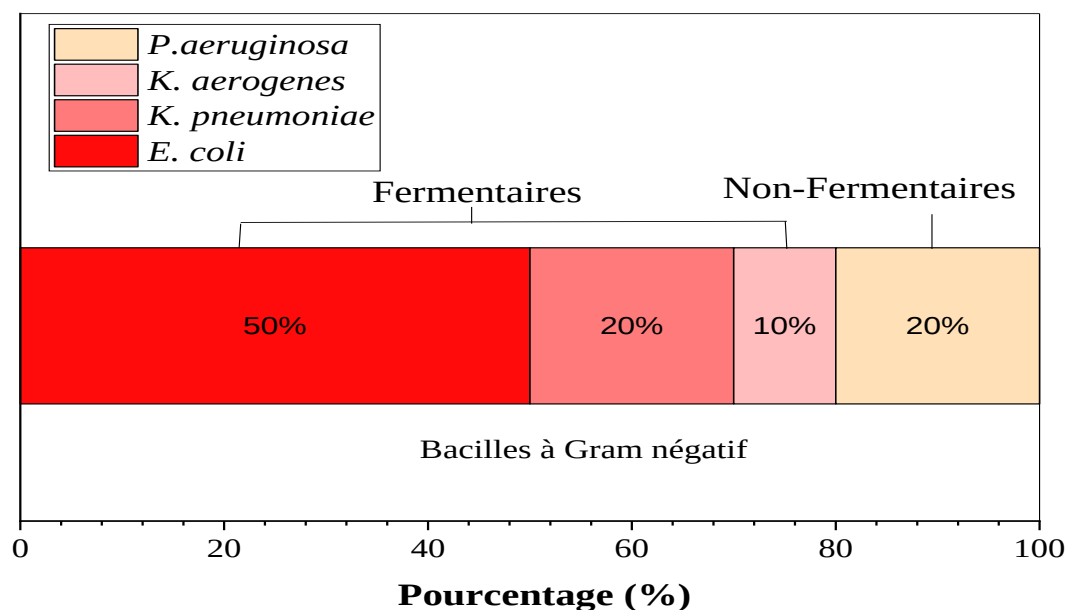


Figure 6: Prévalence des bactéries multirésistantes collectées.

D'après l'analyse des résultats, 60 % (n = 6) des souches collectées sont d'origine pus réparties sur quatre sites de prélèvement (trois plaies postopératoires, un abcès appendiculaire, un abcès abdominal et une plaie interfessière) et 40 % (n = 4) d'origine urinaire. Les résultats ont révélé une prédominance des bactéries à Gram négatif sur les bactéries à Gram positif, avec des pourcentages respectifs de 100 % et 0 %. Parmi les bactéries à Gram négatif, les entérobactéries fermentatives prédominaient sur les bactéries non fermentatives, avec des prévalences respectives de 80 % (n = 8) et 20 % (n = 2). *Escherichia coli* est la souche prédominante chez les entérobactéries fermentaires avec une prévalence de 50 % (n = 5), suivie de *Klebsiella pneumoniae* 20 % (n = 2) et enfin de *Klebsiella aerogenes* 10 % (n = 1). Les entérobactéries non fermentaires sont présentées par *Pseudomonas aeruginosa* (n = 2). Les résultats obtenus dans cette étude concordent avec ceux rapportés dans la littérature [256] [257] [258] [259] [260] [261]. La résistance bactérienne à diverses classes d'antibiotiques, associée à une faible perméabilité de l'enveloppe cellulaire, à la présence de pompes d'efflux qui éliminent les antibiotiques des cellules, à des systèmes de détoxification, à la présence de porines et à des mutations chromosomiques, a conduit à l'émergence de nouvelles superbactéries résistantes aux antimicrobiens [262][9] (Figure 7).

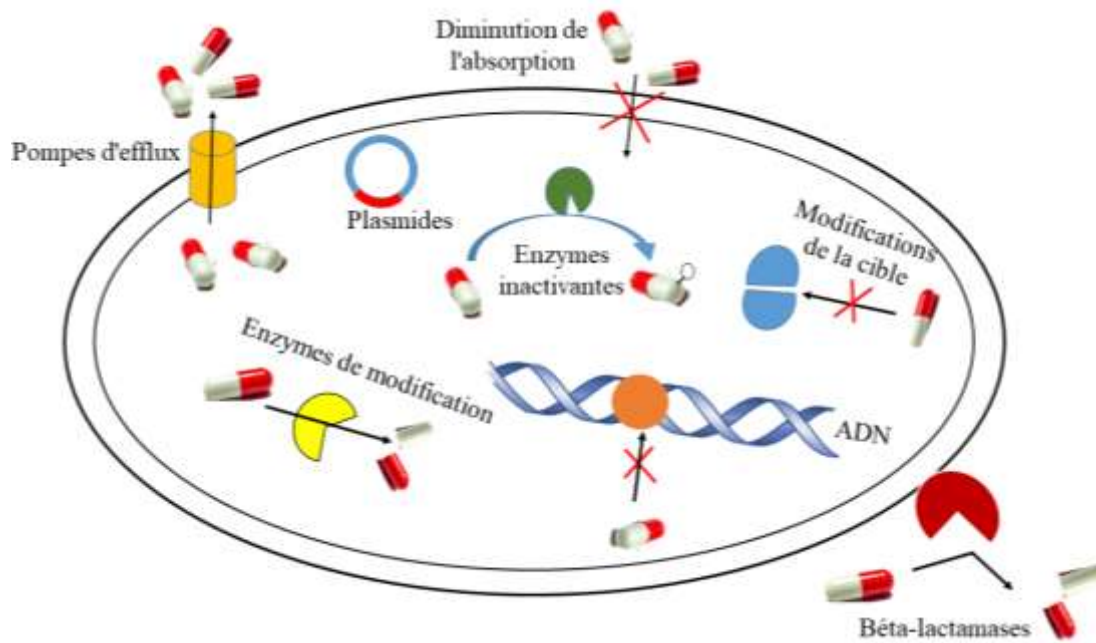


Figure 7: Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques.

La dégradation enzymatique des antibiotiques représente l'un des mécanismes de résistance les plus courants et les plus efficaces. Les bêta-lactamases, par exemple, ciblent spécifiquement les antibiotiques bêta-lactamines tels que les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames en hydrolysant le cycle bêta-lactamine, une structure essentielle à leur fonction bactéricide [58]. La résistance médiée par les bêta-lactamases à spectre étendu implique la production d'EBLS, des enzymes qui confèrent une résistance à un large éventail d'antibiotiques bêta-lactamines [263]. Les BLSE exercent une activité enzymatique en hydrolysant les antibiotiques bêta-lactamines, les rendant ainsi inefficaces contre les bactéries productrices de BLSE. Ces enzymes ont un large spectre d'activité, incluant l'hydrolyse des céphalosporines et des monobactames. Les gènes BLSE sont souvent situés sur des plasmides, facilement transférables entre bactéries, permettant la dissémination rapide de la résistance médiée par les BLSE. Des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les bêta-lactamases peuvent également contribuer au développement des BLSE. La variabilité génétique joue un rôle important dans le développement de la résistance. Des mutations ou des réarrangements génétiques dans les gènes BLSE peuvent conduire à la génération de nouvelles variantes BLSE présentant une activité accrue contre les antibiotiques bêta-lactamines. Cette plasticité génétique permet aux bactéries de s'adapter et d'évoluer en réponse aux pressions de sélection des antibiotiques [264]. Les bactéries productrices de BLSE présentent souvent une co-résistance, ce qui signifie qu'elles sont résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques. Cette co-résistance peut résulter de l'acquisition de gènes de résistance supplémentaires portés par les

mêmes plasmides ou de mutations dans d'autres gènes bactériens conférant une résistance à différents antibiotiques. Certaines bactéries productrices de BLSE possèdent des pompes à efflux, des protéines membranaires qui pompent activement les antibiotiques hors de la cellule bactérienne. Ces pompes d'efflux réduisent la concentration intracellulaire d'antibiotiques, protégeant ainsi les bactéries de leurs effets antimicrobiens et contribuant à la résistance [256] [263].

La production d'AmpC par les entérobactéries est due à des altérations des protéines de liaison à la pénicilline, à des changements dans la composition en acides aminés et à des variations génétiques qui altèrent la structure d'AmpC, ainsi qu'à des mutations affectant la protéine responsable de la régulation de la surexpression d'AmpC. De plus, la surexpression d'AmpC réduit la sensibilité au méropénème et la synthèse inductible d'AmpC [262].

La production de carbapénémases est un mécanisme important de résistance aux carbapénèmes, réduisant l'efficacité des agents anti-entérobactéries couramment utilisés, notamment la ceftazidime, le céfépime et la pipéracilline-tazobactam [260]. Les gènes des carbapénémases sont principalement présents chez les agents pathogènes multirésistants tels que *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* ; des éléments génétiques mobiles facilitent leur transfert à d'autres espèces. Néanmoins, les bactéries productrices de carbapénémases constituent une menace émergente en raison de leur profil de résistance accru et de leur association significative avec une morbidité et une mortalité accrues [258]. De plus, les *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes présentent souvent des déterminants de résistance supplémentaires qui réduisent l'efficacité des fluoroquinolones et des aminosides [260]. La résistance aux fluoroquinolones chez *P. aeruginosa* est souvent due à la surexpression des pompes d'efflux, ainsi qu'à des mutations des topoisomérases de type IV et des ADN gyrases [262]. La multirésistance aux antibiotiques est définie comme la résistance d'isolats à au moins un antibiotique appartenant à au moins trois classes d'antibiotiques auxquelles les bactéries sont sensibles : pénicilline, céphalosporine, fluoroquinolone, aminoside et carbapénèmes. Toutes les bactéries ne correspondant pas à cette description sont considérées comme non multirésistantes [261]. Selon la norme CLSI 2024 M100TM, 34e édition des normes de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens, 100 % des bactéries collectées sont classées comme multirésistantes. Parmi celles-ci, 40 % ont été isolées à partir d'urines, 30 % à partir de pus de plaie postopératoire, 20 % à partir de pus d'abcès appendiculaire et 10 % à partir de pus de plaie interfessière. Ces résultats sont préoccupants, car ils suggèrent que ces isolats pourraient être

des superbactéries résistantes à de multiples antibiotiques et difficiles à traiter par les thérapies conventionnelles.

Enfin, ces résultats mettent en évidence la forte prévalence des bactéries multirésistantes ainsi que leurs profils de résistance vis-à-vis des antibiotiques testés et offrent une meilleure compréhension de la situation épidémiologique locale et permettent d'identifier les souches présentant le plus grand risque clinique.

Chapitre IV

*Biosynthèse et caractérisation
des nanoparticules*

Ce chapitre regroupe les résultats de l'identification des molécules bioactives produites par la bactérie lactique isolé de smen camelin de la région d'Ouargla par deux méthodes Chromatographie liquide ultra-pure couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray et spectroscopie infrarouge à transformée de fourier. Ainsi que, les caractéristiques optiques, structurales, morphologiques, la distribution hydrodynamique et la stabilité des nanoparticules de chlorures d'argent biosynthétisé par cette bactérie.

IV.1 Molécules bioactives du surnageant extracellulaire du *Streptococcus* sp.

IV.1.1 Chromatographie liquide ultra-pure couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (UPLC-ESI-MS/MS)

Le surnageant bactérien extracellulaire de la souche *Streptococcus* sp. a été analysé par UPLC-ESI-MS/MS afin d'identifier les métabolites sécrétés et d'examiner le profil métabolique associé à la biosynthèse des nanoparticules de chlorures d'argent.

Le chromatogramme TIC du surnageant bactérien (Figure 8) a mis en évidence quatre pics entre 1,5 et 7 minutes. La proline constitue le composé majoritaire, alors que l'acide nicotinique, l'acide oléanolique et la riboflavine ont été détectés en plus faibles quantités. Ces résultats témoignent de la diversité des métabolites produits et sécrétés par *Streptococcus* sp..

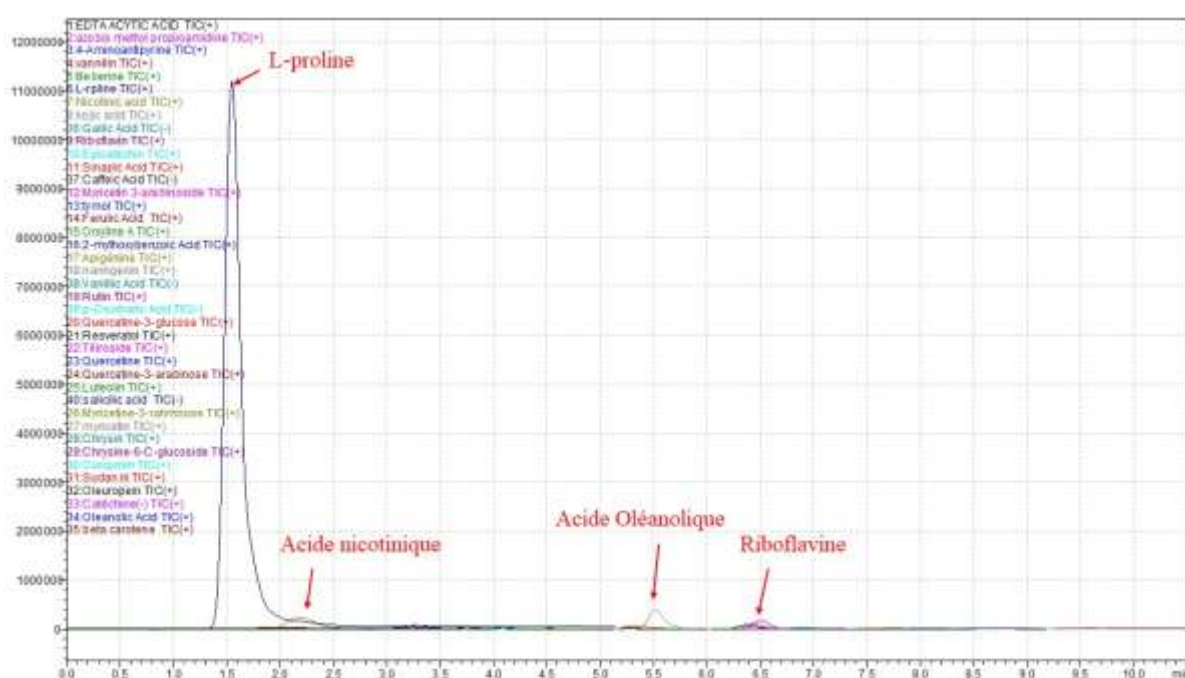


Figure 8: Chromatogramme UPLC-ESI-MS-MS obtenu par l'analyse de surnageant de *Streptococcus* sp.

Le tableau 12 illustre les résultats de UPLC-ESI-MS/MS de surnageant extracellulaire de la souche *Streptococcus* sp..

Tableau 13: Résultats de l'analyse UPLC-ESI-MS/MS de surnageant extracellulaire de la souche *Streptococcus* sp.

ID	Nom	Formule	Charge (+/-)	CE (v)	transition m/z	TR (min)	Aire	Hauteur
1	L-Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	+	-17	116,1000>69,9000	1,549	105512791	9999731
2	Apigénine	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	+	-33	271,1000>152,9000	1,563	130734	16318
3	Acide sinapique	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	+	-23	225,0000>175,0500	1,969	942098	32809
4	Acide nicotinique	C ₆ H ₅ NO ₂	+	-23	123,9000>79,8500	2,198	1438058	78708
5	Luteoline	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	+	-32	286,7500>153,0000	3,390	73425	6666
6	Routine	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	+	-10	611,0000>303,1000	4,824	137028	14620
7	Quercetine-3-glucoside	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	+	-18	465,1000>303,0500	4,872	108792	10371
8	Quercetine-3-arabinose	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	+	-15	435,0000>302,9500	4,975	28780	3296
9	acide salicilique	C ₇ H ₆ O ₃	-	37	137,2000>92,9500	5,245	196661	17237
10	Myricetine-3-rhamnose	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	+	-44	465,0000>54,8500	5,299	1140993	74506
11	Resveratole	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	+	-22	229,0500>107,1000	5,324	27985	2349
12	Sudine III	C ₂₂ H ₁₆ N ₄ O	+	-31	353,0500>77,1500	5,776	3237	291
13	Acide Oléanolique	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	+	-15	457,3000>411,4000	5,998	156947	11937
14	Oleuropeine	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	+	-15	540,5000>523,4000	6,382	233201	19545
15	Riboflavine	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	+	-7	377,1000>360,3000	6,507	750172	71448

L'analyse du tableau 13 a révélé que l'extrait acellulaire de *Streptococcus* sp. contenait un total de quinze composés chimiques de nature différentes. L'acide aminé l-proline est le premier composé élué dans le UPLC-ESI-MS/MS avec un temps de rétention 1,549 min, ainsi que c'est le composé majoritaire dans le surnageant de la souche *Streptococcus* sp. Suivie par, acide nicotinique (vitB3), myricetine-3-rhamnose (flavonoïde), acide sinapique (phénols), riboflavine (vitB2), apigénine (flavonoïde), luteoline (flavonoïde), routine (flavonoïde), quercetine-3-glucoside (flavonoïde), Acide oléanolique (terpenoïdes), oleuropeine (polyphénols), resveratole (phénol). Ces composés actifs jouent un rôle crucial en tant qu'agents réducteurs et fournissent des nanoparticules coiffantes, responsables de la stabilité [122].

IV.2 Caractéristiques des AgClNPs biosynthétisé

Le changement de couleur du brun clair au brun foncé après 24 h d'incubation indique la formation d'AgClNPs dans le milieu réactionnel [265]. Un changement de couleur similaire a également été observé lors de la synthèse d'AgClNPs à partir de divers extraits biologiques, comme décrit par Gopinath *et al.* [266], Nezamdoost *et al.* [267], Sabzevar *et al.* [268], et Kabir *et al.* [269]. Aucune variation de couleur n'a été observée chez les témoins 1 et 2 après incubation. Cela démontre que les agents réducteurs présents dans le surnageant bactérien jouent un rôle essentiel dans la synthèse des AgClNPs. Le rendement en AgClNPs est de $0,024 \pm 0,002$ mg/100 mL de surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp.

IV.2.1 Caractéristiques optiques

IV.2.1.1 Propriétés optiques (UV-Vis)

La biosynthèse des AgClNPs par le surnageant de *Streptococcus* sp. est optiquement confirmé par l'absorbance UV-Vis, comme le montre la figure 9.A. En revanche, l'apparition d'une bande large et intense de pic dans la gamme 450 à 250 nm corrélée à la coloration de la solution, indiquant la formation de nanoparticules métalliques dont les dimensions varient entre 2 et 100 nm [265]. L'absorbance spectrale des AgClNPs atteint un maximum de 369 nm. Ces résultats sont similaires aux études précédentes [270] [271] [19].

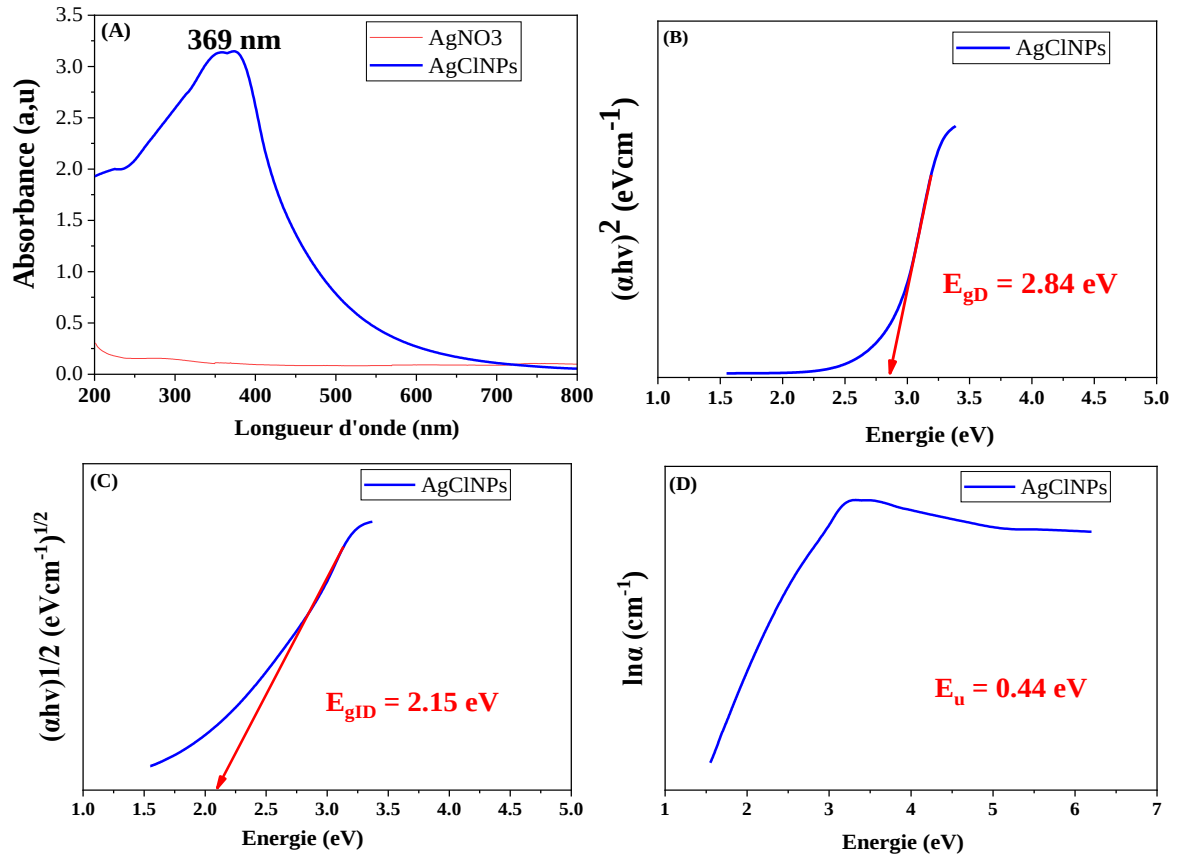


Figure 9: Les propriétés optiques des AgClNPs, (A) le spectre UV-Vis d'AgNO₃ et d'AgClNPs, (B) et (C) les transitions d'énergie de bande interdite directe et indirecte respectivement, (D) l'énergie d'Urbach.

L'énergie de bande interdite directe et indirecte des AgClNPs biosynthétisées est déterminée à l'aide de la courbe d'absorbance UV-Vis figure 9. A et en utilisant l'équation de Tauc (IV.1) [272]:

$$(\alpha h\nu)^{1/n} = A(E - E_g) \quad (IV.1)$$

Où : α : coefficient d'absorption ($2,302 \text{ cm}^{-1}$) ;

E : énergie (eV) ($E = \frac{1240}{\lambda}$) ;

h : constante de Tauc ;

ν : fréquence des photons incidents ;

n : déterminer la nature du transfert électronique ($n = \frac{1}{2}$ ou $n = 2$, pour les transitions directes et indirectes, respectivement) ;

A : constante de proportionnalité.

L'énergie de bande interdite directe et indirecte calculée des AgClNPs était respectivement de 2,84 eV et 2,15 eV (Figure 9.B et C). Ces résultats confirment la taille nanométrique des AgClNP biosynthétisées puisque la diminution de l'énergie de bande interdite directe et indirecte d'AgCl de 5,15 et 3,25 eV, respectivement [273] à 0-3 eV [274], peut s'expliquer par une diminution de la taille des molécules et une modification de la distance entre la bande de conduction et la bande de valence dans l'atome, qui devient plus petite. Cela signifie que les électrons doivent voyager entre les deux niveaux d'énergie les plus faibles. De plus, des distances plus courtes entre les atomes entraînent des interactions plus intenses [275]. Ces résultats concordent avec ceux d'autres chercheurs. Rahmah. [276] a rapporté que la bande interdite d'énergie des AgClNP est de 3,25 eV.

L'étude du mécanisme de développement de l'énergie d'Urbach-Martienssen (E_u) lors de la formation des nanoparticules est une étape essentielle pour la modélisation précise des propriétés optiques [277]; il est déterminé par l'équation (IV.2) [278]:

$$\alpha = \alpha_0 + \exp \frac{E}{E_u} \quad (\text{IV.2})$$

Où :

α : coefficient d'absorption ;

E : énergie des photons ($h\nu$) ;

E_u : énergie d'Urbach (eV).

L'énergie d'Urbach calculée des AgClNPs était égale à 0,44 eV (Figure 9. D), ce qui est considéré comme une faible valeur reflétant la bonne cristallisation et l'uniformité des AgClNPs biosynthétisées [279].

IV.2.1.2 Analyse par spectroscopie IR-TF

Les groupes fonctionnels et les vibrations de liaison des molécules bioactives produites par *Streptococcus* sp. sont présentés dans la figure 10. Une analyse des fréquences, de la forme et de l'intensité des bandes d'absorption a révélé des pics caractéristiques. En particulier, la bande large et intense observée autour de 3359 cm^{-1} est liée à la vibration d'étirement des groupes OH et NH [187][280]. De plus, la faible absorption des doubles pics à 2981 et 2939 cm^{-1} dans la gamme de 3200 à 2800 cm^{-1} a été attribuée aux vibrations d'étirement des liaisons C-H [281]. Les pics à $1643,2 \text{ cm}^{-1}$ et $1596,3 \text{ cm}^{-1}$ correspondent respectivement aux vibrations d'étirement de l'amide I et II [282]. La vibration d'étirement de la liaison C-C est apparue à

1407,93 cm^{-1} [283]. Les pics à 1253,6, 1080,1 et 1041,5 cm^{-1} sont liés aux vibrations d'étirement C–O–C [284]. L'acide lactique est identifié par son pic à 1122,5 cm^{-1} [283]. Les pics aux vibrations 925,8 et 852,4 cm^{-1} indiquent les différentes configurations spécifiques des polysaccharides [285]. Enfin, le pic près de 775,3 cm^{-1} est associé à la vibration d'étirement du chlorure C–Cl [286], tandis que le pic à 540,0 cm^{-1} correspond à l'étirement des composés halogénés correspondants C–X [287].

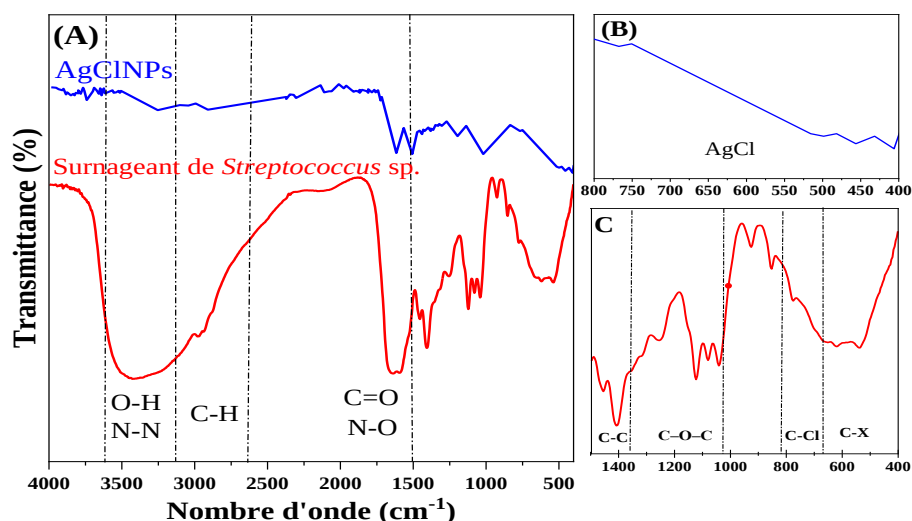


Figure 10: (A) Spectres FT-IR des AgClNPs biosynthétisées et du surnageant de *Streptococcus* sp. ; (B) et (C) Plage de vues agrandies des AgClNPs biosynthétisées (800–400 cm^{-1}) et du surnageant (1500–400 cm^{-1}), respectivement.

Suite à l'analyse de la courbe, nous pouvons conclure que le surnageant de *Streptococcus* sp. est riche en composés bioactifs tels que des protéines, des glucides, des lipides et des acides organiques comme l'acide lactique. Ces molécules sont impliquées dans la biosynthèse et la formation des AgClNPs, comme le confirme le spectre IR-TF des AgClNPs, qui indique une réduction de toutes les fonctions bioactives telles que N–H, O–H, C–N, C=O et COOH. Comme le montrent des recherches antérieures, les pics à 775, 498, 458 et 406 cm^{-1} (Figure 10. B) correspondent à la bande d'étirement d'AgCl associée aux AgClNPs [288].

IV.2.2 Structure et composition cristallines

Le diffractogramme des rayons X des AgClNPs biosynthétisées est présenté à la (Figure 11. A). Conformément aux normes établies par le Joint Powder Diffraction Standard (carte JCPDS n° 00–006–0480), tous les pics de diffraction observés sur le diagramme DRX correspondent parfaitement à la structure cristalline cubique (groupe d'espace Fm^{-3}m (225))

avec des paramètres cristallographiques standard de réseau nanoparticulaire $a = b = c = 5,9490$ Å. Ces résultats indiquent une pureté de 97 % pour les AgClNPs biosynthétisées.

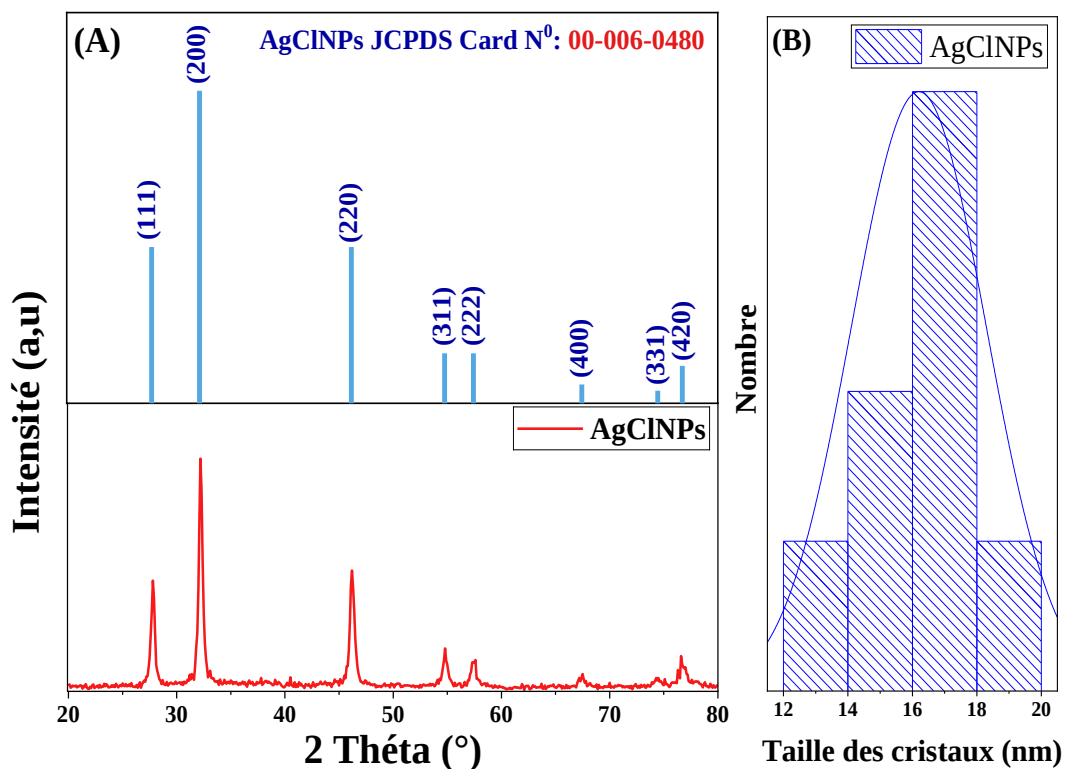


Figure 11: (A) Diagrammes de diffraction des rayons X et (B) histogramme de distribution granulométrique des AgClNPs biosynthétisées.

La structure des matériaux cristallisée est caractérisé par les indices (h, k, l) appelés indices de Miller [289]. L'angle de diffraction θ représente la position des pics ; qui correspondant aux plans réticulaires diffractants, Cet angle vérifie la relation de Bragg Brentano (équation IV.3) [290]:

$$2 d_{hkl} \times \sin \theta = n\lambda \quad (\text{IV.3})$$

Ou, d : distance inter-réticulaire entre deux plans successifs, λ : longueur d'onde des rayons X, θ : L'angle de diffraction, n : l'ordre de la diffraction.

Les deux thêtas (2θ) des pics intenses, les indices de Miller (h, k, l) et la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) des plans du réseau des huit pics correspondant aux plans cristallins des AgClNPs sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 14: Valeurs 2θ et largeur totale à mi-hauteur des plans cristallins des AgClNPs.

Miller Indices (hkl)	(111)	(200)	(220)	(311)	(222)	(400)	(331)	(420)
2 Theta (°)	27,83	32,24	46,23	54,83	57,48	67,47	74,47	76,73
FWHM β (°)	0,43	0,46	0,54	0,54	0,55	0,53	0,69	0,82

Les résultats de notre étude concordent avec ceux des chercheurs ayant biosynthétisé des AgClNP à partir d'extraits de diverses espèces biologiques [266][291][292][268]. La taille des particules cristallines des AgClNPs biosynthétisées a été calculée à partir du pic le plus élevé du profil DRX (200) selon l'équation de Debye-Scherrer (IV.4) [293]:

$$D = \frac{k\lambda}{(\beta \cos\theta)} \quad (\text{IV.4})$$

Où,

D : taille des particules cristallines

k : facteur de correction (0,94) ;

λ : longueur d'onde incidente des rayons X (1,5406) ;

β : largeur angulaire médiane (FWHM) ;

θ : angle de diffraction du pic principal.

La figure 11. B présente un histogramme de la distribution granulométrique des particules cristallines, avec une moyenne de 17,94 nm de nanoparticules d'AgCl biosynthétisées, confirmant leur dimension nanométrique [294]. Ces résultats concordent avec ceux des chercheurs ayant biosynthétisé des nanoparticules d'AgCl et ayant rapporté des tailles de cristaux comprises entre 10 et 47 nm [295][19].

La détermination de l'indice de cristallinité est impérative, car il influence significativement les propriétés physiques et chimiques des nanoparticules et affecte leur stabilité thermique [296]. L'indice de cristallinité de la biosynthèse des nanoparticules a été calculé à l'aide de l'équation (IV.5) suivante [297]:

$$\text{Indice de cristallinité} = \frac{\text{Surface des pics cristallins}}{\text{surface des pics cristallins} + \text{surface amorphe}} \times 100 \quad (\text{IV.5})$$

L'indice de cristallinité obtenu était de 43,49 %, confirmant la structure cristalline des AgClNPs biosynthétisées.

IV.2.3 Analyse morphologique et élémentaire

La morphologie de surface et la composition élémentaire ont été caractérisées et présentées. La figure 12.A illustre la morphologie sphérique et l'uniformité des AgClNP biosynthétisées, telles que démontrées par Gopinath *et al.* [266], Iniyan *et al.* [298], Huo *et al.* [292] et Bajrami *et al.* [41].

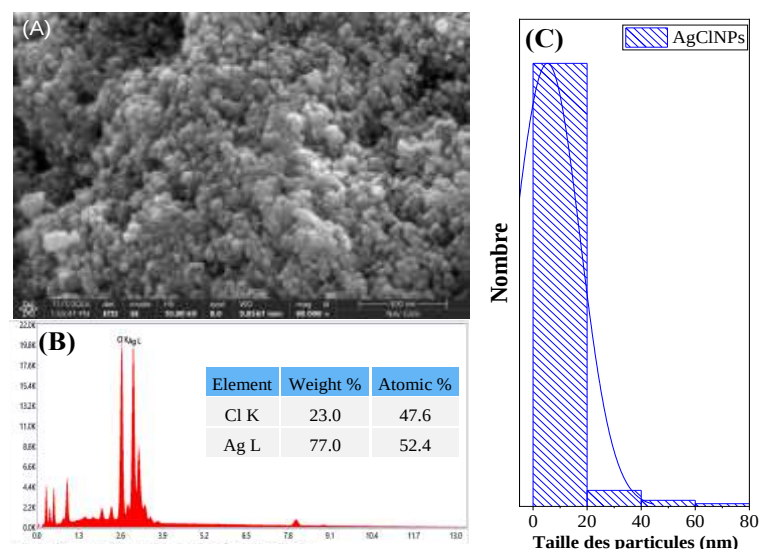


Figure 12: (A) Image FE-MEM, (B) EDX et (C) Histogramme de distribution granulométrique des AgClNPs biosynthétisées.

L'analyse EDX des AgClNPs biosynthétisées (Figure 12.B) confirme la composition élémentaire avec des pourcentages atomiques de 52,4 et 47,6 %, respectivement. Deux pics majeurs, correspondant à des signaux de forte intensité pour l'argent (Ag) et le chlorure (Cl), ont été observés à 3 et 2,6 KeV, respectivement. Ces résultats sont cohérents avec les pics caractéristiques des nanocrystallites de chlorure d'argent et concordent avec les rapports précédents [292].

La figure 12.C illustre que la taille des particules d'AgClNPs varie de 1 à 20 nm, avec une taille moyenne de 5,29 nm. Ces résultats concordent avec plusieurs études ayant rapporté la taille des particules d'AgClNP biosynthétisées par les micro-organismes suivants : *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Penicillium chrysogenum*, qui étaient respectivement de 13, 47 et 25 nm [27][268][295].

IV.2.4 Distribution hydrodynamique et la stabilité des AgClNPs

La distribution hydrodynamique et la stabilité des AgClNPs sont essentielles pour déterminer leur comportement colloïdal. La taille hydrodynamique des AgClNPs se situe entre 300 et 400 nm, avec un diamètre moyen de 381,1 nm et un PDI de 0,412 (Figure 13.A). Ces résultats indiquent que les AgClNPs biosynthétisées peuvent s'agglomérer [19] et qu'il existe une distribution granulométrique relativement homogène (monodispersité) [13]. De par les données bibliographiques, le diamètre hydrodynamique moyen des AgClNPs est d'environ 893 nm, avec un PDI de 0,302 [292]. En revanche, une autre étude de Gui *et al.* [19] démontre une taille moyenne des nanoparticules d'environ 284 nm.

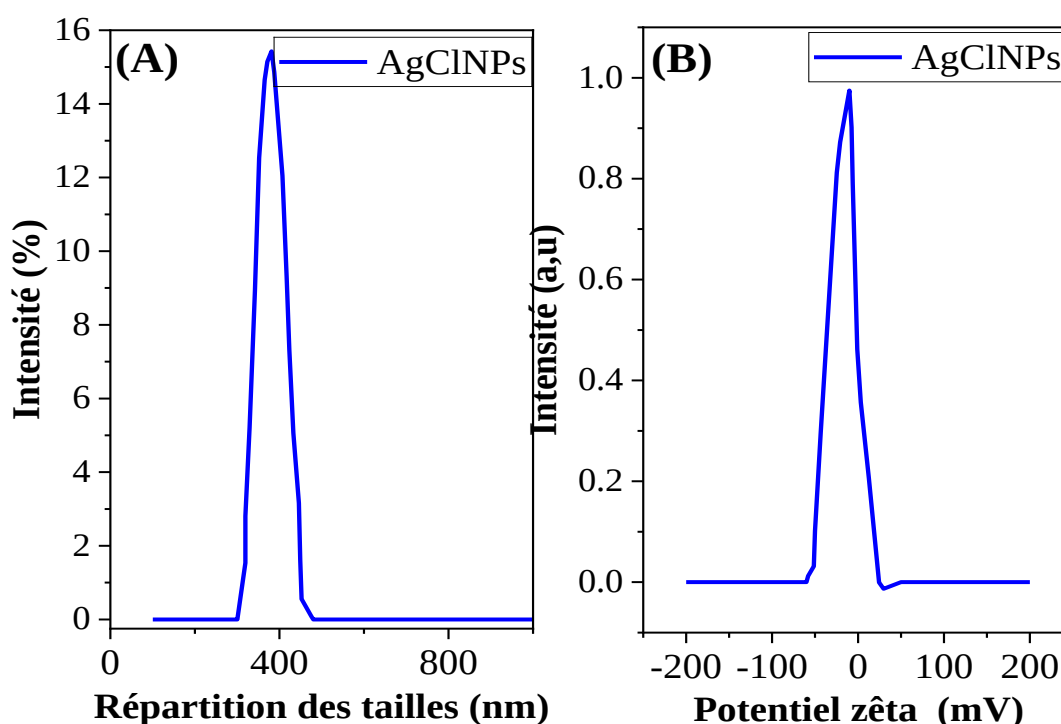


Figure 13: (A) distribution hydrodynamique, (B) potentiel zêta des AgClNPs biosynthétisées.

Le potentiel zêta des AgClNPs a été mesuré à -34,8 mV (Figure 13. B). Ce résultat concorde avec les études précédentes de Lashgarian *et al.* [299] et Gui *et al.* [19]. Ils ont démontré que les métabolites bioactifs générés par la souche *Streptococcus* sp. dans le surnageant jouent un rôle essentiel comme agent stabilisant et confèrent une charge de surface négative aux nanoparticules par les forces de répulsion électrostatique entre les particules [300]. Ces résultats démontrent que le potentiel zêta des nanoparticules extracellulaires biosynthétisées est positivement associé à une stabilité et à des activités biologiques élevées

dans des conditions physiologiques et fournissent des informations précieuses sur leur comportement colloïdal dans des conditions de biosynthèse.

IV.3 Mécanisme de biosynthèse des AgClNPs par le surnageant de *Streptococcus* sp.

Après confirmation de la biosynthèse des nanoparticules de chlorure d'argent par la souche lactique *Streptococcus* sp. et analyse des résultats de caractérisation tels que IR-TF, FE-MEM et DLS, il a été révélé que les molécules bioactives produites dans le surnageant extracellulaire, telles que les protéines, les glucides et les enzymes, biosynthétisent, stabilisent les AgClNPs et préviennent leur accumulation. La Figure 14 présente le mécanisme proposé pour la biosynthèse des AgClNPs à partir du surnageant de *Streptococcus* sp.

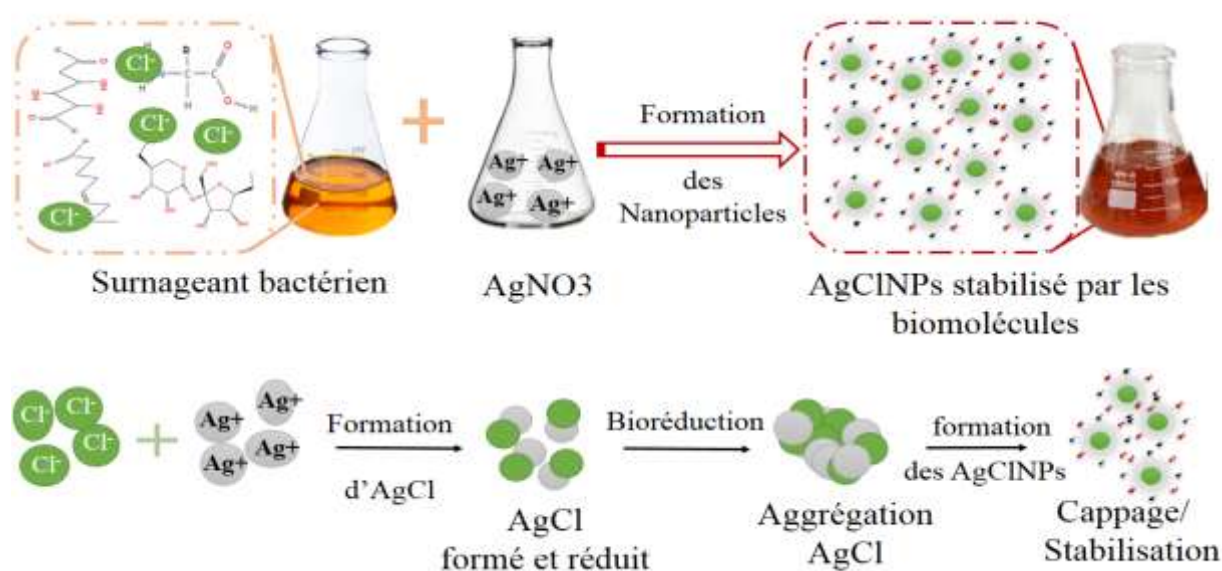


Figure 14: Présentation schématique d'un mécanisme possible de biosynthèse des AgClNPs à partir du surnageant de *Streptococcus* sp.

Tout d'abord, les ions argent (Ag^+) présents dans la solution aqueuse de nitrate d'argent (AgNO_3) (réaction IV.6) réagissent avec les ions chlorure (Cl^-) présents dans le surnageant pour former AgCl par un processus de précipitation (réaction IV.7) [301].



Lorsque les ions Ag^+ ont été réduits en AgClNPs, les fonctions des molécules bioactives produites par *Streptococcus* sp. telles que la fonction amine des protéines (NH_3^+), les fonctions

hydroxyle (OH^-) et carboxyle (COO^-) des exopolysaccharides, des acides organiques et des protéines telles que présentées dans le spectre IR-TF des AgClNPs. Ces fonctions réduisent et stabilisent les agents dans la biosynthèse des AgClNPs par un processus de chélation et de coiffage. Ces processus contrôlent la taille, la forme et la dispersion des particules [302]. De plus, lors de la biosynthèse des nanoparticules métalliques, leurs propriétés de muco adhésion conduisent à une énergie de surface neutre et faible et à un faible niveau de coiffage pour la reconnaissance des récepteurs protéiques non spécifiques, ce qui rend ces nanoparticules plus adaptées à des applications plus larges [303]. Les molécules bioactives agissent à la fois comme agents réducteurs et stabilisants en raison de leurs propriétés et de leurs structures contenant de nombreux groupes fonctionnels [302]. De plus, Medina-Ramirez *et al.* [303], ont rapporté que les particules fines présentent un potentiel zêta absolu élevé et sont chargées négativement, ce qui indique que les suspensions colloïdales de nanoparticules d'argent sont relativement stables. Le potentiel zêta élevé de charges similaires (négatives) minimise l'agrégation des particules due à la répulsion électrostatique [304].

A l'issue de cette chapitre, les résultats de caractérisation optique, structurelle, morphologique, la distribution hydrodynamique et la stabilité des AgClNPs biosynthétisées ont démontré l'efficacité de la souche lactique *Streptococcus* sp. dans la biosynthèse des nanoparticules de chlorures d'argent.

Chapitre V

*Potentiels biologiques des
nanoparticules biosynthétisé et
leur toxicité*

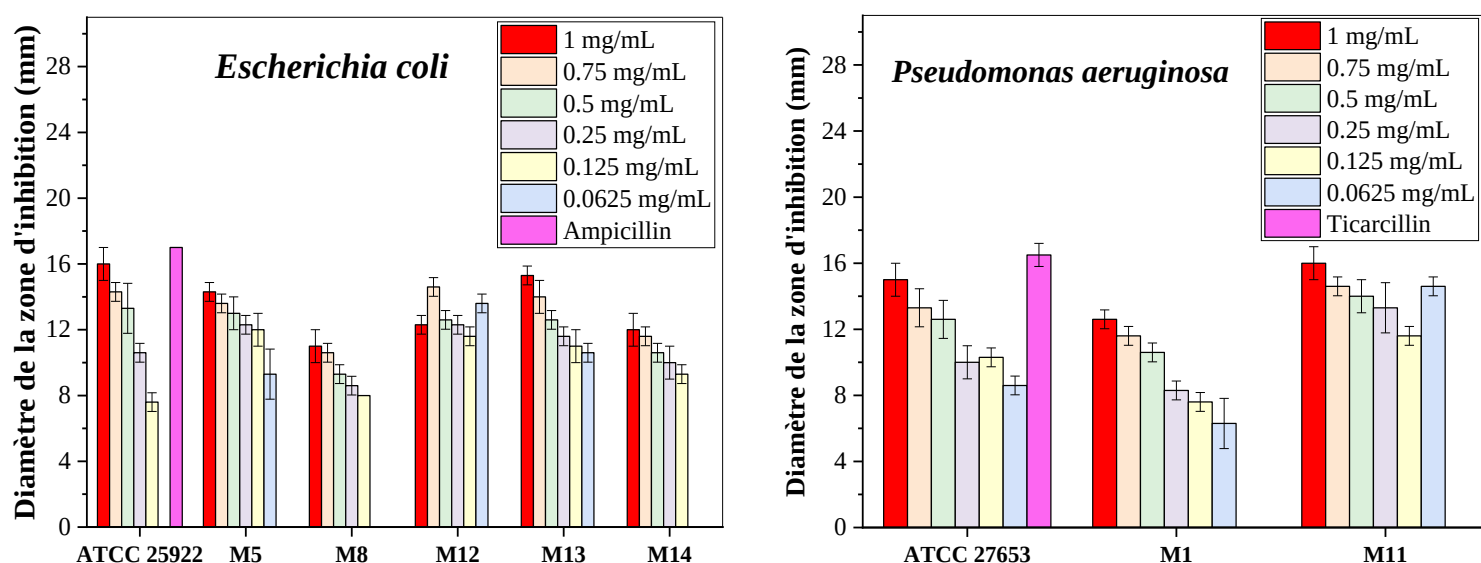
Dans ce chapitre, nous analysons et discutons les résultats des potentiels biologiques et leur toxicité des nanoparticules de chlorures d'argent biosynthétisé. Le potentiel antibactérienne contre les souches multirésistantes identifiées dans le chapitre précédente est déterminé par des méthodes *in vitro* et *in silico*. Ainsi que, le potentiel antioxydante est déterminé par trois tests DPPH, ABTS et l'antioxydant totale. De plus, l'analyse de la cytotoxicité, réalisée selon trois approches complémentaires *in vitro*, *in vivo* et *in silico* pour évaluer la sécurité biologique des AgCINPs biosynthétisées.

V.1 Effets *in vitro* et *in silico* des AgCINPs biosynthétisées contre les bactéries multirésistantes

V.1.1 Zones d'inhibition

Les bactéries testées dans cette étude étaient *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *K. aerogenes*, qui sont des bactéries Gram-négatives connues pour être résistantes aux antibiotiques. *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27653 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603, utilisées comme souches de référence, ont montré une sensibilité aux antibiotiques.

La figure 15 présente les résultats de l'activité antibactérienne des AgCINPs biosynthétisées contre des bactéries de référence et les bactéries collectées résistantes à plusieurs antibiotiques collectés. Les résultats indiquent que les AgCINPs biosynthétisées ont montré une activité antibactérienne contre tous les pathogènes testés. La réponse bactérienne variait en fonction de la concentration en AgCINPs, avec une différence hautement significative ($P \leq 0,001$).



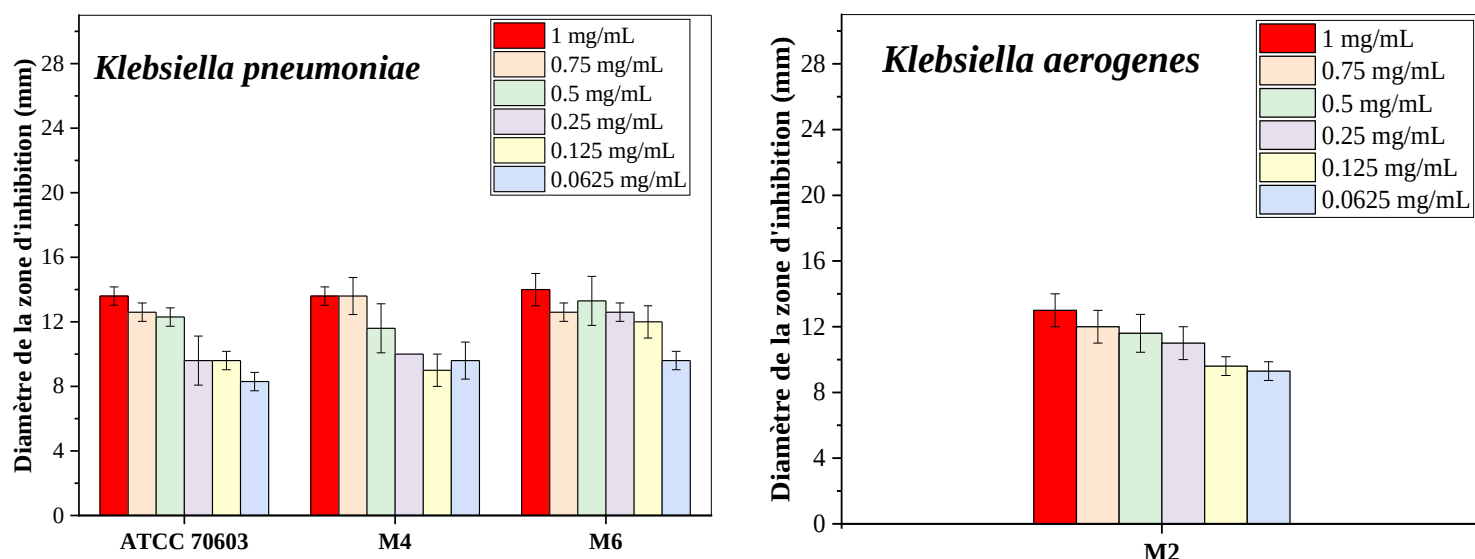


Figure 15: Zones d'inhibition des AgCINPs biosynthétisées à différentes concentrations contre les bactéries multirésistantes et les souches de référence.

L'activité antibactérienne maximale a été enregistrée à une concentration de 1 mg/mL d'AgCINPs pour l'ensemble des souches bactériennes testées. Toutefois, pour *E. coli* (M12), la plus grande zone d'inhibition ($14,6 \pm 0,75$ mm) a été obtenue à une concentration de 0,75 mg/mL. *P. aeruginosa* (M11) et *E. coli* (M13) du prélèvement urinaire étaient plus sensibles aux AgCINPs biosynthétisées avec des zones d'inhibition de 16 ± 1 mm et $15,3 \pm 1,15$ mm, respectivement. *E. coli* (M13) a BLSE et cephalosporenase positif sensible aux AgNPs que les autres souches, avec des zones d'inhibition de $15,33 \pm 0,57$, 14 ± 1 , $12,66 \pm 0,57$, $11,66 \pm 0,57$, 11 ± 1 et $10,66 \pm 0,57$ mm à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL d'AgCINPs biosynthétisées, respectivement, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). De plus, les AgCINP biosynthétisées sont plus actives contre souches isolés de plaies postopératoires. Notamment, *E. coli* (M5) résistant à l'ampicilline, à la céfazoline, à la céfotaxime, à la gentamicine et au triméthoprim + sulfaméthoxazole, et produisant une bêta-lactamase à spectre étendu, avec des zones d'inhibition de $14,3 \pm 0,57$, $13,6 \pm 0,57$, 13 ± 1 , $12,3 \pm 0,57$, $10,3 \pm 0,57$ et $9,3 \pm 1,52$ mm administrées à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL d'AgCINPs biosynthétisées, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). De plus, *E. coli* des plaies interfessières (M12), malgré sa résistance à de multiples antibiotiques tels que l'ampicilline, la céfazoline, la céfoxitine, la gentamicine, la ciprofloxacine, le chloramphénicol et le triméthoprim + sulfaméthoxazole. Cette bactérie est sensible aux AgCINPs biosynthétisées à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL, donnant des zones d'inhibition de $12,3 \pm 0,57$, $14,6 \pm 0,57$, $12,6 \pm 0,57$, $12,3 \pm$

0,57, $11,6 \pm 0,57$ et $13,6 \pm 0,57$ mm, respectivement, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). De plus, les *E. coli* provenant d'abcès de plaies abdominales (M14) résistants à la moitié des antibiotiques testés, mais sensibles aux AgCINP biosynthétisées à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25 et 0,125 mg/mL, ont conduit à des diamètres de zone d'inhibition mesurés à 12 ± 1 , $11,6 \pm 0,57$, $10,6 \pm 0,57$, 10 ± 1 et $9,3 \pm 0,57$, respectivement, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). De plus, les AgCINPs biosynthétisées sont moins efficaces contre la souche (M8) d'origine ECBU imperméable aux antibiotiques de la classe des carbapénèmes et produisant des carbapénémases ; 1 mg/mL d'AgCINPs biosynthétisées donne une zone d'inhibition de $11,33 \pm 1,52$ mm, tandis que 0,0625 mg/mL d'AgCINPs ne donne pas d'activité, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). *E. coli* ATCC25922, sensible à l'ampicilline avec une zone d'inhibition de 17 ± 0 mm et aux AgCINPs biosynthétisées à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25 et 0,125 mg/mL, a conduit à des diamètres de zone d'inhibition mesurés respectivement à 16 ± 1 , $14,3 \pm 0,57$, $13,3 \pm 1,52$, $10,6 \pm 0,57$ et $7,6 \pm 0,57$ mm ; 0,0625 mg/mL d'AgCINPs n'a pas induit de zone d'inhibition. Malgré des souches d'origines différentes, telles que l'ECBU, les abcès abdominaux, les plaies postopératoires et interfessières, présentant une résistance à de multiples antibiotiques tels que l'ampicilline, la céfazoline, la céfoxitine, le céfotaxime et le triméthoprim + sulfaméthoxazole, et produisant des beta-lactamases à spectre étendu, des carbapénémases et des céphalosporinases, les AgCINPs biosynthétisées à différentes concentrations ont la capacité d'inhiber ces souches. Ces résultats concordent avec ceux de plusieurs études menées ces dernières années, notamment celles de Al Masud *et al.* [305].

Les AgCINPs biosynthétisées se sont révélés plus efficaces contre *P. aeruginosa* résistant aux polypeptides et produisant une forte concentration de céphalosporénase (M11), avec une zone d'inhibition de 16 ± 1 à 1 mg/mL ; même la concentration la plus faible de 0,0625 mg/mL a donné une zone d'inhibition de diamètre $14,6 \pm 0,57$ mm, avec une différence très significative ($P < 0,01$). Les concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL d'AgCINP biosynthétisées ont donné des zones d'inhibition de diamètre $12,6 \pm 0,57$, $11,6 \pm 0,57$, $10,6 \pm 0,57$, $8,3 \pm 0,57$, $7,6 \pm 0,57$ et $6,3 \pm 1,52$ mm, respectivement, contre *P. aeruginosa* (M1), qui est imperméable aux antibiotiques de la classe des carbapénèmes et producteur de beta-lactamases à spectre étendu, de carbapénémases de haut niveau et de céphalosporinases. La souche ATCC de *P. aeruginosa* sensible à la ticarcilline avec un diamètre de zone d'inhibition de $16,5 \pm 0,7$ mm et aux AgCINPs à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL a donné des diamètres de zone d'inhibition de 15 ± 1 , $13,3 \pm 1,15$, $12,6 \pm 1,15$,

10 ± 1 , $10,3 \pm 0,57$ et $8,6 \pm 0,57$ mm, respectivement, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). Bien que les *Pseudomonas aeruginosa* provenant des échantillons d'urine collectés soient résistants à plus de 60 % des antibiotiques testés, tels que la ticarcilline, la ticarcilline + acide clavulanique, la pipéracilline, la pipéracilline-tazobactam, le méropénème, la tobramycine, la gentamicine et la ciprofloxacine, et produisent des enzymes qui renforcent leur résistance, telles que la beta-lactamase à spectre étendu, les carbapénémases et les céphalosporinases, biosynthétisent AgClNPs ont montré d'excellents résultats d'inhibition, même à faibles concentrations. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par plusieurs études récentes, telles que celles de Ghasemi *et al.* [306].

Klebsiella pneumoniae isolée de plaies postopératoires, malgré sa résistance à plusieurs antibiotiques tels que la céfazoline, le céfotaxime et la fosfomycine et sa production de beta-lactamase à spectre étendu, était sensible aux AgClNPs biosynthétisées. À mesure que la concentration augmentait, une augmentation progressive du diamètre de la zone d'inhibition a été observée ; les zones d'inhibition avec des diamètres de 14 ± 1 , $12,6 \pm 0,57$, $13,3 \pm 1,52$, $12,6 \pm 0,57$, 12 ± 1 et $9,6 \pm 0,57$ mm ont été obtenues à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL AgClNPs par rapport à M6, avec une différence très significative ($P < 0,01$). Des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL d'AgClNPs ont été testées contre M4, avec des diamètres de zone d'inhibition de $13,6 \pm 0,57$, $13,6 \pm 1,15$, $11,6 \pm 1,52$, $10 \pm 0,9 \pm 1$ et $9,6 \pm 1,15$, respectivement, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$). Le diamètre de la zone d'inhibition est passé de 8 à 13 mm lorsque la concentration d'AgClNPs est passée de 0,0625 à 1 mg/mL, avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$) pour *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603. Des résultats similaires ont été rapportés dans plusieurs études récentes, notamment celle menée par Abdelrazik et ses collègues en [307].

Les AgClNPs biosynthétisées à des concentrations de 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 et 0,0625 mg/mL présentent des zones d'inhibition de 13 ± 1 , 12 ± 1 , $11,6 \pm 1,15$, 11 ± 1 , $9,6 \pm 0,57$ et $9,3 \pm 0,57$ mm, respectivement, avec une différence hautement significative ($P < 0,01$) contre *Klebsiella aerogenes* isolée d'un abcès appendiculaire.

V.1.2 Concentration minimale inhibitrice et bactéricide

La concentration la plus faible inhibant toute croissance bactérienne visible est définie comme la CMI, La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la concentration qui tue 99,9 % des bactéries [223].

Le tableau 14 présente les résultats des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des AgClNPs et de la ciprofloxacine contre les bactéries de référence et multirésistantes aux antibiotiques collectés.

Tableau 15: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des AgClNPs contre les bactéries résistantes aux multiples antibiotiques et de référence.

Souches		AgClNPs (µg/mL)		ciprofloxacine (µg/mL)	
		CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	125	125	<1	<1
	M5	31.25	62.5	<1	1
	M8	125	125	<1	<1
	M12	31.25	31.25	7.81	125
	M13	7.81	31.25	7.81	62.5
	M14	31.25	62.5	15.62	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27653	31.25	62.5	<1	<1
	M1	7.81	15.62	15.62	125
	M11	7.81	31.25	7.81	31.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC70603	62.5	62.5	<1	<1
	M4	31.25	62.5	<1	<1
	M6	62.5	125	<1	<1
<i>Klebsiella aerogenes</i>	M2	62.5	62.5	7.81	62.5

Selon les résultats, malgré la résistance des souches collectées à de multiples antibiotiques, les nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées ont des effets à la fois bactériostatiques et bactéricides contre toutes les bactéries avec des valeurs de CMI et de CMB comprises entre 7,81 et 125 µg/mL. Les résultats ont montré que *Pseudomonas aeruginosa* (M1 et M11) et *Escherichia coli* (M13) isolés de l'urine sont plus sensibles aux AgClNPs biosynthétisées avec des CMI de 7,81 µg/mL et des CMB de 15,62, 31,25 et 31,5 µg/mL, respectivement, par rapport au médicament de référence (ciprofloxacine).

Les AgClNPs biosynthétisées ont complètement inhibé la croissance de M4, M5, M12 et M14 avec une valeur de CMI de 31,25 µg/mL et une valeur de CMB de 31,25 µg/mL pour M12 et de 62,5 µg/mL pour M4, M5 et M14. Deux souches bactériennes, M2 et M6, qui proviennent d'un abcès appendiculaire et d'une plaie postopératoire, étaient résistantes à la céfazoline, à la céfotaxime, à la céftazidime et à la fosfomycine. La valeur de CMI pour la

fosfomycine rapportée était de 256 µg/mL, tandis que la concentration minimale inhibitrice (CMI) des AgClNPs biosynthétisées était de 62,5 µg/mL pour deux souches ; la concentration minimale inhibitrice (CMI) était de 62,5 et 125 µg/mL pour les bactéries M2 et M6, respectivement. La CMI des AgClNPs biosynthétisées contre les souches de référence *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27653 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603 était respectivement de 125 µg/mL (valeur MBC de 125 µg/mL), 31,25 µg/mL (valeur MBC de 62,5 µg/mL) et 62,5 µg/mL (valeur MBC de 62,5 µg/mL).

Escherichia coli (M8) présent dans l'urine est résistant à de multiples antibiotiques ; la valeur de la CMI pour le triméthoprim + sulfaméthoxazole est supérieure à 320 µg/mL, imperméable aux antibiotiques de la classe des carbapénèmes et produisant de la carbapénémase comme mécanisme de résistance, tandis que la CMI et la MBC des AgClNPs biosynthétisées étaient de 125 µg/mL pour M2.

L'étude de l'effet antibactérien des nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées à partir du surnageant de *Streptococcus* sp. a montré que les AgClNPs présentent une excellente efficacité antibactérienne contre une large gamme de souches ATCC et d'isolats multirésistants. Ces résultats sont en accord avec Shirzadi-Ahodashi *et al.* [308] et Mujaddidi *et al.* [2].

L'activité antibactérienne des nanoparticules dépendait de la taille des nanoparticules synthétisées, comme expliqué par Bee *et al.* [309]. Les nanoparticules plus petites auraient un effet bactéricide plus élevé que les particules plus grandes en raison de leur grande surface [308].

V.1.3 Amarage moléculaire des AgClNPs aux niveaux des sites actifs des BMR

Le potentiel bioactif du système ligand conçu a été évalué à l'aide de simulations d'amarrage moléculaire *in silico* [310][311]. Afin de déterminer son affinité de liaison et ses caractéristiques d'interaction, le ligand a été ancré aux sites actifs de quatre macromolécules cibles sélectionnées, dont *E. coli* (PDB ID : 9CD2), *P. aeruginosa* (PDB ID : 8YZ3), *K. pneumoniae* (PDB ID : 9BD4), et *K. aerogenes* (PDB ID : 9DUG), une enzyme clé impliquée dans la biosynthèse du cholestérol. Ces simulations visaient à identifier les complexes ligand-enzyme les plus stables et à prédire l'activité inhibitrice potentielle du composé.

La figure 16 présente une visualisation détaillée des résultats de l'arrimage moléculaire des AgClNPs avec une protéine cible d'*E. coli*, révélant la nature et la force des interactions nanoparticule-protéine.

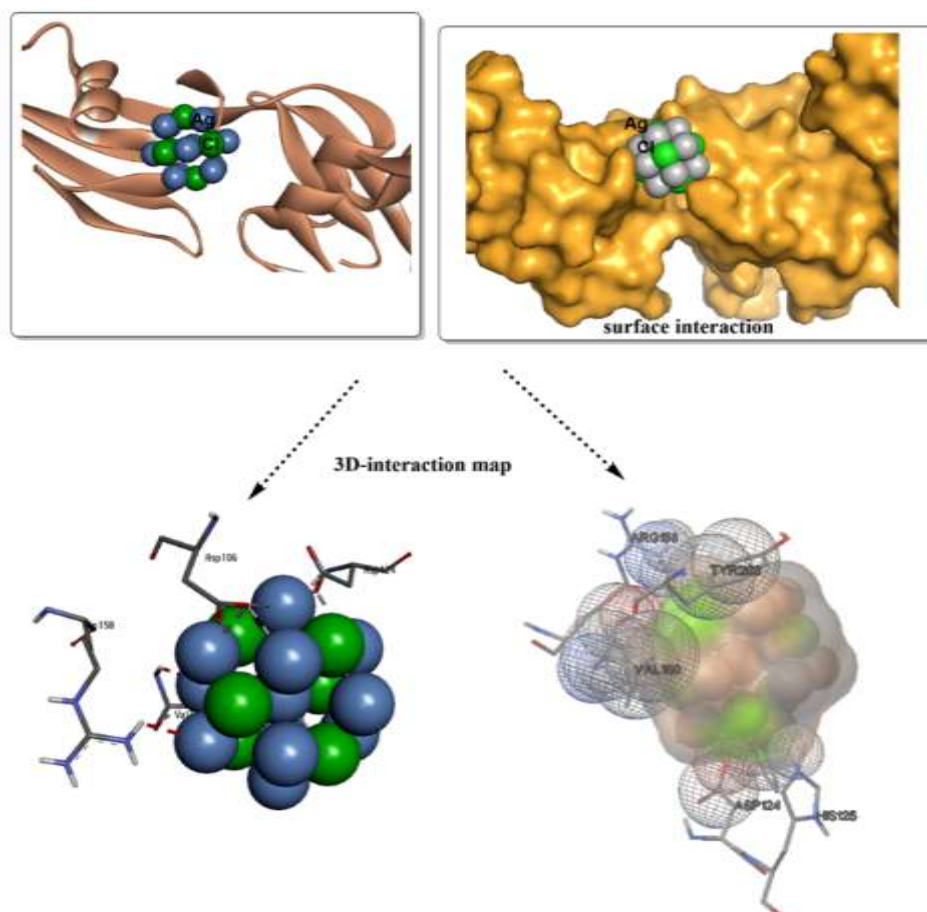


Figure 16: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses AgClNPs dans les sites actifs prédits d'*Escherichia coli* (PDB ID : 9CD2), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).

Dans le panneau supérieur gauche, le modèle de dessin animé montre les AgClNPs ancrées dans une cavité bien définie de la structure secondaire de la protéine. Le panneau supérieur droit, illustrant l'interaction de surface, confirme que les AgClNPs sont partiellement enfouies dans une poche hydrophobe de la protéine, indiquant une forte complémentarité spatiale et suggérant la formation d'interactions stables avec une affinité de liaison modérée (-2,06 kcal/mol). Le panneau inférieur gauche révèle une carte d'interaction 3D avec les résidus d'acides aminés clés, ASP 106, ARG 158, ASP 124 et VAL 160, entourant la nanoparticule. Ces résidus sont positionnés pour former des interactions acceptrices de métaux et électrostatiques potentielles, notamment avec les régions chargées ou polaires des AgClNPs. Le panneau inférieur droit apporte davantage de clarté en cartographiant le champ d'interaction moléculaire, mettant en évidence des résidus tels que HIS 125, ARG 158 et TYR 203 comme points de contact critiques. Les sphères de maillage environnantes indiquent des interactions de van der Waals et polaires favorables au sein du site actif. Ces résultats d'amarrage suggèrent

que les AgClNPs peuvent former de multiples interactions stabilisatrices avec des résidus vitaux de la protéine d'*E.coli*, étayant leur rôle potentiel dans la perturbation de la fonction enzymatique bactérienne et renforçant leur application comme agents antimicrobiens.

La figure 17 illustre la conformation de liaison entre les AgClNPs et *P. aeruginosa*, l'interaction de surface et la cartographie tridimensionnelle des interactions.

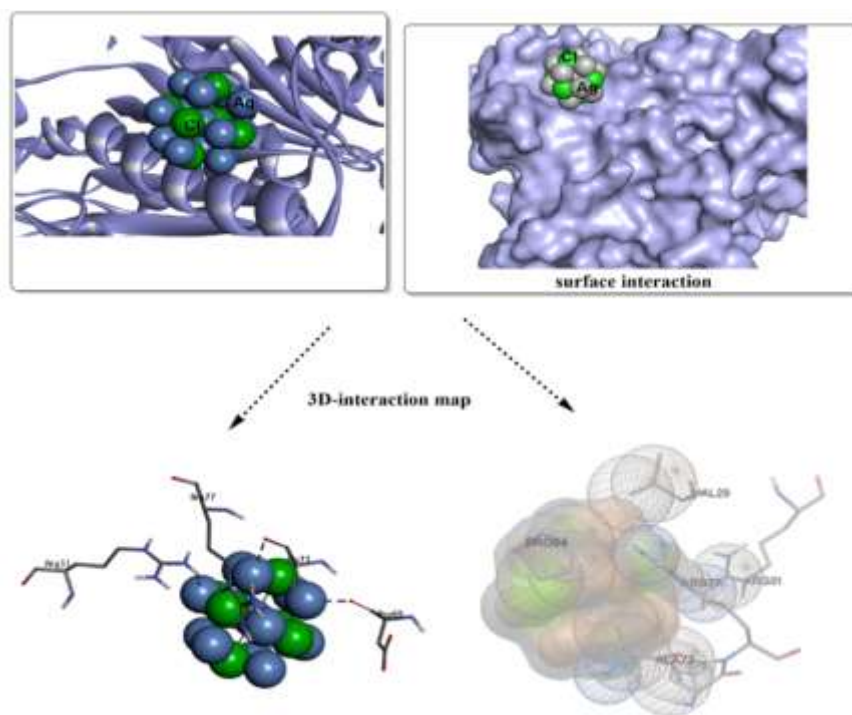


Figure 17: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses AgClNP dans les sites actifs prédits de *Pseudomonas aeruginosa* (PDB ID : 8YZ3), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).

Le panneau en haut à gauche présente le cluster AgClNPs, avec des atomes d'argent (Ag) et de chlorure (Cl) représentés par des sphères remplissant l'espace, positionnés au sein du site actif de la protéine, indiquant une interaction stable et géométriquement favorable. La représentation de surface dans le panneau en haut à droite confirme que les AgClNPs sont profondément enchâssées dans une poche hydrophobe bien définie, suggérant une forte complémentarité de surface, ce qui pourrait améliorer la stabilité de la liaison. Les panneaux du bas offrent une vue détaillée des interactions moléculaires spécifiques ; le panneau de gauche montre des résidus d'acides aminés clés tels que ARG 31, ARG 77, ALA 73 et ASP 69 formant des contacts étroits avec la nanoparticule, impliquant des interactions électrostatiques potentielles, un accepteur métallique et des forces de van der Waals avec une énergie de liaison de -2,12 kcal/mol. Le panneau de droite présente une carte d'interaction 3D avec des contours

de maillage et des surfaces colorées identifiant la disposition spatiale des résidus (par exemple, VAL 29, PRO 84, VAL76) entourant le noyau d'AgCl, renforçant ainsi l'idée d'un réseau d'interaction multirésidus stabilisant le complexe. Collectivement, ces informations structurales démontrent que les AgClNPs interagissent étroitement avec des résidus cruciaux dans la poche de liaison protéique, perturbant potentiellement sa fonction et contribuant à l'activité antimicrobienne contre *P. aeruginosa*.

Dans le cas de *K. pneumoniae* (Figure 18), l'analyse d'amarrage moléculaire des AgClNPs conçues avec une protéine cible est présentée, offrant un aperçu de la conformation de liaison et de la dynamique d'interaction au niveau moléculaire.

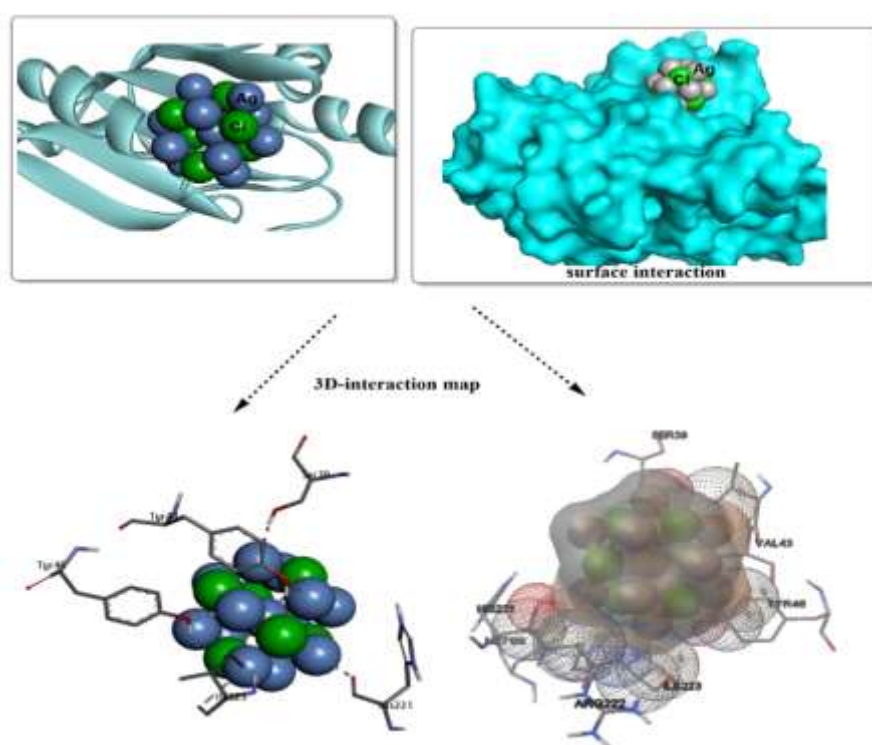


Figure 18: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses AgClNPs dans les sites actifs prédits de *Klebsiella pneumoniae* (PDB ID : 9BD4), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).

Dans le panneau supérieur gauche, le modèle en ruban montre les atomes d'Ag (gris/bleu) et de Cl (vert) de la nanoparticule logés dans une cavité clairement définie de la structure tertiaire de la protéine (affichée en cyan). Le panneau supérieur droit, qui représente la surface de la protéine, montre que l'AgClNP est étroitement nichée dans une poche hydrophobe, indiquant une complémentarité spatiale et chimique favorable entre l'AgClNP et la surface de la protéine. Dans le panneau inférieur gauche, un gros plan de la carte d'interaction 3D révèle que des résidus tels que TYR 44, TYR 46, HIS 221 et ILE 223 sont positionnés à

proximité immédiate de la nanoparticule, suggérant de possibles interactions accepteur de métal et de van der Waals. Le panneau inférieur droit fournit quant à lui un champ d'interaction volumétrique, illustrant l'environnement moléculaire entourant les AgClNPs. Les résidus clés, VAL 43, MET 139 et ARG 222, forment un réseau d'interactions défini, visualisé par des contours de maillage mettant en évidence les zones électrostatiques et hydrophobes autour du ligand. Collectivement, ces résultats indiquent que les AgClNPs interagissent de multiples manières stabilisantes avec des résidus critiques de la protéine *K. pneumoniae*, présentant la meilleure affinité de liaison avec une énergie de -2,27 kcal/mol, renforçant ainsi leur potentiel à perturber la fonction protéique bactérienne et validant leur efficacité antimicrobienne grâce à une forte liaison moléculaire.

La figure 19 illustre les interactions d'ancrage moléculaire entre les AgClNPs biosynthétisées et une protéine cible de *K. aerogenes*, révélant un mode de liaison stable et bien défini.

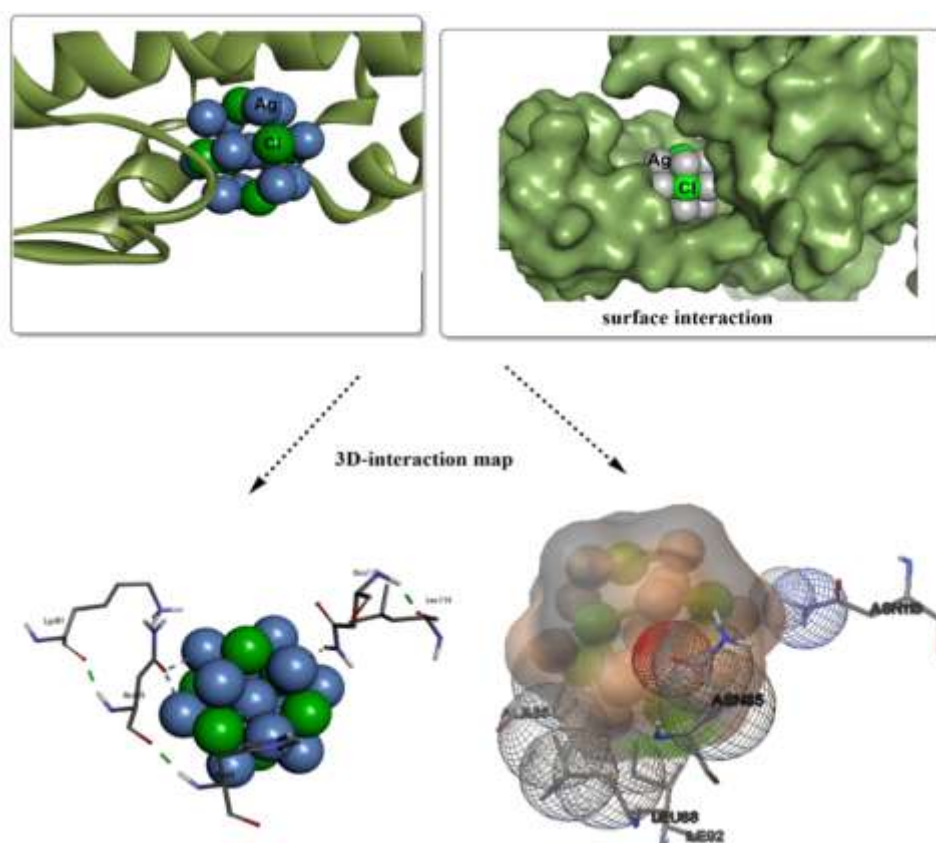


Figure 19: Simulation d'amarrage moléculaire des meilleures poses d'AgClNPs dans les sites actifs prédits de *Klebsiella aerogenes* (PDB ID : 9DUG), interaction de surface avec d'autres contacts polaires à l'aide de cartes 3D (les contacts étroits sont représentés par une sphère d'interaction sur le côté droit).

Dans le panneau supérieur gauche, un modèle en gros plan de type « bille et bâton » met en évidence l'encapsulation des atomes d'Ag et de Cl (respectivement gris/bleu et vert) dans la cavité de liaison interne de la protéine, entourés de résidus clés de sa structure secondaire. La représentation de surface (en haut à droite) confirme que les AgClNPs sont intégrés dans un sillon hydrophobe de la protéine, suggérant un site de liaison stériquement et électrostatiquement favorable. Les panneaux inférieurs offrent un aperçu plus approfondi du paysage des interactions : la structure en bas à gauche montre des résidus d'acides aminés clés tels que LYS 81, ASN 85, HIS 89 et ASN 118 en contact étroit avec la nanoparticule, indiquant de possibles interactions électrostatiques et acceptrices de métaux, avec une énergie de liaison prédite de -2,20 kcal/mol. Le panneau inférieur droit visualise la carte d'interaction 3D, où les maillages de contour et les surfaces ombrées représentent l'occupation spatiale et les champs d'interaction entre la nanoparticule et des résidus tels que ASN85, LEU88 et ILE92.

Ensemble, ces analyses confirment que les AgClNPs forment de multiples interactions stabilisatrices avec des résidus critiques de la protéine *K. aerogenes*, étayant leur rôle potentiel dans la perturbation de la fonction protéique bactérienne et contribuant à leur activité antimicrobienne.

Dans la présente étude, une divergence a été observée entre l'activité antibactérienne des AgClNPs mesurée *in vitro* et les résultats prédits par amarrage moléculaire. Bien que les souches d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* aient montré une forte inhibition lors des tests biologiques, les affinités de liaison les plus élevées ont été observées avec des cibles de *Klebsiella pneumoniae* au niveau *in silico*. Ce résultat est cohérent avec plusieurs études récentes. Par exemple, Iftikhar *et al.* [224] ont démontré que les nanoparticules de TiO₂ modifiées par un métal présentaient une activité antimicrobienne efficace contre *E. coli* et *S. aureus*, mais les simulations d'amarrage ont révélé des interactions préférentielles avec des protéines bactériennes différentes de celles testées biologiquement. De même, Rashid *et al.* [225] ont rapporté une activité *in vitro* marquée des nanobâtonnets de ZnO dopés au cuivre, tandis que les résultats *in silico* ont mis en évidence des cibles enzymatiques variées, suggérant une complexité dans le mécanisme d'action. Cet écart peut s'expliquer par plusieurs facteurs biologiques que l'amarrage moléculaire ne prend pas en compte, tels que la perméabilité membranaire, l'efflux actif, la stabilité colloïdale des nanoparticules ou leur interaction avec la matrice extracellulaire bactérienne. De plus, Tiwari *et al.* [312] ont souligné que les propriétés physicochimiques des nanoparticules métalliques telles que la taille, la charge de surface et la fonctionnalisation des peptides influencent directement leur interaction avec les membranes

bactériennes et les protéines, ce qui pourrait expliquer les écarts observés entre prédiction et expérimentation. Ainsi, ces différences soulignent la nécessité d'intégrer des approches expérimentales et informatiques pour obtenir une vision plus complète du comportement des nanoparticules métalliques dans des contextes biologiques complexes.

V.1.4 Mécanismes antibactériens des AgCINPs biosynthétisées

Les mécanismes précis par lesquels les nanoparticules exercent leur activité antibactérienne restent mal compris. Les mécanismes proposés pour l'activité antibactérienne des nanoparticules incluent la libération de lipopolysaccharides, les interactions électrostatiques et la perturbation de la perméabilité membranaire [308]. Notre mécanisme d'activité antibactérienne proposé peut être décrit comme suit (Figure 20).

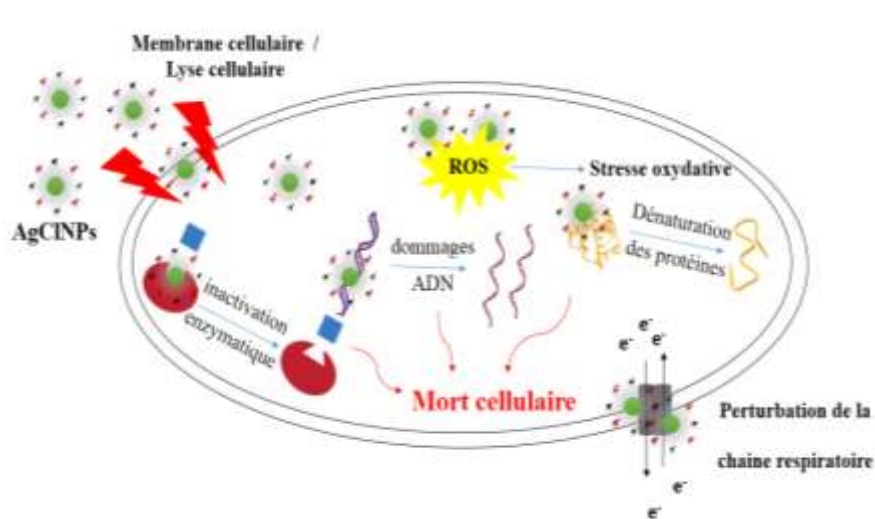


Figure 20: Mécanisme antibactériens des AgCINPs biosynthétisées.

Le mécanisme d'activité antimicrobienne des AgCINPs pourrait être associé à l'inhibition et à la destruction de la structure protéique présente dans les pathogènes, renforçant et intensifiant ainsi leur action [19]. De petites nanoparticules sphériques de chlorure d'argent peuvent pénétrer la cellule bactérienne par des liaisons physico-chimiques, entraînant une déstabilisation de la membrane et une fuite cytoplasmique. La présence d'AgCINPs dans la cellule induit la libération de radicaux libres et la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui endommagent la structure subcellulaire et inactivent les enzymes, les protéines et les nucléotides microbiens [2]. De plus, les ROS interagissent avec les groupes thiols des protéines et inhibent la réplication de l'ADN, entraînant une inhibition du transport d'électrons et, par conséquent, des troubles de la chaîne respiratoire [19]. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) à l'intérieur des bactéries provoque un déséquilibre du transport, une altération de la respiration, une perturbation de la transduction énergétique et/ou de la lyse cellulaire, et,

par conséquent, la mort cellulaire bactérienne [313]. La présente étude a clairement démontré que les nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées présentaient une activité antibactérienne significative contre les bactéries de référence et les bactéries multirésistantes.

V.2 Activité antioxydante des AgClNPs biosynthétisées

V.2.1 Test de piégeage de radical libre DPPH

Le radical libre stable DPPH a été utilisé dans la présente étude pour déterminer le pouvoir antioxydant des AgClNPs biosynthétisées. Pour l'estimation comparative du pouvoir antioxydant des AgClNPs, l'acide ascorbique, un étalon de référence bien connu, sera également étudié. Par ailleurs, le pourcentage d'inhibition (%) du radical libre 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH) par différentes concentrations de 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 et 100 µg/mL d'AgClNPs biosynthétisées a été étudié et calculé selon l'équation (V.1) :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du DPPH} = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100 \quad (\text{V.1})$$

Où : A_c : absorbance du témoin

A_e : absorbance de l'échantillon.

Les AgClNPs ont piégé les radicaux DPPH de manière dépendante de la concentration, comme le montre la figure 21, avec une différence non significative avec l'acide ascorbique ($P < 0,05$).

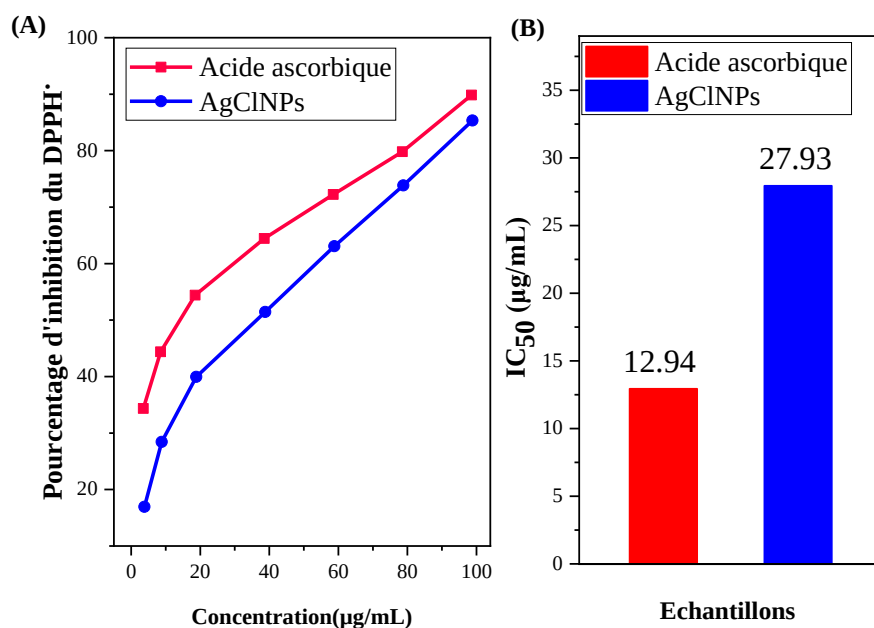


Figure 21: Activité de piégeage des radicaux DPPH Valeurs dose-dépendantes (A) et CI50 (B) des AgClNPs et de l'acide ascorbique.

Les AgClNPs biosynthétisées par le surnageant de *Streptococcus* sp. ont la capacité de réduire le radical DPPH violet par un mécanisme de transfert d'atomes d'hydrogène, ce qui entraîne une altération de la couleur en molécules DPPH jaune pâle stable [314]. 100 µg/mL d'AgClNPs et d'acide ascorbique ont la capacité d'inhiber respectivement $86,66 \pm 0,58$ % et $90,65 \pm 0,56$ % des radicaux libres DPPH. Ces pourcentages d'inhibition diminuent significativement ($P < 0,05$) avec la diminution de la concentration, ainsi, la faible concentration d'AgClNPs et d'acide ascorbique qui est de 5 µg/mL peut réduire respectivement $35,11 \pm 0,43$ et $41,73 \pm 2,91$ des radicaux libres DPPH (Figure 21.A). Il est important de noter que les résultats obtenus dans cette étude étaient meilleurs que les études rapportées. À titre d'exemple, Huo *et al.* [292], ont biosynthétisé des AgClNPs à partir de la bactérie du sol *Flavobacterium panacis*, où ils ont constaté que le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH était égal à $84,9 \pm 0,34$ % mais à une concentration de 2000 µg/mL qui considérait une concentration plus élevée par rapport à cette étude. Une autre étude de Patra *et al.* [315] a démontré que les AgClNPs à une concentration de 100 µg/mL pouvaient inhiber 80,33 % des radicaux DPPH. Par conséquent, la concentration efficace d'AgClNPs pour réduire la concentration initiale de DPPH de 50 % (CI50) s'est avérée être de 27,93 µg/mL (Figure 21. B). Ces résultats sont considérés comme bons par rapport à ceux de Huo *et al.* [292] qui ont constaté que la CI50 des AgClNPs est de 920 µg/mL.

Le pouvoir anti radicalaire (ARP) est un autre paramètre qui peut être utilisé pour définir l'activité antioxydante. Ce paramètre est défini comme l'inverse de la CI50. C'est pourquoi une valeur plus élevée de la CI50 est associée à un pouvoir antiradicalaire plus faible, déterminé selon la formule (V.2) [316]:

$$ARP = \frac{1}{IC_{50\%}} \quad (V.2)$$

Cependant, les données obtenues dans la présente étude montrent un pouvoir antiradicalaire deux fois supérieur à celui des données de la littérature, où la valeur de l'ARP était de 0,2 pour les nanocomposites d'argent synthétisés biologiquement [317].

La forte capacité antiradicalaire des AgClNPs peut s'expliquer par la présence de molécules bioactives produites par *Streptococcus* sp. à la surface des nanoparticules biosynthétisées, comme le montrent les résultats de spectroscopie IR-TF et DLS. Ces molécules ont augmenté la capacité des nanoparticules de chlorure d'argent à transférer des atomes d'hydrogène et des électrons libres au milieu contenant du DPPH, neutralisant ainsi la substance cible (Figure 22), ce qui est cohérent avec ceux rapportés par Yousefzadeh-Valendeh et ses collègues en [318].

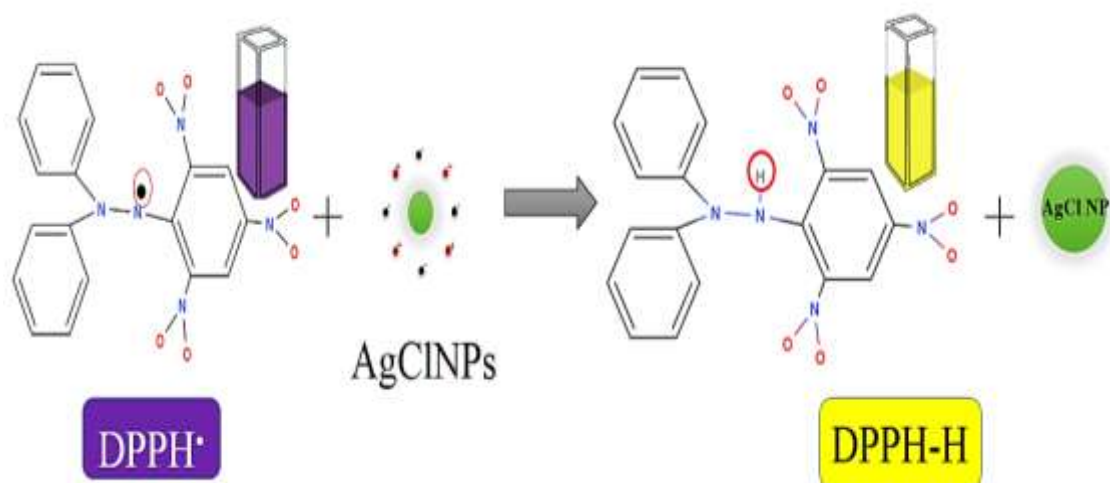


Figure 22: Schéma du mécanisme de réduction le radical libre DPPH par les AgClNPs biosynthétisées par le surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp.

V.2.2 Test de piégeage de radical libre ABTS

L'activité de piégeage du radical ABTS est calculée selon l'équation (V.3) :

$$\text{Activité de piégeage du radical ABTS (\%)} = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100 \quad (\text{V.3})$$

Ou, A_c : absorbance du contrôle ;

A_e : absorbance de l'échantillon.

Au vu de la figure 23, à mesure que la concentration d'AgClNPs et l'acide ascorbique augmente de 5 à 100 $\mu\text{g/mL}$, son activité de piégeage des radicaux ABTS augmente de manière proportionnelle, passant de 9,32% à 98,52 % pour l'AgClNPs et de 15,71 à 99,03 pour l'acide ascorbique.

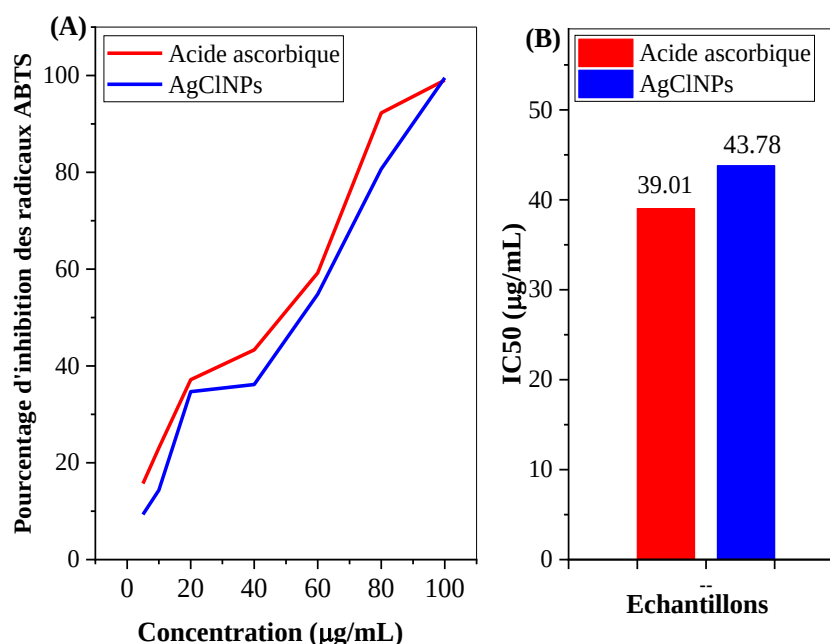


Figure 23: Activité de piégeage des radicaux ABTS Valeurs dose-dépendantes (A) et CI50 (B) des AgClNPs et de l'acide ascorbique.

L'IC50 de l'AgClNPs et de l'acide ascorbique est de 43.78 μg/mL et 39.01 μg/mL, respectivement. Le mécanisme de réduction le radical ABTS par les AgClNPs biosynthétisées par le surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp est présenté dans la figure (24).

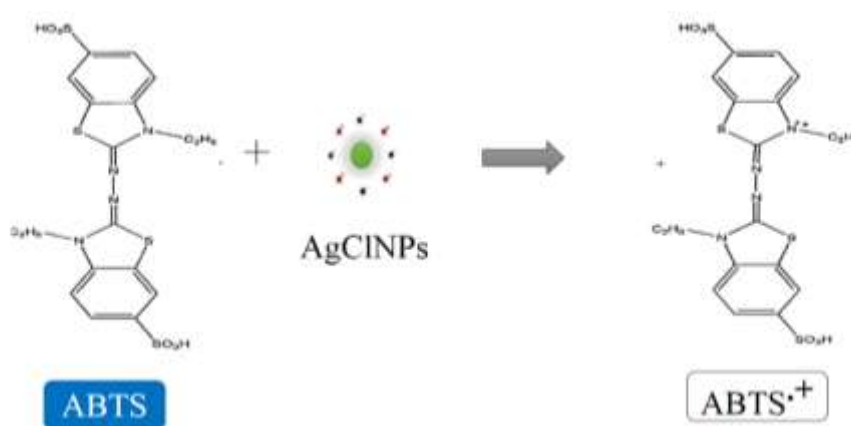


Figure 24: Schéma du mécanisme de réduction le radical ABTS par les AgClNPs biosynthétisées par le surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp.

V.2.3 Activité antioxydante totale

La détermination de la capacité antioxydante totale (CAT) est l'un des principaux défis des tests antioxydants. Les résultats de la CAT des AgClNPs biosynthétisées sont présentés dans la Figure 25, indiquant l'efficacité de conversion thermodynamique du complexe de molybdate $\text{Mo}^{6+} \rightarrow \text{Mo}^{5+}$ par AgClNPs.

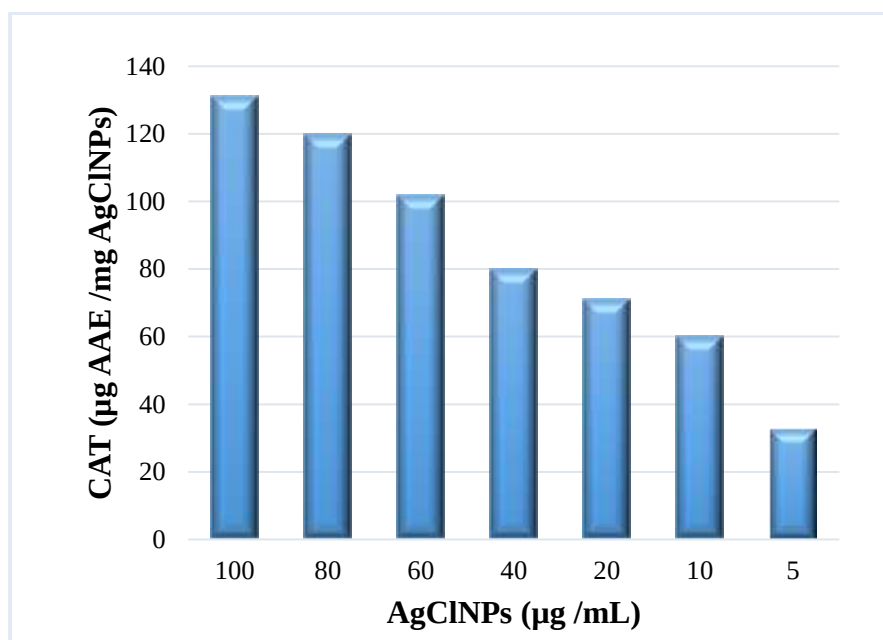


Figure 25: Capacité antioxydante totale des AgClNPs biosynthétisées

L'activité antioxydante totale était proportionnelle à la concentration d'AgClNPs biosynthétisées. Le pouvoir antioxydant total maximal de $131,12 \pm 0,15$ µg AAE/mg a été atteint à une concentration de 100 µg/mL, suivi de $120,01 \pm 0,41$, $102,67 \pm 0,25$, $80,73 \pm 0,03$, $71,51 \pm 0,20$, $60,49 \pm 0,4$, $33,26 \pm 2,5$ µg AAE/mg d'AgClNPs à des concentrations de 80, 60, 40, 20, 10, 5 µg/mL, respectivement. Ces résultats sont en accord avec ceux du test DPPH. Par conséquent, les AgClNPs biosynthétisées à partir de *Streptococcus* sp. le surnageant possède une activité antioxydante significative, ce qui le rend utilisé comme antioxydant naturel.

V.3 Cytotoxicité *in vitro*, *in vivo* et *in silico* des AgClNPs biosynthétisées

Avant toute application thérapeutique, il est indispensable d'évaluer le profil de cytotoxicité des nanoparticules. En effet, l'étude *in vitro*, *in vivo* et *in silico* de leur innocuité constitue une étape cruciale pour garantir leur sécurité et leur compatibilité biologique, condition essentielle à leur développement comme alternative prometteuse aux antibiotiques.

L'évaluation *in vitro* est une méthode importante, les avantages incluent un coût réduit, une rapidité accrue et des préoccupations éthiques minimales [286]. Ainsi que, L'évaluation de la toxicité *in vivo* est généralement réalisée sur des modèles animaux comprennent l'histopathologie, la biodistribution, la clairance, l'hématologie et la chimie du sérum [319]. De plus, il existe un besoin croissant de modèles informatiques capables de prédire d'éventuels effets nocifs.

L'Agence européenne des médicaments (EMA) et la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis sont deux exemples d'organismes de réglementation qui soulignent l'importance de la toxicologie verte, conformément aux principes de la chimie verte. L'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (EPA) et l'Agence européenne pour l'environnement (AEE).

V.3.1 Viabilité de *Saccharomyces cerevisiae*

L'étude de biocompatibilité *in vitro* des AgClNPs (étude de l'inhibition de la croissance cellulaire des cellules de *Saccharomyces cerevisiae*) a été réalisée afin de déterminer l'effet toxicologique des AgClNPs, en utilisant la souche *S. cerevisiae* comme modèle pour les cellules eucaryotes. Le pourcentage de viabilité et de mortalité de *Saccharomyces cerevisiae* en présence de différentes concentrations d'AgClNPs est présenté à la figure 26.

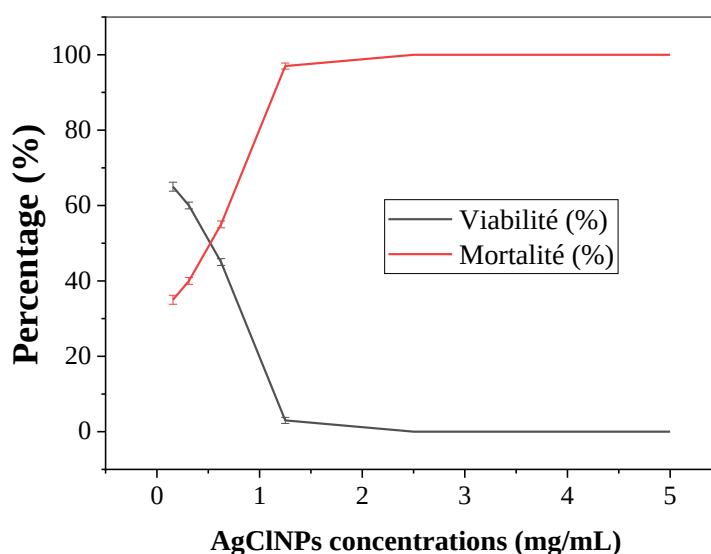


Figure 26: Pourcentage de viabilité et de mortalité de *Saccharomyces cerevisiae* après incubation pendant 48 h dans des AgClNPs.

Les résultats ont montré que les AgClNPs exerçaient un effet toxique concentration-dépendant sur la viabilité et la mortalité de *Saccharomyces cerevisiae*, avec une différence significative ($P < 0,05$). La mortalité de *S. cerevisiae* atteint 100 % après 48 heures d'incubation dans 2,5 mg/mL d'AgClNP. En revanche, les concentrations de 1,25, 0,625, 0,312 et 0,156 mg/mL d'AgClNP entraînent des taux de mortalité respectifs de 97, 55, 40 et 35 % des cellules de *Saccharomyces cerevisiae* après 48 heures d'incubation. En comparaison, le témoin négatif n'a montré aucune toxicité, confirmant l'innocuité du système testé. La concentration létale à

50 % d'AgClNP, qui entraîne la mort de 50 % des *Saccharomyces cerevisiae*, est calculée selon la formule (V.6) :

$$LC_{50} = C_1 + \frac{(50 - M_1) \times (C_2 - C_1)}{(M_2 - M_1)} \quad (V.6)$$

Où,

C1 : La concentration la plus élevée où la mortalité est supérieure à 50 % ;

C2 : La concentration la plus faible où la mortalité est inférieure à 50 % ;

M1 : Le pourcentage de mortalité à C1 ;

M2 : Le pourcentage de mortalité à C2.

La CL₅₀ estimée des AgClNPs est comprise entre 0,625 et 0,312 mg/mL, montrant une cytotoxicité dose-dépendante claire. Mortalité totale à $\geq 1,25$ mg/mL d'AgClNPs ; récupération partielle à des concentrations plus faibles. La concentration létale d'AgClNPs est de 0,520 mg/mL. D'autres chercheurs ont démontré la biocompatibilité des AgNPs biosynthétisées avec les AgNPs synthétisés chimiquement dans divers modèles de cellules eucaryotes. Les AgNPs synthétisés avec un extrait de *S. praealtum* montrant une inhibition de croissance maximale de 12 % [320]. De plus, Kummara *et al.* [321] ont démontré que les AgNPs synthétisés chimiquement présentent une toxicité supérieure à 50 % avec 120 µg/mL d'AgNPs, tandis que la toxicité des AgNPs synthétisés par des méthodes vertes atteint environ 20 %. Dans une autre étude menée par Jadhav *et al.* (2018), la toxicité était inférieure à 5 % avec 18 µg/mL d'AgNPs obtenues avec un extrait de *Salacia Chinensis*. De même, 10 µg/mL d'AgNPs commerciales réduisent la viabilité de *S. cerevisiae* jusqu'à 64 % [322]. Selon Mameneh *et al.* [323], l'effet toxique des nanoparticules varie en fonction de la taille, de la distribution granulométrique, de la forme, du revêtement/de la couverture, de l'agglomération, de la vitesse de dissolution, de l'efficacité de libération des ions et des agents réducteurs utilisés pour la synthèse. Globalement, les AgClNPs biosynthétisées avec un surnageant extracellulaire de *Streptococcus* sp. peuvent être considérés comme sûrs pour une application sur des cellules eucaryotes.

V.3.2 Bio-essai de la létalité sur *Artemia salina* (toxicité aiguë)

L'évaluation de l'écotoxicologie aquatique des AgClNPs dans les lacs salés à l'aide de nauplii d'*Artemia salina*. Le taux de survie a été calculé selon la formule (V.7) [324]:

$$\text{Taux de survie d'Artemia salina (\%)} = \frac{\text{nombre de larves vivantes}}{\text{nombre total de larves}} \times 100 \quad (\text{V.7})$$

Le tableau 15 présente les pourcentages de survie des larves d'*Artemia salina* après exposition aux AgClNPs (0,0468 à 3 mg/mL), ainsi que des groupes témoins, à différents intervalles de temps (T0, T0,5, T1, T3, T6 et T24h).

Tableau 16: Effets cytotoxiques des AgClNPs sur les larves d'*Artemia salina* au cours du temps.

	Pourcentage de survie d' <i>Artemia salina</i> (%)					
AgClNPs (mg/mL)	T ₀	T _{0.5}	T ₁	T ₃	T ₆	T _{24h}
3	100	100	100	50	30	10
1.5	100	100	100	100	10	20
0.75	100	100	100	100	100	40
0.375	100	100	100	100	100	100
0.187	100	100	100	100	100	100
0.0937	100	100	100	100	100	100
0.0468	100	100	100	100	100	100
Controle Negatif	100	100	100	100	100	100
Controle Positif	100	60	90	0	0	0

Les résultats indiquent clairement que la toxicité aquatique augmente avec la concentration et la durée d'exposition aux AgClNPs. En d'autres termes, plus la dilution des échantillons sont élevée, plus le nombre d'individus immobilisés n'est faible. En considérant les dispersions non diluées (dispersion à 100 % d'AgClNPs), celles avec des concentrations d'argent total plus élevées ont entraîné une mortalité plus élevée pour *A. salina*. Bien que tous les AgClNPs aient été appliqués aux organismes à de faibles doses correspondant aux valeurs environnementales, l'effet toxique a été observé parallèlement à l'augmentation au fil du temps. Les AgClNPs à des concentrations $\leq 0,375$ mg/mL ne montrent aucun effet toxique au fil du temps ; au contraire, à des concentrations $> 0,375$ mg/mL, le taux de mortalité d'*Artemia salina* augmente avec la concentration d'AgClNPs, atteignant 60 % à 0,75 mg/mL d'AgClNPs après 24 heures d'incubation. En revanche, le contrôle négatif (0,05% de méthanol dans l'eau de mer) n'a montré aucun effet toxique sur les cellules d'*Artemia salina*, tandis que le contrôle positif au dichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) a montré une mortalité cellulaire totale après 3 heures d'incubation, renforçant la validité de l'expérience et l'importance de nos résultats.

La dose létale à 50 % d'AgClNPs est comprise entre 0,75 et 0,375 mg/mL d'AgClNPs, ce qui confirme les résultats obtenus dans le test *in vitro* de *Saccharomyces cerevisiae*. Ces résultats confirment la dose létale d'AgClNPs, qui se situe entre 0,625 et 0,312 mg/mL d'AgClNPs. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'Unal et Egri. [325], qui indiquent que la toxicité aquatique augmente avec la concentration et le temps d'exposition, et que le taux de mortalité le plus élevé a été observé à 50 ppm après 72 heures. Par conséquent, les AgNPs synthétisées à partir d'un extrait végétal de *R. ribes* peuvent constituer une production naturelle, économique et respectueuse de l'environnement dans de nombreux domaines, tels que les technologies médicales et environnementales [325]. Lors du test témoin négatif, réalisé uniquement avec la solution de Meyer, un seul individu est mort.

La figure 27 présente les résultats de l'observation microscopique d'*Artemia salina* avant et après incubation dans des AgClNP à 2,5 mg/mL.

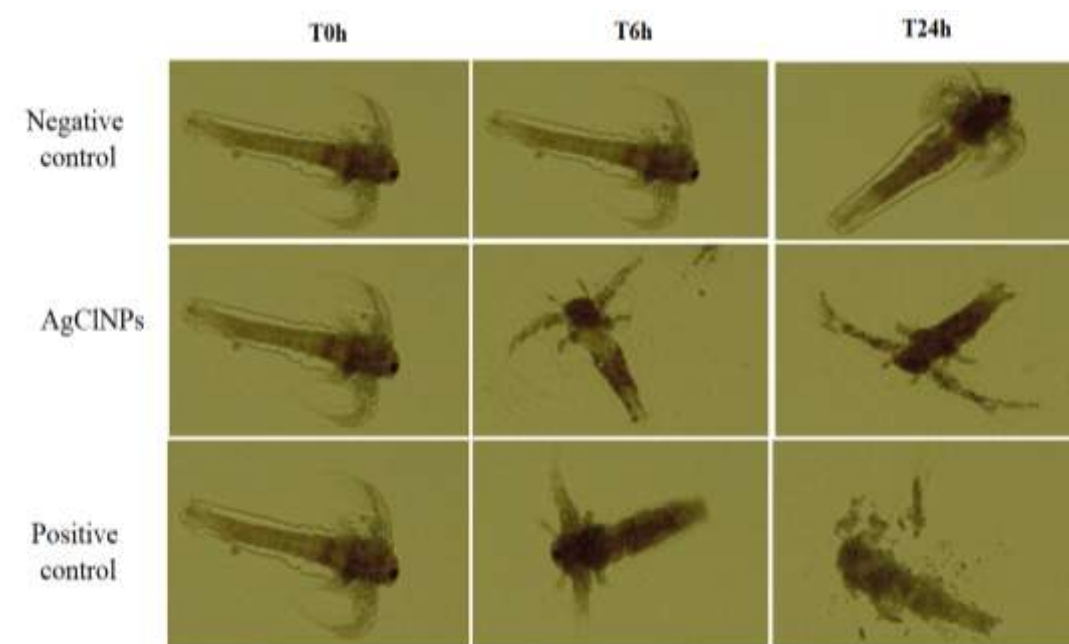


Figure 27: Image de microscopie à différents moments d'*Artemia salina* exposée aux AgClNPs, contrôles négatifs et positifs.

D'après les images obtenues par analyse microscopique à contraste de phase réalisée pour observer l'interaction de tous les organismes vivants utilisés dans l'expérience avec les AgClNPs : Il est clair que les larves d'*A. salina* traitées avec des AgClNPs ont induit des altérations modérées, notamment : une motilité diminuée, une perte progressive de transparence et des anomalies morphologiques, reflétant un effet toxique relatif. En comparaison, le témoin négatif a conservé une motilité normale et une morphologie intacte, sans aucun signe de toxicité, tandis que le témoin positif a entraîné de graves altérations, avec une mortalité presque totale et des déformations marquées, confirmant ainsi la validité du test. Selon Becaro *et al.*

[326], les nanoparticules métalliques sont ingérées par *A. salina* et peuvent s'agglomérer dans l'intestin, interférant avec la prise alimentaire, empêchant ainsi l'absorption des nutriments et provoquant la mort des organismes.

V.3.3 Prédiction de la toxicité

La prédiction de la toxicité d'un composé fournit les résultats des effets spécifiques sur les organes et les systèmes organiques. Le rapport indique également la classe de toxicité du composé, allant de 1 à 6, 1 étant la plus toxique et 6 la moins toxique [327]. Les valeurs de DL50 ont été incluses dans les rapports de toxicité pour les deux composés. De plus, le rapport propose des options pour des modèles supplémentaires de prédiction de la toxicité aiguë, grâce à la sélection effectuée [328]. Sur la base de ces sélections, un rapport a été généré pour les AgClNPs est présenté à la figure 28, qui illustre leur toxicité telle qu'observée dans les organes et systèmes organiques humains.

Les résultats démontrent que les AgClNPs présentent de faibles probabilités d'effets toxiques majeurs, notamment l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité et l'immunotoxicité, avec des scores de confiance élevés. Ainsi que, les résultats ont révélé que les AgClNPs biosynthétisé appartenaient à la classe III avec une DL₅₀ de 276 mg/kg, suggèrent un niveau modéré de toxicité aiguë. Il a été conclu qu'aucun dommage important ne se produit, sauf en cas d'ingestion de concentrations plus importantes de ces composés pour un poids corporel donné. Cela permet non seulement de rassurer rapidement sur leur applicabilité biomédicale, mais souligne également leur potentiel en tant que nanomatériaux relativement sûrs.

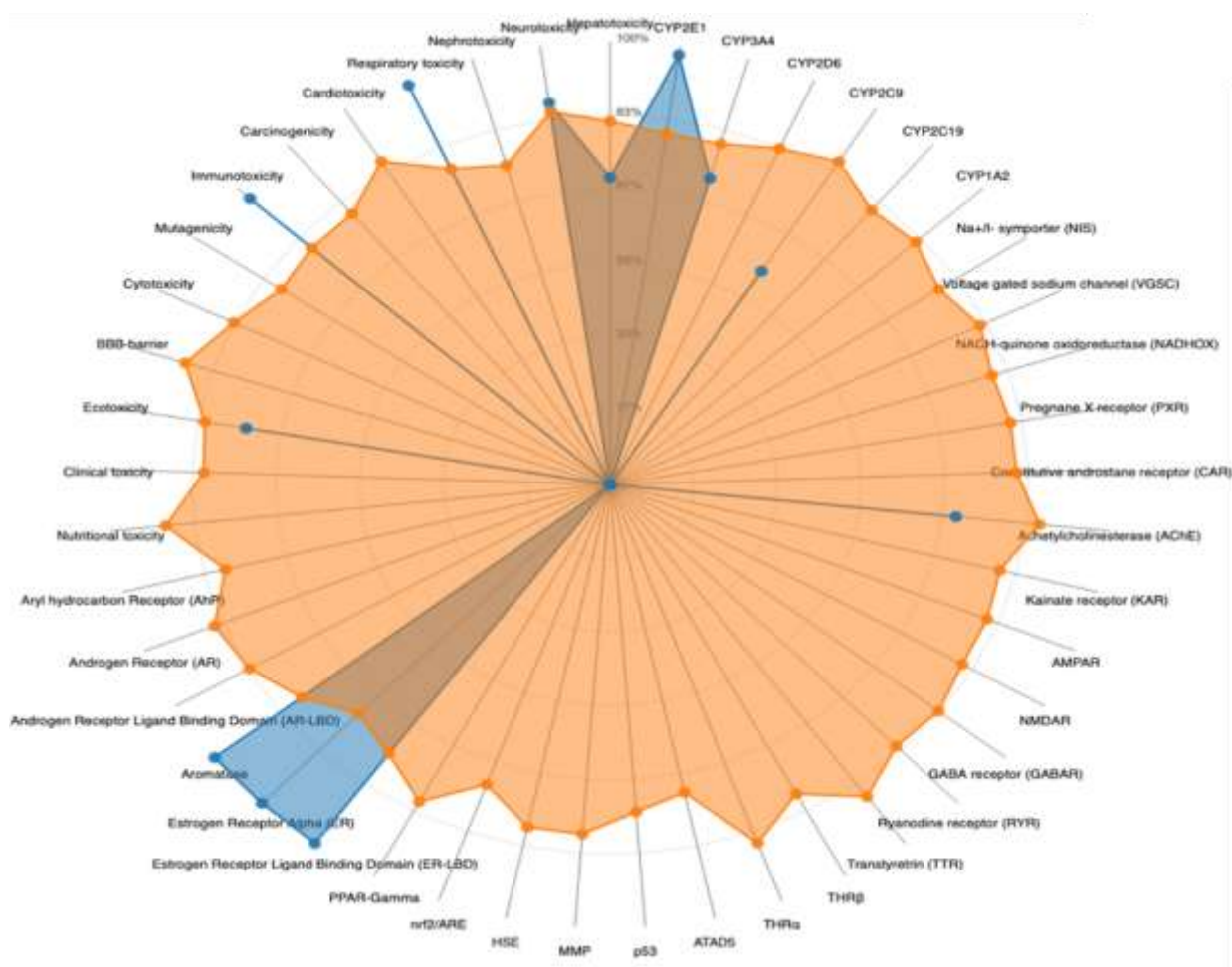


Figure 28: Prédiction de la toxicité chez l'homme pour les AgCINPs.

Les résultats de profils de toxicité spécifiques à chaque organe prévu pour les AgCINPs biosynthétisées, évalués à l'aide du serveur web ProTox 3.0 présenté dans le tableau 16 et l'annexe 5. Les prédictions sont présentées sous forme de classifications binaires (actif/inactif) avec les probabilités de confiance associées.

Tableau 17: Profils de toxicité spécifiques à chaque organe prévus pour les AgCINPs biosynthétisées

Point final de toxicité	Prédiction	Probabilité
Hépatotoxicité	Inactif	0.99
Néphrotoxicité	Inactif	0.83
Toxicité respiratoire	Inactif	0.97
Cardiotoxicité	Inactif	0.73

Immunotoxicité	Inactif	0.99
Mutagénicité	Inactif	0.82
Cytotoxicité	Inactif	0.74
Écotoxicité	Inactif	0.50
Toxicité clinique	Inactif	0.85
Toxicité nutritionnelle	Inactif	0.58
Récepteur GABA (GABAR)	Inactif	0.69

Du point de vue de la sécurité environnementale, la prédiction limite d'écotoxicité (50 %) soulève d'importantes considérations. Les nanoparticules pouvant interagir avec les écosystèmes aquatiques et terrestres, des études écotoxicologiques complémentaires sont nécessaires pour garantir leur utilisation durable. Aborder ce point est particulièrement pertinent dans le cadre de la chimie et de la toxicologie vertes, qui prônent la conception de produits chimiques plus sûrs tout en minimisant les risques écologiques. Prises ensemble, les prédictions informatiques constituent une première étape précieuse vers l'établissement du profil toxicologique des AgClNPs. En intégrant des outils de toxicologie informatique tels que ProTox-III, les chercheurs peuvent cribler efficacement les nanomatériaux, identifier les dangers potentiels à un stade précoce et prioriser les composés pour une validation expérimentale plus poussée. Cette approche accélère le développement de nanomatériaux sûrs dès leur conception et contribue à l'objectif global d'innovation durable en nanomédecine et en produits pharmaceutique.

En somme, Les résultats obtenus dans ce chapitre ont confirmé le rôle prometteur des nanoparticules de chlorure d'argent comme une approche innovante et durable face au problème croissant de la multirésistance bactérienne. Ainsi que, leur biocompatibilité prometteuse pour des applications biomédicales futures.

Conclusion

Conclusion

À la lumière des résultats obtenus au cours de ce travail, il est possible de tirer plusieurs conclusions importantes concernant la résistance bactérienne et l'application des nanotechnologies vertes.

Dans un premier temps, les données recueillies et analysées lors de l'étude rétrospective menée en 2023 sur les bactéries multirésistantes à l'hôpital Mohamed Boudiaf Ouargla (sud algérien), les résultats indiquent une prévalence élevée de bactéries multirésistantes. Les femmes présentent une proportion élevée de cas positifs. Les unités de soins intensifs et les services de chirurgie pour hommes semblent être les plus touchés par les bactéries multirésistantes, soulignant la nécessité d'une attention particulière à apporter à ces services. Les échantillons de pus et d'urine sont le plus souvent associés à la présence de bactéries multirésistantes, avec des variations selon l'établissement médical. Les entérobactéries et *Acinetobacter baumannii* sont identifiées comme les groupes prédominants, avec des profils de résistance variables aux antibiotiques testés, affirmant ainsi la complexité de la lutte contre ces infections. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu présentent une résistance notable, en particulier aux aminopénicillines, à l'amoxicilline + acide clavulanique, à la céfoxitine, ainsi qu'à d'autres antibiotiques comme le céfotaxime et la ciprofloxacine. Pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, des profils de résistance similaires aux céphalosporines de différentes générations et au triméthoprim + sulfaméthoxazole sont observés. *Acinetobacter baumannii* présente une résistance élevée à la plupart des antibiotiques, tandis que *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance significative aux bêta-lactamines et à la ciprofloxacine. Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) présente également des profils de résistance significatifs à la céfoxitine et aux aminosides tels que la gentamicine et la kanamycine, ainsi qu'à l'érythromycine. Les bactéries multirésistantes constituent un grave problème de santé publique. Elles nécessitent une approche coordonnée de l'utilisation des antibiotiques, ainsi que des améliorations des conditions d'hygiène et des pratiques de sécurité sanitaire afin de prévenir la transmission des infections et de réduire la propagation de la résistance.

Dans un second volet, l'application innovante d'une bactérie non pathogène, *Streptococcus* sp. isolée du smen de chamelle, pour la biosynthèse extracellulaire de nanoparticules de chlorure d'argent (AgClNPs). Les résultats obtenus ont montré la formation efficace des AgClNPs, caractérisées par une structure cristalline cubique d'une taille de 17,94

nm et une absorbance maximale de 369 nm. Les résultats ont confirmé que *Streptococcus* sp. provenant de chameliers algériens produisaient des molécules bioactives ; ces molécules peuvent réduire et stabiliser les nanoparticules de chlorure d'argent. De plus, cela ouvre de nouvelles perspectives pour l'utilisation du surnageant de bactéries lactiques *Streptococcus* sp. dans une production verte, non dangereuse, respectueuse de l'environnement et économique, sans ajout d'agents réducteurs et stabilisants pour les nanoparticules.

De plus, les nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées présentent une activité remarquable contre les bactéries Gram négatives résistantes à de multiples antibiotiques et produisent des enzymes de résistance telles que la bêta-lactamase à spectre étendu, la cabapénémase et la céphalosporénase. Les valeurs de CMI et de CMB varient de 7,81 à 125 µg/mL selon la souche. *Pseudomonas aeruginosa* de l'UCBU est plus sensible aux AgClNP biosynthétisées, avec des valeurs de CMI et de CMB de 7,81 et 31,25 µg/mL respectivement. Ainsi que, l'analyse d'amarrage moléculaire des AgClNP biosynthétisées contre quatre cibles bactériennes cliniquement pertinentes a révélé des affinités de liaison faibles mais constantes, l'énergie d'interaction la plus favorable étant observée pour *Klebsiella pneumoniae* (-2,27 kcal/mol). Bien que les énergies de liaison globales suggèrent des interactions modérées, les résultats indiquent que les AgClNP peuvent établir des contacts moléculaires spécifiques avec des protéines bactériennes essentielles. De plus, les AgClNPs biosynthétisées ont montré un potentiel antioxydant total de $131,12 \pm 0,15$ µg AAE/mg et 27,93 µg/mL d'AgClNPs peuvent inhiber 50 % des radicaux libres DPPH. Ces résultats soulignent le potentiel des AgClNPs biosynthétisées comme agent antibactérien à large spectre, notamment contre les pathogènes multirésistants à Gram négatif et met en évidence leur potentiel pour diverses applications environnementales et technologiques, notamment biomédicales et pharmaceutiques.

Enfin, Les résultats de toxicité par les trois approches *in vitro* et *in vivo*, corroborés par des analyses *in silico*, permettent de conclure que le composé présente une relative innocuité et une efficacité potentielle, ce qui en fait un candidat prometteur pour de futures applications pharmaceutiques et biologiques.

L'ensemble de ces résultats démontre que l'utilisation des AgClNPs biosynthétisées représente une voie prometteuse pour lutter contre la résistance bactérienne, tout en offrant une alternative écologique et durable aux traitements conventionnels.

Les recherches à venir devraient se concentrer sur l'identification de la souche lactique *Streptococcus* sp. utilisés dans la biosynthèse des nanoparticules de chlorure d'argent via le

séquençage de l'ARNr 16S. Ainsi que, des études exploreront également leurs propriétés bioactives (par exemple, anti-inflammatoires, antidiabétiques, antimicrobiennes) et leur activité photocatalytique pour des applications médicales et environnementales, tout en optimisant les conditions de biosynthèse pour améliorer la fonctionnalité des nanoparticules. De plus, d'autres études *in vivo* sont recommandées afin de valider les résultats *in vitro* et les prédictions informatiques, et d'évaluer l'efficacité pratique et la biosécurité des formulations antimicrobiennes à base de nanoparticules de chlorure d'argent biosynthétisées.

Liste des références

Liste des références

- [1] F. A. Nobel *et al.*, “Determination of multi-drug resistance profile of isolated Gram-positive and Gram-negative bacteria from clinical pus samples in Bangladesh,” *J. Adv. Biotechnol. Exp. Ther.*, vol. 7, no. 1, pp. 178–189, 2024, doi: 10.5455/jabet.2024.d16.
- [2] N. Mujaddidi *et al.*, “Pharmacological properties of biogenically synthesized silver nanoparticles using endophyte *Bacillus cereus* extract of *Berberis lyceum* against oxidative stress and pathogenic multidrug-resistant bacteria,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, no. 11, pp. 6432–6440, 2021, doi: 10.1016/j.sjbs.2021.07.009.
- [3] A. F. Alsehem, E. A. Alharbi, B. B. Alammash, A. I. Alrais, H. M. Elbadawy, and Y. M. Alahmadi, “Assessment of risk factors associated with multidrug-resistant organism infections among patients admitted in a tertiary hospital - a retrospective study,” *Saudi Pharm. J.*, vol. 31, no. 6, pp. 1084–1093, 2023, doi: 10.1016/j.jsps.2023.03.019.
- [4] A. Nohl *et al.*, “Incidence, impact and risk factors for multidrug-resistant organisms (MDRO) in patients with major trauma: a European Multicenter Cohort Study,” *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.*, vol. 48, no. 1, pp. 659–665, 2022, doi: 10.1007/s00068-020-01545-4.
- [5] A. Bharadwaj, A. Rastogi, S. Pandey, S. Gupta, and J. S. Sohal, “Multidrug-Resistant Bacteria: Their Mechanism of Action and Prophylaxis,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2022, 2022, doi: 10.1155/2022/5419874.
- [6] V. Schärer *et al.*, “An intensive care unit outbreak with multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* – spotlight on sinks,” *J. Hosp. Infect.*, vol. 139, pp. 161–167, 2023, doi: 10.1016/j.jhin.2023.06.013.
- [7] M. E. Elshobary *et al.*, “Combating Antibiotic Resistance: Mechanisms, Multidrug-Resistant Pathogens, and Novel Therapeutic Approaches: An Updated Review,” *Pharmaceuticals*, vol. 18, no. 3, 2025, doi: 10.3390/ph18030402.
- [8] S. E. WP, M. Norhidayah, and M. N. A. AR, “Factors associated with multidrug-resistant organism (MDRO) mortality: an analysis from the national surveillance of multidrug-resistant organism, 2018-2022,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 25, no. 1, 2025, doi: 10.1186/s12879-024-10338-8.
- [9] H. J. Kim, S. W. Na, H. A. Alodaini, M. A. Al-Dosary, P. Nandhakumari, and L.

- Dyona, “Prevalence of multidrug-resistant bacteria associated with polymicrobial infections,” *J. Infect. Public Health*, vol. 14, no. 12, pp. 1864–1869, 2021, doi: 10.1016/j.jiph.2021.11.005.
- [10] M. R. Rameshkumar *et al.*, “Occurrence of extended-spectrum β -lactamase, AmpC, and carbapenemase-producing genes in gram-negative bacterial isolates from human immunodeficiency virus infected patients,” *J. Infect. Public Health*, vol. 14, no. 12, pp. 1881–1886, 2021, doi: 10.1016/j.jiph.2021.11.008.
- [11] J. T. Wibowo *et al.*, “Secondary Metabolites from Marine-Derived Bacteria with Antibiotic and Antibiofilm Activities against Drug-Resistant Pathogens †,” *Mar. Drugs*, vol. 21, no. 1, 2023, doi: 10.3390/md21010050.
- [12] N. Batra, S. Acharya, A. Ahuja, and K. Saboo, “Guarding Health: A Comprehensive Review of Nosocomial Infections in Sickle Cell Anemia, a Multifaceted Approach to Prevention,” *Cureus*, vol. 16, no. 1, pp. 1–12, 2024, doi: 10.7759/cureus.53224.
- [13] H. R. Loi *et al.*, “Biosynthesis of silver nanoparticles using nitrate reductase produced by *Lactobacillus plantarum* CAM 4: characterization and in vitro evaluation of its antimicrobial efficiency,” *J. Mol. Liq.*, vol. 376, p. 121476, 2023.
- [14] A. Ramani, S. Taherabbas, R. Saji, M. Bumbadiya, K. Gandhi, and R. Seth, “Nanotechnology: An Emerging Trend in the Dairy Industry-Applications and Future Challenges,” *Food Humanit.*, p. 100409, 2024.
- [15] A. I. Journal *et al.*, “Cytotoxic and apoptotic properties of silver chloride nanoparticles synthesized using *Escherichia coli* cell-free supernatant on human breast cancer MCF 7 cell line,” *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, vol. 47, no. 1, pp. 1603–1609, 2019, doi: 10.1080/21691401.2019.1604533.
- [16] O. Długosz *et al.*, “Selective and complementary antimicrobial and antiviral activity of silver, copper, and selenium nanoparticle suspensions in deep eutectic solvent,” *Environ. Res.*, vol. 264, no. August 2024, 2025, doi: 10.1016/j.envres.2024.120351.
- [17] R. A. Ilyas *et al.*, “Natural fiber-reinforced polycaprolactone green and hybrid biocomposites for various advanced applications,” *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 1, p. 182, 2022.
- [18] Y. Kashid *et al.*, “Bio-inspired sustainable synthesis of silver chloride nanoparticles

- and their prominent applications,” *J. Indian Chem. Soc.*, vol. 99, no. 5, p. 100335, 2022, doi: 10.1016/j.jics.2021.100335.
- [19] F. Gui *et al.*, “Advanced Agrochem Biosynthesis of nanocrystalline silver chloride with high antibacterial activity using bacterial extracts,” *Adv. Agrochem*, vol. 2, no. 1, pp. 88–96, 2023, doi: 10.1016/j.aac.2022.12.002.
- [20] N. Satarzadeh, A. Sadeghi Dousari, B. Amirheidari, M. Shakibaie, A. Ramezani Sarbandi, and H. Forootanfar, “An insight into biofabrication of selenium nanostructures and their biomedical application,” *3 Biotech*, vol. 13, no. 3, pp. 1–20, 2023, doi: 10.1007/s13205-023-03476-4.
- [21] P. Soleimani, A. Mehrvar, J. P. Michaud, and N. Vaez, “Optimization of silver nanoparticle biosynthesis by entomopathogenic fungi and assays of their antimicrobial and antifungal properties,” *J. Invertebr. Pathol.*, vol. 190, p. 107749, 2022.
- [22] H. M. Abuzeid, C. M. Julien, L. Zhu, and A. M. Hashem, “Green Synthesis of Nanoparticles and Their Energy Storage, Environmental, and Biomedical Applications,” *Crystals*, vol. 13, no. 11, 2023, doi: 10.3390/cryst13111576.
- [23] N. Rabiee *et al.*, “Green and Sustainable Membranes: A review,” *Environ. Res.*, vol. 231, no. P2, p. 116133, 2023, doi: 10.1016/j.envres.2023.116133.
- [24] M. Bouricha *et al.*, “Biosynthesis of cupric oxide nanoparticles derived from pomegranate peel extract: A sustainable approach with antioxidant, antimicrobial, and photocatalytic capabilities,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 168, no. July, p. 112862, 2024, doi: 10.1016/j.inoche.2024.112862.
- [25] P. Mangena, “A review on the role of algae-nanoparticles as a sustainable agricultural strategy to improve resilience against abiotic stresses in leguminous crops,” *Plant Nano Biol.*, vol. 11, no. December 2024, p. 100125, 2025, doi: 10.1016/j.plana.2024.100125.
- [26] A. Elwakkad *et al.*, “Gold nanoparticles combined baker’s yeast as a successful approach for breast cancer treatment,” *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 21, no. 1, p. 27, 2023, doi: 10.1186/s43141-023-00481-1.
- [27] S. M. Zamani, N. Safaie, F. Kazerani, and S. Alipour, “Effects of endophytic fungi colonization on the growth and physiological responses of *Satureja khuzestanica*,” *J. Crop Prot.*, vol. 11, no. 1, pp. 145–158, 2022.

- [28] C. R. Sahoo, S. Maharana, C. P. Mandhata, A. K. Bishoyi, S. K. Paidesetty, and R. N. Padhy, “Biogenic silver nanoparticle synthesis with cyanobacterium *Chroococcus minutus* isolated from Baliharachandi sea-mouth, Odisha, and in vitro antibacterial activity,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 27, no. 6, pp. 1580–1586, 2020, doi: 10.1016/j.sjbs.2020.03.020.
- [29] P. Manivasagan, J. Venkatesan, K. Senthilkumar, K. Sivakumar, and S. K. Kim, “Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using a novel *Nocardiopsis* sp. MBRC-1,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/287638.
- [30] K. Kalimuthu, R. Suresh Babu, D. Venkataraman, M. Bilal, and S. Gurunathan, “Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 65, no. 1, pp. 150–153, 2008, doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.02.018.
- [31] V. L. Das, R. Thomas, R. T. Varghese, E. V. Soniya, J. Mathew, and E. K. Radhakrishnan, “Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area,” *3 Biotech*, vol. 4, no. 2, pp. 121–126, 2014, doi: 10.1007/s13205-013-0130-8.
- [32] E. Nagyzbekkyzy, D. Sembayeva, A. Sarsenova, N. Mansurov, A. Moldabayeva, and N. Moldagulova, “Data on the diversity of lactic acid bacteria isolated from raw and fermented camel milk,” *Data Br.*, vol. 31, p. 105956, 2020, doi: 10.1016/j.dib.2020.105956.
- [33] C. Jans, J. Bugnard, P. M. K. Njage, C. Lacroix, and L. Meile, “Lactic acid bacteria diversity of African raw and fermented camel milk products reveals a highly competitive, potentially health-threatening predominant microflora,” *Lwt*, vol. 47, no. 2, pp. 371–379, 2012, doi: 10.1016/j.lwt.2012.01.034.
- [34] K. Chelladhurai, S. Warakaulle, S. N. Ali, M. S. Turner, M. Ayyash, and A. Kamal-Eldin, “Differences in the growth, acidification, and proteolytic activities of *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* in camel and cow milk fermentation,” *Int. Dairy J.*, vol. 160, p. 106075, 2025.
- [35] A. Abdel-Nasser, A. S. Hathout, A. N. Badr, O. S. Barakat, and H. M. Fathy, “Extraction and characterization of bioactive secondary metabolites from lactic acid

- bacteria and evaluating their antifungal and antiaflatoxigenic activity,” *Biotechnol. Reports*, vol. 38, p. e00799, 2023.
- [36] S. Marulo *et al.*, “Bioactive peptides released by lactic acid bacteria fermented pistachio beverages,” *Food Biosci.*, vol. 59, no. February, p. 103988, 2024, doi: 10.1016/j.fbio.2024.103988.
- [37] Y. Chen *et al.*, “Enhancing physicochemical properties, organic acids, antioxidant capacity, amino acids and volatile compounds for ‘Summer Black’ grape juice by lactic acid bacteria fermentation,” *Lwt*, vol. 209, no. September, p. 116791, 2024, doi: 10.1016/j.lwt.2024.116791.
- [38] J. H. Ju *et al.*, “Selective production of two prebiotic extracellular polysaccharides from an oral probiotic lactic acid bacterium, *Streptococcus salivarius* SY511,” *Lwt*, vol. 198, no. November 2023, p. 116051, 2024, doi: 10.1016/j.lwt.2024.116051.
- [39] A. K. M. H. Kober *et al.*, “Exopolysaccharides from camel milk-derived *Limosilactobacillus reuteri* C66: Structural characterization, bioactive and rheological properties for food applications,” *Food Chem. X*, vol. 25, no. November 2024, p. 102164, 2025, doi: 10.1016/j.fochx.2025.102164.
- [40] L. H. Eide *et al.*, “Fermented sunflower meal in diets for Atlantic salmon under commercial-like farming conditions promotes gut lactic acid bacteria and controls inflammation in the distal intestine,” *Aquaculture*, vol. 595, no. August 2024, 2025, doi: 10.1016/j.aquaculture.2024.741517.
- [41] D. Bajrami *et al.*, “A scalable route to quaternary ammonium-functionalized AgCl colloidal antimicrobials inhibiting food pathogenic bacteria and biofilms,” *Heliyon*, vol. 10, no. 3, p. e25260, 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e25260.
- [42] J. K. Patra and K. Baek, “Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of silky hairs of corn and investigation of its antibacterial and anticandidal synergistic activity and antioxidant potential,” *IET nanobiotechnology*, vol. 10, no. 5, pp. 326–333, 2016.
- [43] S. A. Agents, “HHS Public Access,” vol. 139, no. 44, pp. 15868–15877, 2018, doi: 10.1021/jacs.7b08749.Experimental.
- [44] M. F. Haddad, B. A. Abdullah, H. A. AlObeidi, A. M. Saadi, and M. F. Haddad,

- “Antibiotic classification, mechanisms, and indications: A review,” *Int. J. Med. All Body Heal. Res.*, vol. 5, no. 3, pp. 39–46, 2024, doi: 10.54660/ijmbhr.2024.5.3.39-46.
- [45] S. Abbara, D. Guillemot, C. Brun-Buisson, and L. Watier, “From Pathophysiological Hypotheses to Case–Control Study Design: Resistance from Antibiotic Exposure in Community-Onset Infections,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 2, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11020201.
- [46] R. Maji, S. Chowdhury, K. Kar, and K. Mazumder, “Current Strategies for Addressing Antibiotic Resistance: A Comprehensive Review,” *J. Bio-X Res.*, vol. 8, pp. 1–20, 2025, doi: 10.34133/jbioxresearch.0040.
- [47] G. SB, M. AA, L. HB, M. A, I. SI, and A. M, “Chemistry, mode of action, bacterial resistance, classification and adverse effects of beta-lactam antibiotics: A review,” *Int. J. Dermatology Res.*, vol. 5, no. 1, pp. 11–16, 2023, doi: 10.33545/26646471.2023.v5.i1a.37.
- [48] G. Muteeb, “Nanotechnology—A Light of Hope for Combating Antibiotic Resistance,” *Microorganisms*, vol. 11, no. 6, 2023, doi: 10.3390/microorganisms11061489.
- [49] W. Lajab *et al.*, “Antimicrobial Activity of Dihydroisocoumarin Isolated from,” 2022.
- [50] S. Kavya *et al.*, “Pertinence of Streptococcus anginosus group in intracerebral abscesses in the era of extended antibiotic resistance,” *Indian J. Med. Microbiol.*, vol. 45, no. September 2022, p. 100395, 2023, doi: 10.1016/j.ijmmb.2023.100395.
- [51] X. Xiong *et al.*, “ Antibiotic Resistance of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Isolated from Wild Raccoon Dogs in Shanghai, China ,” *Microb. Drug Resist.*, vol. 32, no. 1, pp. 9–23, 2025, doi: 10.1177/10766294251392571.
- [52] A. Mishra, D. Pradhan, J. Halder, P. Biswasroy, and V. Kumar, “Metal nanoparticles against multi-drug-resistance bacteria,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 237, no. July, p. 111938, 2022, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111938.
- [53] S. Farhat *et al.*, “Identification of variants associated with hard clam, Mercenaria mercenaria, resistance to Quahog Parasite Unknown disease,” *Genomics*, vol. 112, no. 6, pp. 4887–4896, 2020, doi: 10.1016/j.ygeno.2020.08.036.
- [54] M. Akiba *et al.*, “Distribution and relationships of antimicrobial resistance

- determinants among extended-spectrum-cephalosporin-resistant or carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolates from rivers and sewage treatment plants in India,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 60, no. 5, pp. 2972–2980, 2016, doi: 10.1128/AAC.01950-15.
- [55] D. A. Hopwood, “How do antibiotic-producing bacteria ensure their self-resistance before antibiotic biosynthesis incapacitates them?,” *Mol. Microbiol.*, vol. 63, no. 4, pp. 937–940, 2007, doi: 10.1111/j.1365-2958.2006.05584.x.
- [56] D. N. Wilson, V. Hauryliuk, G. C. Atkinson, and A. J. O’Neill, “Target protection as a key antibiotic resistance mechanism,” *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 18, no. 11, pp. 637–648, 2020, doi: 10.1038/s41579-020-0386-z.
- [57] N. A. Lermينياux and A. D. S. Cameron, “Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments,” *Can. J. Microbiol.*, vol. 65, no. 1, pp. 34–44, 2019, doi: 10.1139/cjm-2018-0275.
- [58] G. Muteeb, R. N. A. Kazi, M. Aatif, A. Azhar, M. El Oirdi, and M. Farhan, “Antimicrobial resistance: Linking molecular mechanisms to public health impact,” *SLAS Discov.*, vol. 33, no. March, p. 100232, 2025, doi: 10.1016/j.slasd.2025.100232.
- [59] R. El Bahraouy, R. Karami, M. Belaouni, M. E.- Rami, L. Louzi, and M. Sbiti, “Epidemiology of Infections Caused by ESBL-Producing Enterobacteriaceae and Antibiotic Resistance Profile of Strains Isolated at Meknes-Based Moulay Ismail Military Hospital: A Retrospective Study from January 2018 to December 2020,” *SAS J. Med.*, vol. 10, no. 10, pp. 1062–1069, 2024, doi: 10.36347/sasjm.2024.v10i10.014.
- [60] L. Gebremeskel, T. Teklu, G. G. Kasahun, and K. B. Tuem, “Antimicrobial resistance pattern of *Klebsiella* isolated from various clinical samples in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 23, no. 1, pp. 1–12, 2023, doi: 10.1186/s12879-023-08633-x.
- [61] J. D. D. Pitout and K. B. Laupland, “Review Enterobacteriaceae : an emerging public-health concern,” vol. 8, no. March 2008, pp. 159–166, 2017.
- [62] S. Dam, J. M. Pagès, and M. Masi, “Stress responses, outer membrane permeability control and antimicrobial resistance in enterobacteriaceae,” *Microbiol. (United Kingdom)*, vol. 164, no. 3, pp. 260–267, 2018, doi: 10.1099/mic.0.000613.

- [63] H. Dupont *et al.*, “Molecular characterization of carbapenem-nonsusceptible enterobacterial isolates collected during a prospective interregional survey in France and susceptibility to the novel ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam combinations,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 60, no. 1, pp. 215–221, 2016, doi: 10.1128/AAC.01559-15.
- [64] F. Barbier and M. Wolff, “Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*,” *Médecine/Sciences*, vol. 26, no. 11, pp. 960–968, 2010, doi: 10.1051/medsci/20102611960.
- [65] A. J. Kunz Coyne, A. El Ghali, D. Holger, N. Rebold, and M. J. Rybak, “Therapeutic Strategies for Emerging Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*,” *Infect. Dis. Ther.*, vol. 11, no. 2, pp. 661–682, 2022, doi: 10.1007/s40121-022-00591-2.
- [66] S. Agarwal, B. Kakati, S. Khanduri, and S. Gupta, “Emergence of carbapenem resistant non-fermenting gram-negative bacilli isolated in an ICU of a tertiary care hospital,” *J. Clin. Diagnostic Res.*, vol. 11, no. 1, pp. DC04–DC07, 2017, doi: 10.7860/JCDR/2017/24023.9317.
- [67] M. Pavez *et al.*, “Molecular mechanisms of membrane impermeability in clinical isolates of Enterobacteriaceae exposed to imipenem selective pressure,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 48, no. 1, pp. 78–85, 2016, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.04.016.
- [68] G. Donelli, *Correction to: Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health*, vol. 17. 2023. doi: 10.1007/978-3-031-34178-6_773.
- [69] P. Nandhini, P. Kumar, S. Mickymaray, A. S. Alothaim, J. Somasundaram, and M. Rajan, “Recent Developments in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Treatment: A Review,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 5, pp. 1–21, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11050606.
- [70] O. Access, K. D. Issa, M. D. Muhsin, and A. S. Faculty, “Beta – Lactam Drug Resistance Pattern in *Staphylococcus aureus* Isolates : A Review,” vol. 9, no. 3, pp. 141–153, 2024.
- [71] S. Fournier *et al.*, “Efficiency of different control measures for preventing carbapenemase-producing enterobacteria and glycopeptide-resistant *Enterococcus*

- faecium outbreaks: A 6-year prospective study in a French multihospital institution, January 2010 to December 2015,” *Eurosurveillance*, vol. 23, no. 8, 2018, doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.8.17-00078.
- [72] B. Li and T. J. Webster, “Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections,” *J. Orthop. Res.*, vol. 36, no. 1, pp. 22–32, 2018, doi: 10.1002/jor.23656.
- [73] C. J. H. Von Wintersdorff *et al.*, “Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer,” *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. FEB, pp. 1–10, 2016, doi: 10.3389/fmicb.2016.00173.
- [74] S. C. Keller *et al.*, *Ambulatory antibiotic stewardship through a human factors engineering approach: A systematic review*, vol. 31, no. 3. 2018. doi: 10.3122/jabfm.2018.03.170225.
- [75] D. Yahav, C. G. Giske, A. Gramatniece, H. Abodakpi, V. H. Tam, and L. Leibovicib, “mase Inhibitor Combinations DafnaNew ^N-Lactam–^N-Lacta,” *Am. Soc. Microbiol.*, vol. 34, no. 1, pp. 1–61, 2020.
- [76] S. Larsson, M. Svensson, and A. Ternhag, “Production loss and sick leave caused by antibiotic resistance: a register-based cohort study,” *BMC Public Health*, vol. 22, no. 1, pp. 1–9, 2022, doi: 10.1186/s12889-022-12947-x.
- [77] I. A. Dutescu and S. A. Hillie, “Encouraging the development of new antibiotics: Are financial incentives the right way forward? A systematic review and case study,” *Infect. Drug Resist.*, vol. 14, pp. 415–434, 2021, doi: 10.2147/idr.s287792.
- [78] E. D. Hermsen, R. L. Sibbel, and S. Holland, “The role of pharmaceutical companies in antimicrobial stewardship: A case study,” *Clin. Infect. Dis.*, vol. 71, no. 3, pp. 677–681, 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa053.
- [79] M. Lekshmi, P. Ammini, S. Kumar, and M. F. Varela, “The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin,” *Microorganisms*, vol. 5, no. 1, 2017, doi: 10.3390/microorganisms5010011.
- [80] B. Aslam *et al.*, “Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 11, no. November, pp. 1–20, 2021, doi:

- 10.3389/fcimb.2021.771510.
- [81] E. Felis *et al.*, “Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 866, no. November 2019, p. 172813, 2020, doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172813.
- [82] X. Cui, Y. Lü, and C. Yue, “Development and Research Progress of Anti-Drug Resistant Bacteria Drugs,” *Infect. Drug Resist.*, vol. 14, pp. 5575–5593, 2021, doi: 10.2147/IDR.S338987.
- [83] Y. Wang and J. J. Barr, “Phage Cocktail Targeting STEC O157 : H7 Has Comparable Ef fi cacy and Superior Recovery Compared with Enro fl oxacin in an Enteric Murine Model”.
- [84] H. Kato *et al.*, “Efficacy of Trimethoprim–Sulfamethoxazole in Combination with an Echinocandin as a First-Line Treatment Option for Pneumocystis Pneumonia: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 6, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11060719.
- [85] P. Bergman, R. Raqib, R. S. Rekha, B. Agerberth, and G. H. Gudmundsson, “Host Directed Therapy Against Infection by Boosting Innate Immunity,” *Front. Immunol.*, vol. 11, no. June, 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01209.
- [86] F. Vacca, C. Sala, and R. Rappuoli, “Monoclonal Antibodies for Bacterial Pathogens: Mechanisms of Action and Engineering Approaches for Enhanced Effector Functions,” *Biomedicines*, vol. 10, no. 9, 2022, doi: 10.3390/biomedicines10092126.
- [87] M. Aatif, M. A. Raza, K. Javed, S. M. Nashre-ul-Islam, M. Farhan, and M. W. Alam, “Potential Nitrogen-Based Heterocyclic Compounds for Treating Infectious Diseases: A Literature Review,” *Antibiotics*, vol. 11, no. 12, 2022, doi: 10.3390/antibiotics11121750.
- [88] E. Muchagato *et al.*, “Patrícia Branco et al 2023,” 2023.
- [89] Y. C. Yeh, T. H. Huang, S. C. Yang, C. C. Chen, and J. Y. Fang, “Nano-Based Drug Delivery or Targeting to Eradicate Bacteria for Infection Mitigation: A Review of Recent Advances,” *Front. Chem.*, vol. 8, no. April, pp. 1–22, 2020, doi: 10.3389/fchem.2020.00286.

- [90] A. Kali, “Teixobactin: A novel antibiotic in treatment of gram positive bacterial infections,” *J. Clin. Diagnostic Res.*, vol. 9, no. 3, p. 13033, 2015, doi: 10.7860/JCDR/2015/13033.5720.
- [91] N. Eraikhuemen, D. Julien, A. Kelly, T. Lindsay, and D. Lazaridis, “Treatment of Community-Acquired Pneumonia: A Focus on Lefamulin,” *Infect. Dis. Ther.*, vol. 10, no. 1, pp. 149–163, 2021, doi: 10.1007/s40121-020-00378-3.
- [92] C. Ghose and C. W. Euler, “Gram-negative bacterial lysins,” *Antibiotics*, vol. 9, no. 2, pp. 1–13, 2020, doi: 10.3390/antibiotics9020074.
- [93] V. A. Fischetti, “Bacteriophage lysins as effective antibacterials,” *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 11, no. 5, pp. 393–400, 2008, doi: 10.1016/j.mib.2008.09.012.
- [94] G. Muteeb, M. T. Rehman, M. Shahwan, and M. Aatif, “Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review,” *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 11, pp. 1–54, 2023, doi: 10.3390/ph16111615.
- [95] I. X. Yin, J. Zhang, I. S. Zhao, M. L. Mei, Q. Li, and C. H. Chu, “The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 15, pp. 2555–2562, 2020, doi: 10.2147/IJN.S246764.
- [96] I. J. Lithi, K. I. Ahmed Nakib, A. M. S. Chowdhury, and M. Sahadat Hossain, “A review on the green synthesis of metal (Ag, Cu, and Au) and metal oxide (ZnO, MgO, Co₃O₄, and TiO₂) nanoparticles using plant extracts for developing antimicrobial properties,” *Nanoscale Adv.*, vol. 7, no. 9, pp. 2446–2473, 2025, doi: 10.1039/d5na00037h.
- [97] P. Ebenezer *et al.*, “Advancements in Antimicrobial Surface Coatings Using Metal/Metaloxide Nanoparticles, Antibiotics, and Phytochemicals,” *Nanomaterials*, vol. 15, no. 13, pp. 1–26, 2025, doi: 10.3390/nano15131023.
- [98] M. A. Ansari *et al.*, “Green synthesis of Al₂O₃ nanoparticles and their bactericidal potential against clinical isolates of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 31, no. 1, pp. 153–164, 2015, doi: 10.1007/s11274-014-1757-2.
- [99] H. Z. Neihaya and H. H. Zaman, “Investigating the effect of biosynthesized silver nanoparticles as antibiofilm on bacterial clinical isolates,” *Microb. Pathog.*, vol. 116,

- no. February, pp. 200–208, 2018, doi: 10.1016/j.micpath.2018.01.024.
- [100] A. Nejabatdoust, H. Zamani, and A. Salehzadeh, “Functionalization of ZnO Nanoparticles by Glutamic Acid and Conjugation with Thiosemicarbazide Alters Expression of Efflux Pump Genes in Multiple Drug-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains,” *Microb. Drug Resist.*, vol. 25, no. 7, pp. 966–974, 2019, doi: 10.1089/mdr.2018.0304.
- [101] T. Cernev and R. Fenner, “na l Pr pr oo Jo ur,” *Elsevier*, p. 100262, 2019, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100262>
- [102] S. G. Ali, M. A. Ansari, and M. A. Alzohairy, “Effect of Biosynthesized ZnO Nanoparticles on,” *Antibiotics*, vol. 9, no. 260, pp. 1–14, 2020.
- [103] Y. Zou, J. Liang, Z. She, and H. B. Kraatz, “Gold nanoparticles-based multifunctional nanoconjugates for highly sensitive and enzyme-free detection of *E. coli* K12,” *Talanta*, vol. 193, no. September 2018, pp. 15–22, 2019, doi: 10.1016/j.talanta.2018.09.068.
- [104] H. W. Han *et al.*, “Selenium nanoparticles as candidates for antibacterial substitutes and supplements against multidrug-resistant bacteria,” *Biomolecules*, vol. 11, no. 7, 2021, doi: 10.3390/biom11071028.
- [105] A. Loqman *et al.*, “*Streptomyces thinghirensis* sp. nov. as a promising path for green synthesis of silver nanoparticles: High eradication of multidrug-resistant bacteria and catalytic activity,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 10, no. 6, p. 108889, 2022, doi: 10.1016/j.jece.2022.108889.
- [106] A. Mathesh, A. Mohanprasanth, and M. Saravanan, “Synthesis and characterization of Spirulina-mediated titanium dioxide nanoparticles: Antimicrobial activity against multidrug-resistant bacteria,” *Nano-Structures and Nano-Objects*, vol. 39, no. March, p. 101225, 2024, doi: 10.1016/j.nanoso.2024.101225.
- [107] M. Alissa, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Mangifera indica* Leaves and Their Antibacterial Efficacy Against Multidrug-Resistant Bacteria,” *J. Herb. Med.*, vol. 52, no. June, p. 101039, 2025, doi: 10.1016/j.hermed.2025.101039.
- [108] A. Hussain *et al.*, “Biosynthesized silver nanoparticle (AgNP) from pandanus odorifer leaf extract exhibits anti-metastasis and anti-biofilm potentials,” *Front. Microbiol.*, vol. 10, no. FEB, pp. 1–19, 2019, doi: 10.3389/fmicb.2019.00008.

- [109] M. Y. Memar, R. Ghotaslou, M. Samiei, and K. Adibkia, “Antimicrobial use of reactive oxygen therapy: Current insights,” *Infect. Drug Resist.*, vol. 11, pp. 567–576, 2018, doi: 10.2147/IDR.S142397.
- [110] C. Sahli, S. E. Moya, J. S. Lomas, C. Gravier-Pelletier, R. Briandet, and M. Hémadi, “Recent advances in nanotechnology for eradicating bacterial biofilm,” *Theranostics*, vol. 12, no. 5, pp. 2383–2405, 2022, doi: 10.7150/thno.67296.
- [111] G. A. Croitoru, D. C. Pîrvulescu, A. G. Niculescu, A. M. Grumezescu, A. M. Antohi, and C. L. Nicolae, “Metallic nanomaterials – targeted drug delivery approaches for improved bioavailability, reduced side toxicity, and enhanced patient outcomes,” *Rom. J. Morphol. Embryol.*, vol. 65, no. 2, pp. 145–158, 2024, doi: 10.47162/RJME.65.2.01.
- [112] “DEVELOPING NOVEL MICRO- AND NANO- TECHNOLOGIES TO EXPLORE THE GLYCO- Oren Cooper Doctor of Philosophy,” 2022, doi: 10.25904/1912/4476.
- [113] S. Tahiliani, N. Lukhmana, S. Chhangani, S. D. Purohit, Sauraj, and R. Priyadarshi, “Algae and cyanobacteria-mediated biosynthesis of metal/metal oxide nanoparticles and their potential applications in food packaging,” *Algal Res.*, vol. 90, no. June, 2025, doi: 10.1016/j.algal.2025.104124.
- [114] M. Ilyas *et al.*, “Biological synthesis of titanium dioxide nanoparticles from plants and microorganisms and their potential biomedical applications,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 133, no. June, p. 108968, 2021, doi: 10.1016/j.inoche.2021.108968.
- [115] T. Lv *et al.*, “Silver nanoparticles synthesised using endophytic fungus *Calonectria eucalypti* from medicinal plant *axifraga stolonifera* and their bioactivity,” *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 23, no. 4, p. 100627, 2025, doi: 10.1016/j.jgeb.2025.100627.
- [116] S. Ghosh and F. Pati, “Decellularized extracellular matrix and silk fibroin-based hybrid biomaterials: A comprehensive review on fabrication techniques and tissue-specific applications,” *Int. J. Biol. Macromol.*, p. 127410, 2023.
- [117] M. Parveen, F. Ahmad, A. M. Malla, and S. Azaz, “Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles from *Fraxinus excelsior* leaf extract and its antioxidant assay,” *Appl. Nanosci.*, vol. 6, no. 2, pp. 267–276, 2016, doi: 10.1007/s13204-015-0433-7.
- [118] P. G. Jamkhande, N. W. Ghule, A. H. Bamer, and M. G. Kalaskar, “Metal

- nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 53, no. July 2018, p. 101174, 2019, doi: 10.1016/j.jddst.2019.101174.
- [119] T. Pagar, S. Ghotekar, K. Pagar, S. Pansambal, and R. Oza, “A Review on Bio-Synthesized Co₃O₄ Nanoparticles using Plant Extracts and Their Diverse Applications,” *J. Chem. Rev.*, vol. 1, no. 4, pp. 260–270, 2019, doi: 10.33945/SAMI/jcr.2019.4.2.
- [120] S. Mourdikoudis, R. M. Pallares, and N. T. K. Thanh, “Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties,” *Nanoscale*, vol. 10, no. 27, pp. 12871–12934, 2018.
- [121] S. Bano, M. Agrawal, and D. Pal, “A review on green synthesis of silver nanoparticle through plant extract and its medicinal Applications,” *J. Indian Chem. Soc.*, vol. 97, no. 7, pp. 983–988, 2020.
- [122] H. Qamar, K. Hussain, A. Soni, A. Khan, T. Hussain, and B. Chénais, “Cyanobacteria as Natural Therapeutics and Pharmaceutical Potential: Role in Antitumor Activity and as Nanovectors,” *Molecules*, vol. 26, no. 1, pp. 1–30, 2021, doi: 10.3390/MOLECULES26010247.
- [123] C. Jayasinghe, N. Goto, T. Aoki, and S. Wada, “Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.),” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 15, pp. 4442–4449, 2003, doi: 10.1021/jf034269o.
- [124] S. Marimuthu *et al.*, “Acaricidal activity of synthesized titanium dioxide nanoparticles using *Calotropis gigantea* against *Rhipicephalus microplus* and *Haemaphysalis bispinosa*,” *Asian Pac. J. Trop. Med.*, vol. 6, no. 9, pp. 682–688, 2013, doi: 10.1016/S1995-7645(13)60118-2.
- [125] Z. Madadi and T. B. Lotfabad, “Aqueous Extract of *Acanthophyllum Laxiusculum* Roots as a Renewable Resource for Green Synthesis of Nano-sized Titanium Dioxide Using the Sol-gel method P A P E R I N F O,” *Adv. Ceram. Prog.*, vol. 2, no. 1, pp. 26–31, 2016.
- [126] L. Mishra, V. K. Dwivedi, V. K. Chakradhary, A. G. Prabhudessai, and S. Nehar, “Enhanced magnetic and optical properties of oxygen deficient TiO₂-δ nanoparticles

- synthesized by environment-friendly green route using whole plant extract of *Phyllanthus niruri*,” *Surfaces and Interfaces*, vol. 72, no. June, p. 107047, 2025, doi: 10.1016/j.surfin.2025.107047.
- [127] T. Klaus, R. Joerger, E. Olsson, and C. G. Granqvist, “Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 96, no. 24, pp. 13611–13614, 1999, doi: 10.1073/pnas.96.24.13611.
- [128] S. V. Otari, R. M. Patil, S. J. Ghosh, N. D. Thorat, and S. H. Pawar, “Intracellular synthesis of silver nanoparticle by actinobacteria and its antimicrobial activity,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 136, no. PB, pp. 1175–1180, 2015, doi: 10.1016/j.saa.2014.10.003.
- [129] Y. Dağlıoğlu and B. Yılmaz Öztürk, “A novel intracellular synthesis of silver nanoparticles using *Desmodesmus* sp. (Scenedesmaceae): different methods of pigment change,” *Rend. Lincei*, vol. 30, no. 3, pp. 611–621, 2019, doi: 10.1007/s12210-019-00822-8.
- [130] S. Senapati, A. Syed, S. Moez, A. Kumar, and A. Ahmad, “Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga *Tetraselmis kochinensis*,” *Mater. Lett.*, vol. 79, pp. 116–118, 2012, doi: 10.1016/j.matlet.2012.04.009.
- [131] M. Shakibaie, E. Hajighasemi, M. Adeli-Sardou, M. Doostmohammadi, and H. Forootanfar, “Antimicrobial and anti-biofilm activities of Bi subnitrate and BiNPs produced by *Delftia* sp. SFG against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Proteus mirabilis*,” *IET Nanobiotechnology*, vol. 13, no. 4, pp. 377–381, 2019, doi: 10.1049/iet-nbt.2018.5102.
- [132] K. Rajkumar, M. V. S. Sandhya, S. Koganti, and S. Burgula, “Selenium nanoparticles synthesized using *pseudomonas stutzeri* (Mh191156) show antiproliferative and anti-angiogenic activity against cervical cancer cells,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 15, pp. 4523–4540, 2020, doi: 10.2147/IJN.S247426.
- [133] R. Cuevas, N. Durán, M. C. Diez, G. R. Tortella, and O. Rubilar, “Extracellular biosynthesis of copper and copper oxide nanoparticles by *Stereum hirsutum*, a native white-rot fungus from chilean forests,” *J. Nanomater.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/789089.

- [134] H. R. Ghorbani, F. P. Mehr, and A. K. Poor, "Extracellular synthesis of copper nanoparticles using culture supernatants of *Salmonella typhimurium*," *Orient. J. Chem.*, vol. 31, no. 1, pp. 527–529, 2015, doi: 10.13005/ojc/310165.
- [135] Q. Lv *et al.*, "Biosynthesis of copper nanoparticles using *Shewanella loihica* PV-4 with antibacterial activity: Novel approach and mechanisms investigation," *J. Hazard. Mater.*, vol. 347, pp. 141–149, 2018, doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.12.070.
- [136] Y. M. Mohamed, A. M. Azzam, B. H. Amin, and N. A. Safwat, "Mycosynthesis of iron nanoparticles by *Alternaria alternata* and its antibacterial activity," *African J. Biotechnol.*, vol. 14, no. 14, pp. 1234–1241, 2015, doi: 10.5897/ajb2014.14286.
- [137] D. Bragta *et al.*, "Eco-friendly biosynthesis of ZnO nanoparticles using fungus *Schizophyllum commune* and their hybrid with chitosan for enhanced UV-A photocatalytic degradation of tetracycline," *Chemosphere*, vol. 387, no. August, p. 144666, 2025, doi: 10.1016/j.chemosphere.2025.144666.
- [138] H. Y. Teh *et al.*, "Green synthesis of silver nanoparticles by algae: Advancements, challenges and sustainable prospects," *Mater. Today Chem.*, vol. 42, no. October, p. 102389, 2024, doi: 10.1016/j.mtchem.2024.102389.
- [139] F. Rodríguez-Frías *et al.*, "Microorganisms as shapers of human civilization, from pandemics to even our genomes: Villains or friends? a historical approach," *Microorganisms*, vol. 9, no. 12, 2021, doi: 10.3390/microorganisms9122518.
- [140] D. Zhang *et al.*, "A systematically biosynthetic investigation of lactic acid bacteria reveals diverse antagonistic bacteriocins that potentially shape the human microbiome," *Microbiome*, vol. 11, no. 1, pp. 1–20, 2023, doi: 10.1186/s40168-023-01540-y.
- [141] F. George *et al.*, "Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: A multifaceted functional health perspective," *Front. Microbiol.*, vol. 9, no. NOV, pp. 1–15, 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.02899.
- [142] A. G. Duarte, A. C. C. Barbosa, D. Ferreira, G. Manteigas, R. M. Domingos, and I. A. C. Pereira, "Redox loops in anaerobic respiration - The role of the widespread NrfD protein family and associated dimeric redox module," *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, vol. 1862, no. 7, 2021, doi: 10.1016/j.bbabbio.2021.148416.

- [143] E. G. Melara, M. C. Avellaneda, M. Valdivié, Y. García-Hernández, R. Aroche, and Y. Martínez, “Probiotics: Symbiotic Relationship with the Animal Host,” *Animals*, vol. 12, no. 6, pp. 1–26, 2022, doi: 10.3390/ani12060719.
- [144] T. Bintsis, “Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics,” *AIMS Microbiol.*, vol. 4, no. 4, pp. 665–684, 2018, doi: 10.3934/microbiol.2018.4.665.
- [145] M. C. Coelho, F. X. Malcata, and C. C. G. Silva, *Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions*, vol. 11, no. 15. 2022. doi: 10.3390/foods11152276.
- [146] P. O. Akpogheli *et al.*, “Lactic acid bacteria: Nature, characterization, mode of action, products and applications,” *Process Biochem.*, vol. 152, no. February, pp. 1–28, 2025, doi: 10.1016/j.procbio.2025.02.010.
- [147] N. Qiao *et al.*, “After the storm—Perspectives on the taxonomy of Lactobacillaceae,” *JDS Commun.*, vol. 3, no. 3, pp. 222–227, 2022, doi: 10.3168/jdsc.2021-0183.
- [148] H. B. Hassler *et al.*, “Phylogenies of the 16S rRNA gene and its hypervariable regions lack concordance with core genome phylogenies,” *Microbiome*, vol. 10, no. 1, pp. 1–18, 2022, doi: 10.1186/s40168-022-01295-y.
- [149] A. Pérez-Ramos, D. Madi-Moussa, F. Coucheney, and D. Drider, “Current knowledge of the mode of action and immunity mechanisms of lab-bacteriocins,” *Microorganisms*, vol. 9, no. 10, 2021, doi: 10.3390/microorganisms9102107.
- [150] Y. Wang *et al.*, “Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry,” *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 9, no. May, pp. 1–19, 2021, doi: 10.3389/fbioe.2021.612285.
- [151] L. A. Averianova, L. A. Balabanova, O. M. Son, A. B. Podvolotskaya, and L. A. Tekutyeva, “Production of Vitamin B2 (Riboflavin) by Microorganisms: An Overview,” *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 8, no. November, 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.570828.
- [152] M. A. Icer *et al.*, “The Impacts of Acidophilic Lactic Acid Bacteria on Food and Human Health: A Review of the Current Knowledge,” *Foods*, vol. 12, no. 15, 2023, doi: 10.3390/foods12152965.

- [153] Y. Wa *et al.*, “Effect of amino acids on free exopolysaccharide biosynthesis by *Streptococcus thermophilus* 937 in chemically defined medium,” *J. Dairy Sci.*, vol. 105, no. 8, pp. 6460–6468, 2022, doi: 10.3168/jds.2022-21814.
- [154] S. Lv *et al.*, “Genetic Engineering and Biosynthesis Technology: Keys to Unlocking the Chains of Phage Therapy,” *Viruses*, vol. 15, no. 8, pp. 1–17, 2023, doi: 10.3390/v15081736.
- [155] M. L. Werning *et al.*, “Biological Functions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Farmed Animals,” *Foods*, vol. 11, no. 1284, pp. 1–34, 2022.
- [156] Z. Heli *et al.*, “Recent advances of γ -aminobutyric acid: Physiological and immunity function, enrichment, and metabolic pathway,” *Front. Nutr.*, vol. 9, no. December, pp. 1–16, 2022, doi: 10.3389/fnut.2022.1076223.
- [157] E. M. Castro-Alayo, G. Idrogo-Vásquez, R. Siche, and F. P. Cardenas-Toro, “Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa,” *Heliyon*, vol. 5, no. 1, 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e01157.
- [158] N. van Wyk, “Current Research on Flavor Compounds in Fermented Food Products,” *Foods*, vol. 13, no. 5, pp. 10–13, 2024, doi: 10.3390/foods13050730.
- [159] K. Kondrotiene, P. Zavistanaviciute, J. Aksomaitiene, A. Novoslavskij, and M. Malakauskas, “*Lactococcus lactis* in Dairy Fermentation—Health-Promoting and Probiotic Properties,” *Fermentation*, vol. 10, no. 1, pp. 1–39, 2024, doi: 10.3390/fermentation10010016.
- [160] K. Fesko, “Threonine aldolases: perspectives in engineering and screening the enzymes with enhanced substrate and stereo specificities,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 6, pp. 2579–2590, 2016, doi: 10.1007/s00253-015-7218-5.
- [161] C. M. Nicolescu *et al.*, “Biopolymers Produced by Lactic Acid Bacteria: Characterization and Food Application,” *Polymers (Basel)*, vol. 15, no. 6, pp. 1–48, 2023, doi: 10.3390/polym15061539.
- [162] J. Gu, Z. Jiao, T. Wang, B. Zhang, and H. Zhao, “Glucans with Different Degrees of Polymerization from *Leuconostoc mesenteroides* CICC6055: Analysis of Physicochemical Properties and Intestinal Prebiotic Function,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 25, no. 1, 2024, doi: 10.3390/ijms25010258.

- [163] J. Hugenholtz *et al.*, “Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals,” *Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.*, vol. 82, no. 1–4, pp. 217–235, 2002, doi: 10.1023/A:1020608304886.
- [164] J. G. Martínez-Miranda, I. Chairez, and E. Durán-Páramo, *Mannitol Production by Heterofermentative Lactic Acid Bacteria: a Review*, vol. 194, no. 6. Springer US, 2022. doi: 10.1007/s12010-022-03836-5.
- [165] Y. C. Park, E. J. Oh, J. H. Jo, Y. S. Jin, and J. H. Seo, “Recent advances in biological production of sugar alcohols,” *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 37, pp. 105–113, 2016, doi: 10.1016/j.copbio.2015.11.006.
- [166] X. Yang, X. Li, J. Zhao, J. Liang, and J. Zhu, “Production of Sorbitol via Hydrogenation of Glucose over Ruthenium Coordinated with Amino Styrene-co-maleic Anhydride Polymer Encapsulated on Activated Carbon (Ru/ASMA@AC) Catalyst,” *Molecules*, vol. 28, no. 12, 2023, doi: 10.3390/molecules28124830.
- [167] D. Umai, R. Kayalvizhi, V. Kumar, and S. Jacob, “Xylitol: Bioproduction and Applications-A Review,” *Front. Sustain.*, vol. 3, no. February, pp. 1–16, 2022, doi: 10.3389/frsus.2022.826190.
- [168] A. Zapaśnik, B. Sokołowska, and M. Bryła, “Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety,” *Foods*, vol. 11, no. 9, pp. 1–17, 2022, doi: 10.3390/foods11091283.
- [169] B. Sionek, A. Szydłowska, K. Küçükgoz, and D. Kołożyn-Krajewska, “Traditional and New Microorganisms in Lactic Acid Fermentation of Food,” *Fermentation*, vol. 9, no. 12, pp. 1–21, 2023, doi: 10.3390/fermentation9121019.
- [170] C. Û A. Ba, C. Vi, and K. Lactic, “Đánh giá quá trình hoạt hóa giống sản xuất quy mô công nghiệp của ba chủng vi khuẩn lactic,” pp. 61–71, 2023.
- [171] V. Houttu *et al.*, “Diets : A Critical Review,” 2023.
- [172] S. Ghosh, B. Sarkar, A. Kaushik, and E. Mostafavi, “Nanobiotechnological prospects of probiotic microflora: Synthesis, mechanism, and applications,” *Sci. Total Environ.*, vol. 838, no. May, p. 156212, 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156212.
- [173] K. R. B. Singh, V. Nayak, T. Sarkar, and R. P. Singh, “Cerium oxide nanoparticles:

- Properties, biosynthesis and biomedical application,” *RSC Adv.*, vol. 10, no. 45, pp. 27194–27214, 2020, doi: 10.1039/d0ra04736h.
- [174] I. Garmasheva, N. Kovalenko, S. Voychuk, A. Ostapchuk, O. Livins’ka, and L. Oleschenko, “Lactobacillus species mediated synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against opportunistic pathogens in vitro,” *BioImpacts BI*, vol. 6, no. 4, p. 219, 2016.
- [175] K. Kalishwaralal *et al.*, “Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 77, no. 2, pp. 257–262, 2010, doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.02.007.
- [176] S. Krishnamurthy and Y. S. Yun, “Recovery of microbially synthesized gold nanoparticles using sodium citrate and detergents,” *Chem. Eng. J.*, vol. 214, pp. 253–261, 2013, doi: 10.1016/j.cej.2012.10.028.
- [177] B. Nair and T. Pradeep, “Coalescence of Nanoclusters and Formation of Submicron Crystallites Assisted by Lactobacillus Strains 2002,” pp. 0–5, 2002.
- [178] R. Singh, U. M. Lekhak, S. Wadhwani, and B. A. Chopade, “Bacteriagenic silver nanoparticles : synthesis , mechanism , and applications,” no. May, 2015, doi: 10.1007/s00253-015-6622-1.
- [179] M. Oves *et al.*, “Antibacterial and Cytotoxic Efficacy of Extracellular Silver Nanoparticles Biofabricated from Chromium Reducing Novel OS4 Strain of *Stenotrophomonas maltophilia*,” *PLoS One*, vol. 8, no. 3, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0059140.
- [180] P. R. Chaudhari, S. A. Masurkar, V. B. Shidore, and S. P. Kamble, “Antimicrobial activity of extracellularly synthesized silver nanoparticles using lactobacillus species obtained from VIZYLAC capsule,” *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 2, no. 3, pp. 25–29, 2012, doi: 10.7324/JAPS.2012.2305.
- [181] E. Kheradmand, F. Rafii, M. H. Yazdi, A. A. Sepahi, A. R. Shahverdi, and M. R. Oveisi, “The antimicrobial effects of selenium nanoparticle-enriched probiotics and their fermented broth against *Candida albicans*,” *DARU, J. Pharm. Sci.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–6, 2014, doi: 10.1186/2008-2231-22-48.
- [182] T. P. Sreedevi, M. Thilagam, A. T. Selvi, and B. Chandrasekaran, “Studies of Silver

- Nanoparticles Using *Lactobacillus Plantarum*,” *Charact. Antibact. World J. Pharm. Res. SJIF Impact Factor* 5, vol. 4, no. 8, pp. 1757–1773, 2015, [Online]. Available: www.wjpr.net
- [183] S. Rajesh, V. Dharanishanthi, and A. V. Kanna, “Antibacterial mechanism of biogenic silver nanoparticles of *Lactobacillus acidophilus*,” *J. Exp. Nanosci.*, vol. 10, no. 15, pp. 1143–1152, 2015, doi: 10.1080/17458080.2014.985750.
- [184] P. Olanike and A.-T. Christianah, “Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Supernatant from *Lactobacillus casei* LPW2 Cultured in Modified Exopolysaccharides Selection Medium,” *J. Appl. Life Sci. Int.*, vol. 13, no. 2, pp. 1–8, 2017, doi: 10.9734/jalsi/2017/34590.
- [185] N. J. Sani, B. M. Aminu, and M. D. Mukhtar, “Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* isolated from kindrimo (locally fermented milk) in Kano State, Nigeria,” *Bayero J. Pure Appl. Sci.*, vol. 10, no. 1, p. 481, 2018, doi: 10.4314/bajopas.v10i1.92s.
- [186] A. S. Dakhil, “Biosynthesis of silver nanoparticle (AgNPs) using *Lactobacillus* and their effects on oxidative stress biomarkers in rats,” *J. King Saud Univ. - Sci.*, vol. 29, no. 4, pp. 462–467, 2017, doi: 10.1016/j.jksus.2017.05.013.
- [187] C. Xu, L. Qiao, Y. Guo, L. Ma, and Y. Cheng, “Preparation, characteristics and antioxidant activity of polysaccharides and proteins-capped selenium nanoparticles synthesized by *Lactobacillus casei* ATCC 39,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 195, pp. 576–585, 2018.
- [188] Y. Kato, E. Yoshimura, and M. Suzuki, “Synthesis of Gold Nanoparticles by Extracellular Components of *Lactobacillus casei*,” *ChemistrySelect*, vol. 4, no. 24, pp. 7331–7337, 2019, doi: 10.1002/slct.201901046.
- [189] A. Matei, S. Matei, G. M. Matei, G. Cogălniceanu, and C. P. Cornea, “Biosynthesis of silver nanoparticles mediated by culture filtrate of lactic acid bacteria, characterization and antifungal activity,” *Eurobiotech J.*, vol. 4, no. 2, pp. 97–103, 2020, doi: 10.2478/ebtj-2020-0011.
- [190] H. M. Yusof, N. Aini, A. Rahman, and R. Mohamad, “applied sciences Microbial Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles by *Lactobacillus plantarum* TA4 and Its

- Antibacterial and Antioxidant Activity,” pp. 1–18, 1945.
- [191] R. Abduladheem Jabbar and N. Neima Hussien, “Investigation of antioxidant and cytotoxicity effects of silver nanoparticles produced by biosynthesis using *Lactobacillus gasseri*,” *Arch. Razi Inst.*, vol. 76, no. 4, pp. 771–783, 2021, doi: 10.22092/ARI.2021.355949.1747.
- [192] S. Suba, S. Vijayakumar, E. Vidhya, V. N. Punitha, and M. Nilavukkarasi, “Microbial mediated synthesis of ZnO nanoparticles derived from *Lactobacillus* spp: Characterizations, antimicrobial and biocompatibility efficiencies,” *Sensors Int.*, vol. 2, p. 100104, 2021.
- [193] S. A. Emami Moghaddam, P. Ghadam, and F. Rahimzadeh, “Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles using aqueous extract of *Lactobacillus acidophilus* along with its improvement by response surface methodology,” *J. Clean. Prod.*, vol. 356, no. January, p. 131848, 2022, doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131848.
- [194] Q. A. Naseer *et al.*, “Synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus bulgaricus* and assessment of their antibacterial potential,” *Brazilian J. Biol.*, vol. 82, pp. 1–8, 2022, doi: 10.1590/1519-6984.232434.
- [195] A. M. Awadelkareem *et al.*, “Biosynthesized Silver Nanoparticles Derived from Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* (AgNPs-LR) Targeting Biofilm Formation and Quorum Sensing-Mediated Virulence Factors,” *Antibiotics*, vol. 12, no. 6, 2023, doi: 10.3390/antibiotics12060986.
- [196] V. Rao and A. Poonia, “its characterization Microbial biosynthesis of selenium nanoparticles using probiotic strain and its characterization,” *J. Food Meas. Charact.*, no. May, 2024, doi: 10.1007/s11694-024-02581-z.
- [197] S. Khenfer, M. Bouricha, S. Mosbah, R. Hammoudi, O. Bacha, and O. Baka, “Extracellular biosynthesis of silver chloride nanoparticles by *Streptococcus* Spp . isolated from Algerian camel smen : antioxidant , antibacterial and antibiofilm potentials,” 2026.
- [198] J. Jiravova *et al.*, “The effect of silver nanoparticles and silver ions on mammalian and plant cells in vitro,” *Food Chem. Toxicol.*, vol. 96, pp. 50–61, 2016, doi: 10.1016/j.fct.2016.07.015.

- [199] R. Grillo *et al.*, “Chitosan nanoparticles loaded the herbicide paraquat: The influence of the aquatic humic substances on the colloidal stability and toxicity,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 286, pp. 562–572, 2015, doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.12.021.
- [200] K. M. F. Hasan, H. Wang, S. Mahmud, and C. Genyang, “Coloration of aramid fabric via in-situ biosynthesis of silver nanoparticles with enhanced antibacterial effect,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 119, no. July, p. 108115, 2020, doi: 10.1016/j.inoche.2020.108115.
- [201] G. R. Rudramurthy, M. K. Swamy, U. R. Sinniah, and A. Ghasemzadeh, “Nanoparticles: Alternatives against drug-resistant pathogenic microbes,” *Molecules*, vol. 21, no. 7, pp. 1–30, 2016, doi: 10.3390/molecules21070836.
- [202] R. The, L. D. Countries, and O. Prd, *Drug Discovery and Drug Development lect 1*, no. April. 2004.
- [203] P. Pourali, S. H. Badiie, S. Manafi, T. Noorani, A. Rezaei, and B. Yahyaei, “Biosynthesis of gold nanoparticles by two bacterial and fungal strains, *Bacillus cereus* and *Fusarium oxysporum*, and assessment and comparison of their nanotoxicity in vitro by direct and indirect assays,” *Electron. J. Biotechnol.*, vol. 29, pp. 86–93, 2017, doi: 10.1016/j.ejbt.2017.07.005.
- [204] R. Juliet and R. Nachimuthu, “Investigating the phenotypic alterations associated with hypermucoviscous hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* during phage resistance development,” *BMC Microbiol.*, vol. 25, no. 1, 2025, doi: 10.1186/s12866-025-04268-x.
- [205] G. Diatta *et al.*, “H t i w,” pp. 19–21, 2025.
- [206] C. Xu *et al.*, “Electric vehicle batteries alone could satisfy short-term grid storage demand by as early as 2030,” *Nat. Commun.*, vol. 14, no. 1, 2023, doi: 10.1038/s41467-022-35393-0.
- [207] J. Bai *et al.*, “Storage Temperature Is More Effective Than Lactic Acid Bacteria Inoculations in Manipulating Fermentation and Bacterial Community Diversity, Co-Occurrence and Functionality of the Whole-Plant Corn Silage,” *Microbiol. Spectr.*, vol. 10, no. 2, 2022, doi: 10.1128/spectrum.00101-22.
- [208] R. C. Reuben, P. C. Roy, S. L. Sarkar, R. U. Alam, and I. K. Jahid, “Isolation,

- characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics,” *BMC Microbiol.*, vol. 19, no. 1, pp. 1–20, 2019, doi: 10.1186/s12866-019-1626-0.
- [209] A. Sankhla, R. Sharma, R. S. Yadav, D. Kashyap, S. L. Kothari, and S. Kachhwaha, “Biosynthesis and characterization of cadmium sulfide nanoparticles - An emphasis of zeta potential behavior due to capping,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 170, pp. 44–51, 2016, doi: 10.1016/j.matchemphys.2015.12.017.
- [210] A. T. M. Saeb, A. S. Alshammari, H. Al-Brahim, and K. A. Al-Rubeaan, “Production of silver nanoparticles with strong and stable antimicrobial activity against highly pathogenic and multidrug resistant bacteria,” *Sci. World J.*, vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/704708.
- [211] A. A. Kamnev, Y. A. Dyatlova, O. A. Kenzhegulov, A. A. Vladimirova, P. V. Mamchenkova, and A. V. Tugarova, “Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic analyses of microbiological samples and biogenic selenium nanoparticles of microbial origin: Sample preparation effects,” *Molecules*, vol. 26, no. 4, p. 1146, 2021.
- [212] J. Kiefer, J. Grabow, H. D. Kurland, and F. A. Müller, “Characterization of Nanoparticles by Solvent Infrared Spectroscopy,” *Anal. Chem.*, vol. 87, no. 24, pp. 12313–12317, 2015, doi: 10.1021/acs.analchem.5b03625.
- [213] J. K. Patra and K. H. Baekb, “Green synthesis of silver chloride nanoparticles using *Prunus persica* L. outer peel extract and investigation of antibacterial, anticandidal, antioxidant potential,” *Green Chem. Lett. Rev.*, vol. 9, no. 2, pp. 132–142, 2016, doi: 10.1080/17518253.2016.1192692.
- [214] E. Tomaszewska *et al.*, “Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids,” *J. Nanomater.*, vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/313081.
- [215] S. Behzadi *et al.*, “Determination of nanoparticles using UV-Vis spectra,” *Nanoscale*, vol. 7, no. 12, pp. 5134–5139, 2015, doi: 10.1039/c4nr00580e.
- [216] A. Valério *et al.*, “Proper usage of Scherrer’s and Guinier’s formulas in X-ray analysis of size distribution in systems of monocrystalline CeO₂ nanoparticles,” 2023, [Online]. Available: <http://arxiv.org/abs/2203.00866>

- [217] A. Von Bohlen, M. Brücher, B. Holland, R. Wagner, and R. Hergenröder, “X-ray standing waves and scanning electron microscopy - Energy dispersive X-ray emission spectroscopy study of gold nanoparticles,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 65, no. 5, pp. 409–414, 2010, doi: 10.1016/j.sab.2010.04.017.
- [218] P. Lu, J. M. Moya, R. Yuan, and J. M. Zuo, “Studies of x-ray localization and thickness dependence in atomic-scale elemental mapping by STEM energy-dispersive x-ray spectroscopy using single-frame scanning method,” *Ultramicroscopy*, vol. 186, pp. 23–29, 2018, doi: 10.1016/j.ultramic.2017.12.003.
- [219] H. Rouco, P. García-García, C. Évora, P. Díaz-Rodríguez, and A. Delgado, “Screening strategies for surface modification of lipid-polymer hybrid nanoparticles,” *Int. J. Pharm.*, vol. 624, no. June, 2022, doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.121973.
- [220] A. J. Shnoudeh *et al.*, “Green Synthesis of Gold, Iron and Selenium Nanoparticles Using Phytoconstituents: Preliminary Evaluation of Antioxidant and Biocompatibility Potential,” *Molecules*, vol. 27, no. 4, 2022, doi: 10.3390/molecules27041334.
- [221] A. B. Mezoughi *et al.*, “Synthesis, and Characterization of Silver Nanoparticles Functionalized with a Chalcone for Potential Antioxidant Activity,” *J. Nano Res.*, vol. 85, pp. 11–20, 2024, doi: 10.4028/p-e0yQjG.
- [222] M. H. Sarfraz, S. Muzammil, S. Hayat, M. Khurshid, and A. H. Sayyid, “Fabrication of chitosan and Trianthema portulacastrum mediated copper oxide nanoparticles: Antimicrobial potential against MDR bacteria and biological efficacy for antioxidant, antidiabetic and photocatalytic activities,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 242, no. P3, p. 124954, 2023, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124954.
- [223] P. Singh, H. Singh, Y. J. Kim, R. Mathiyalagan, C. Wang, and D. C. Yang, “Extracellular synthesis of silver and gold nanoparticles by *Sporosarcina koreensis* DC4 and their biological applications,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 86, pp. 75–83, 2016, doi: 10.1016/j.enzmictec.2016.02.005.
- [224] H. Iftikhar, H. Nayyer, S. Farooq, and H. Naveed, “Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ’ s public news and information ,” no. January, 2020.

- [225] M. Aqeel *et al.*, “Photocatalytic, dye degradation, and bactericidal behavior of Cu-doped ZnO nanorods and their molecular docking analysis,” *Dalt. Trans.*, vol. 49, no. 24, pp. 8314–8330, 2020, doi: 10.1039/d0dt01397h.
- [226] S. A. A. A. Shaher, “Molecular docking of some plants acts to inhibit angiotensin-converting enzymes and interaction between spike protein of SARS-CoV-2,” *J. Ethnopharmacol. Toxicol.*, vol. 2, no. 2, pp. 12–19, 2024, doi: 10.37446/jet/rsa/2.2.2024.12-19.
- [227] D. S. E. Sayed and E. S. M. Abdelrehim, “Spectroscopic details on the molecular structure of pyrimidine-2-thiones heterocyclic compounds: computational and antiviral activity against the main protease enzyme of SARS-CoV-2,” *BMC Chem.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–18, 2022, doi: 10.1186/s13065-022-00881-3.
- [228] A. Allouche, “Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares,” *J. Comput. Chem.*, vol. 32, pp. 174–182, 2012, doi: 10.1002/jcc.
- [229] K. Sarkar, B. Das, and R. K. Das, “Discovery of new oxadiazolo pyridine derivatives as potent ghrelin O-acyltransferase inhibitors using molecular modeling techniques,” *Silico Pharmacol.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–17, 2023, doi: 10.1007/s40203-023-00167-z.
- [230] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- [231] N. Sultana, M. Ruhul-Amin, I. Hasan, S. R. Kabir, and A. K. M. Asaduzzaman, “Antibacterial, antioxidant, and anticancer effects of green synthesized silver/silver chloride nanoparticles using *Spondias pinnata* bark extract,” *Food Chem. Adv.*, vol. 4, no. April, p. 100709, 2024, doi: 10.1016/j.focha.2024.100709.
- [232] R. Sriranjani *et al.*, “Silver nanoparticle synthesis using *Clerodendrum phlomidis* leaf extract and preliminary investigation of its antioxidant and anticancer activities,” *J. Mol. Liq.*, vol. 220, pp. 926–930, 2016, doi: 10.1016/j.molliq.2016.05.042.
- [233] A. Maertens, N. Anastas, P. J. Spencer, M. Stephens, A. Goldberg, and T. Hartung, “Food for thought... Green Toxicology,” *ALTEX*, vol. 31, no. 3, pp. 243–249, 2014, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.14573/altex.1406181>

- [234] A. Ben Amor *et al.*, “Synthesis of spherical carbon nanoparticles from orange peel and their surface modification with chitosan: Evaluation of optical properties, biocompatibility, antioxidant and anti-hemolytic activity,” *Biomass Convers. Biorefinery*, vol. 15, no. 7, pp. 11345–11358, 2025, doi: 10.1007/s13399-024-06291-w.
- [235] S. Rajabi, A. Ramazani, M. Hamidi, and T. Naji, “*Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles,” *DARU, J. Pharm. Sci.*, vol. 23, no. 1, pp. 1–6, 2015, doi: 10.1186/s40199-015-0105-x.
- [236] V. S. Ocaranza-Joya, I. Manjarrez-Alcivar, L. E. Ruizgonzález, S. R. Guerrero-Galván, and F. Vega-Villasante, “Sensitivity of different stages of *Artemia franciscana* to potassium dichromate,” *Panam. J. Aquat. Sci.*, vol. 14, no. 1, pp. 8–12, 2019.
- [237] P. R. U. Sing, A. C. C. Arbon, and F. I. Acf, “R Educutions in Cod and a Cute T Oxicity of,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 9999, no. 1, pp. 1–8, 2012.
- [238] Y. Moriyama *et al.*, “Clinical characteristics and risk factors for multidrug-resistant bacterial isolation in patients with international travel history,” *Am. J. Infect. Control*, vol. 51, no. 6, pp. 660–667, 2023, doi: 10.1016/j.ajic.2022.08.020.
- [239] S. Carvalho-Brugger *et al.*, “Preventive isolation criteria for the detection of multidrug-resistant bacteria in patients admitted to the Intensive Care Unit: A multicenter study within the Zero Resistance program,” *Med. Intensiva (English Ed.)*, vol. 47, no. 11, pp. 629–637, 2023, doi: 10.1016/j.medine.2023.04.005.
- [240] A. Strazzulla *et al.*, “ β -Lactam allergy and risk of multidrug-resistant bacteria in the intensive care unit: A cohort study,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 56, no. 1, 2020, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105979.
- [241] F. A. Nobel *et al.*, “Isolation of multidrug resistance bacteria from the patients with wound infection and their antibiotics susceptibility patterns: A cross-sectional study,” *Ann. Med. Surg.*, vol. 84, no. October, p. 104895, 2022, doi: 10.1016/j.amsu.2022.104895.
- [242] S. Benammar, A. Segueni, R. Courcol, B. Pozzetto, and A. Carricajo, “Bacteriological aspects and risk factors for the acquisition of ESBL producing Enterobacteriaceae in urinary tract infections in the elderly Aspects bactériologiques et facteurs de risque d’acquisition d’EBLSE dans les infections urinaires du sujet âgé,” *Med Sci*, vol. 9, no.

- 1, pp. 10–16, 2022.
- [243] M. Zhang *et al.*, “Analysis of Pathogenic Bacteria and Drug Resistance Among Girls with Bacterial Vaginitis,” *Infect. Drug Resist.*, vol. 16, pp. 1849–1863, 2023, doi: 10.2147/IDR.S403304.
- [244] S. B. Obakiro *et al.*, “Prevalence of antibiotic-resistant bacteria among patients in two tertiary hospitals in Eastern Uganda,” *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, vol. 25, pp. 82–86, 2021, doi: 10.1016/j.jgar.2021.02.021.
- [245] M. A. Markkanen *et al.*, “Metagenomic Analysis of the Abundance and Composition of Antibiotic Resistance Genes in Hospital Wastewater in Benin, Burkina Faso, and Finland,” *mSphere*, vol. 8, no. 1, 2023, doi: 10.1128/msphere.00538-22.
- [246] T. A. Hafiz *et al.*, “Epidemiological, Microbiological, and Clinical Characteristics of Multi-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in King Fahad Medical City, Riyadh, Saudi Arabia,” *Trop. Med. Infect. Dis.*, vol. 8, no. 4, 2023, doi: 10.3390/tropicalmed8040205.
- [247] M. Al-Tamimi *et al.*, “Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Jordan,” *Microorganisms*, vol. 10, no. 5, pp. 1–13, 2022, doi: 10.3390/microorganisms10050849.
- [248] H. Motbainor, F. Bereded, and W. Mulu, “Multi-drug resistance of blood stream, urinary tract and surgical site nosocomial infections of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* among patients hospitalized at Felegehiwot referral hospital, Northwest Ethiopia: A cross-sectional study,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–11, 2020, doi: 10.1186/s12879-020-4811-8.
- [249] L. C. Guimarães *et al.*, “Methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolates from skin and nares of Brazilian children with atopic dermatitis demonstrate high level of clonal diversity,” *PLoS One*, vol. 17, no. 11 November, pp. 1–17, 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0276960.
- [250] K. Kavinesan *et al.*, “Phenotypic and genotypic characterization of pathogenic *Escherichia coli* identified in resistance mapping of β -lactam drug-resistant isolates from seafood along Tuticorin coast,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 30, no. 26, pp. 68111–68128, 2023, doi: 10.1007/s11356-023-27008-y.

- [251] A. K. Sundaresan, J. Gangwar, A. Murugavel, G. B. Malli Mohan, and J. Ramakrishnan, “Complete genome sequence, phenotypic correlation and pangenome analysis of uropathogenic *Klebsiella* spp,” *AMB Express*, vol. 14, no. 1, 2024, doi: 10.1186/s13568-024-01737-w.
- [252] R. Juliet and R. Nachimuthu, “Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from clinical infections: a multifactorial analysis of resistance, virulence, and biofilm potential,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 15, no. November, pp. 1–10, 2025, doi: 10.3389/fcimb.2025.1712034.
- [253] M. H. Salem, A. F. Azmy, T. Dishisha, and N. Dessouky, “*Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Egypt: phenotypic, genotypic, and antibiofilm assessment of Pluronic F-127,” *BMC Microbiol.*, vol. 25, no. 1, 2025, doi: 10.1186/s12866-025-03946-0.
- [254] N. Mousa *et al.*, “Antibiotic resistance profiles and risk factors of multidrug-resistant *Escherichia coli* in a large tertiary care hospital in a low- and middle-income country,” *Sci. Rep.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–10, 2025, doi: 10.1038/s41598-025-12384-x.
- [255] A. S. Aldablan *et al.*, “DIABETIC STUDIES From Risk To Resilience : Preventing Healthcare-Associated Infections In Modern Healthcare,” no. 2017, pp. 350–357.
- [256] C. E. L. Estaleva *et al.*, “High prevalence of multidrug resistant ESBL- and plasmid mediated AmpC-producing clinical isolates of *Escherichia coli* at Maputo Central Hospital, Mozambique,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 21, no. 1, pp. 4–9, 2021, doi: 10.1186/s12879-020-05696-y.
- [257] S. Patil *et al.*, “Genomic characterisation of multi-drug resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* co-harbours mcr-1 and mcr-3 genes on a single plasmid from paediatric clinical cases,” *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, vol. 34, pp. 134–140, 2023, doi: 10.1016/j.jgar.2023.07.012.
- [258] J. Denissen, B. Havenga, B. Reyneke, S. Khan, and W. Khan, “Comparing antibiotic resistance and virulence profiles of *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* from environmental and clinical settings,” *Heliyon*, vol. 10, no. 9, p. e30215, 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e30215.
- [259] N. S. Badillo-Larios, E. A. Turrubiarres-Martínez, E. Layseca-Espinosa, R. González-

- Amaro, L. F. Pérez-González, and P. Niño-Moreno, “Interesting Cytokine Profile Caused by Clinical Strains of *Pseudomonas aeruginosa* MDR Carrying the *exoU* Gene,” *Int. J. Microbiol.*, vol. 2024, 2024, doi: 10.1155/2024/2748842.
- [260] Z. K. Çekin, E. S. Tanrıverdi, and B. Otlı, “Investigation of Carbapenemase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* at Secondary Care Hospital in Bolu, Turkey,” *Microb. Drug Resist.*, vol. 30, no. 11, pp. 450–457, 2024, doi: 10.1089/mdr.2024.0067.
- [261] B. S. T. Dadjo, A. T. Mbaveng, J. W. Marbou Takougoum, O. D. Tsobeng, M. F. Kengne, and V. Kuete, “Resistance Profiles and Virulence Factors of Enteric *Escherichia coli* in Chronic Kidney Disease Patients at Laquintinie Hospital in Douala, Cameroon,” *Int. J. Microbiol.*, vol. 2025, no. 1, 2025, doi: 10.1155/ijm/5624252.
- [262] A. Kothari *et al.*, “Association of antibiotics and heavy metal arsenic to horizontal gene transfer from multidrug-resistant clinical strains to antibiotic-sensitive environmental strains,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 443, no. PB, p. 130260, 2023, doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.130260.
- [263] D. Geleta *et al.*, “Molecular and clinical insights into extended-spectrum β -lactamase genes of *Klebsiella pneumoniae* isolated from neonatal sepsis in Ethiopia,” *BMC Infect. Dis.*, vol. 24, no. 1, 2024, doi: 10.1186/s12879-024-10344-w.
- [264] D. S. Teklu, A. A. Negeri, M. H. Legese, T. L. Bedada, H. K. Woldemariam, and K. D. Tullu, “production and multi-drug resistance among Enterobacteriaceae isolated in Addis,” *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, vol. 4, pp. 1–12, 2019.
- [265] G. Rajagopal *et al.*, “Biocompatibility assessment of silver chloride nanoparticles derived from *Padina gymnospora* and its therapeutic potential,” *Nano Express*, vol. 2, no. 1, p. 10010, 2021.
- [266] V. Gopinath, S. Priyadarshini, N. M. Priyadharsshini, K. Pandian, and P. Velusamy, “Biogenic synthesis of antibacterial silver chloride nanoparticles using leaf extracts of *Cissus quadrangularis* Linn,” *Mater. Lett.*, vol. 91, pp. 224–227, 2013, doi: 10.1016/j.matlet.2012.09.102.
- [267] T. Nezamdoost, M. B. Bagherieh-najjar, and M. Aghdasi, “Biogenic synthesis of stable bioactive silver chloride nanoparticles using *Onosma dichroantha* Boiss . root extract,” *Mater. Lett.*, vol. 137, pp. 225–228, 2014, doi: 10.1016/j.matlet.2014.08.134.

- [268] A. H. Sabzevar, G. R. Hashemitabar, M. Rad, and J. Vatandoost, “Synthesis and Biological Properties of Silver Chloride Nanoparticles Using Cell-free Extracts of *Aeromonas hydrophila* and Antibacterial Activity against Drug-Resistant Bacteria,” *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, vol. 64, 2021, doi: 10.1590/1678-4324-2021210010.
- [269] S. R. Kabir, F. Islam, M. A. A. Al-Bari, and A. K. M. Asaduzzaman, “Asparagus racemosus mediated silver chloride nanoparticles induce apoptosis in glioblastoma stem cells in vitro and inhibit Ehrlich ascites carcinoma cells growth in vivo,” *Arab. J. Chem.*, vol. 15, no. 8, p. 104013, 2022.
- [270] B. A. Rasulov, M. A. Pattaeva, A. Yili, and H. Akber, “International Journal of Biological Macromolecules Polysaccharide-based bioflocculant template of a diazotrophic *Bradyrhizobium japonicum* 36 for controlled assembly of AgCl nanoparticles,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 89, pp. 682–688, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.03.067.
- [271] J. Wang, J. Sun, J. Huang, A. Fakhri, and V. K. Gupta, “Synthesis and its characterization of silver sulfide/nickel titanate/chitosan nanocomposites for photocatalysis and water splitting under visible light, and antibacterial studies,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 272, no. May, p. 124990, 2021, doi: 10.1016/j.matchemphys.2021.124990.
- [272] B. L. Joesten and F. C. Brown, “Indirect optical absorption of AgCl-AgBr alloys,” *Phys. Rev.*, vol. 148, no. 2, p. 919, 1966.
- [273] D. N. Trinh and B. Nguyen, “Preparation and characterization of silver chloride nanoparticles as an antibacterial agent,” no. January, 2016, doi: 10.1088/2043-6262/6/4/045011.
- [274] W. H. Strehlow and E. L. Cook, “Compilation of energy band gaps in elemental and binary compound semiconductors and insulators,” 1973.
- [275] S. Glaus and G. Calzaferri, “The band structures of the silver halides AgF, AgCl, and AgBr: A comparative study,” *Photochem. Photobiol. Sci.*, vol. 2, pp. 398–401, 2003.
- [276] M. I. Rahmah, “Preparation of silver chloride nanoparticles using human urine,” *Appl. Nanosci.*, vol. 11, no. 10, pp. 2611–2615, 2021.
- [277] F. Migliorini, S. Belmuso, R. Dondè, S. De Iuliis, and I. Altman, “To optical properties

- of carbon nanoparticles: A need in comprehending Urbach energy,” *Carbon Trends*, vol. 8, p. 100184, 2022.
- [278] I. Bonalde *et al.*, “Urbach tail, disorder, and localized modes in ternary semiconductors,” *Phys. Rev. B*, vol. 69, no. 19, p. 195201, 2004.
- [279] O. Surucu, G. Surucu, N. M. Gasanly, M. Parlak, and M. Isik, “Exploring Temperature-Dependent bandgap and Urbach energies in CdTe thin films for optoelectronic applications,” *Mater. Lett.*, vol. 373, p. 137078, 2024.
- [280] A. K. Aldhalmi *et al.*, “A novel fabricate of iron and nickel-introduced bimetallic MOFs for quickly catalytic degradation via the peroxy monosulfate, antibacterial efficiency, and cytotoxicity assay,” *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 153, p. 110823, 2023.
- [281] A. A. Mahdi *et al.*, “A facile construction of NiV₂O₆/CeO₂ nano-heterojunction for photo-operated process in water remediation reaction, antibacterial studies, and detection of D-Amino acid in peroxidase system,” *Surfaces and Interfaces*, vol. 40, 2023, doi: 10.1016/j.surfin.2023.102970.
- [282] E. Saied, S. S. Salem, A. A. Al-Askar, F. M. Elkady, A. A. Arishi, and A. H. Hashem, “Mycosynthesis of hematite (α -Fe₂O₃) nanoparticles using *Aspergillus niger* and their antimicrobial and photocatalytic activities,” *Bioengineering*, vol. 9, no. 8, p. 397, 2022.
- [283] V. Macchioni, K. Carbone, A. Cataldo, R. Frascini, and S. Bellucci, “Lactic acid-based deep natural eutectic solvents for the extraction of bioactive metabolites of *Humulus lupulus* L.: Supramolecular organization, phytochemical profiling and biological activity,” *Sep. Purif. Technol.*, vol. 264, no. November 2020, p. 118039, 2021, doi: 10.1016/j.seppur.2020.118039.
- [284] I. Garmasheva, T. Tomila, M. Kharkhota, and L. Oleschenko, “Exopolysaccharides of lactic acid bacteria as protective agents against bacterial and viral plant pathogens,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 276, no. P1, p. 133851, 2024, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133851.
- [285] M. Tarique *et al.*, “Exopolysaccharides from *Enterococcus faecium* and *Streptococcus thermophilus*: Bioactivities, gut microbiome effects, and fermented milk rheology,” *Food Chem. X*, vol. 21, no. September 2023, p. 101073, 2024, doi: 10.1016/j.fochx.2023.101073.

- [286] K. Jyoti, M. Baunthiyal, and A. Singh, “Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics,” *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 217–227, 2016.
- [287] S. Kumar, W. Ahlawat, R. Kumar, and N. Dilbaghi, “Graphene, carbon nanotubes, zinc oxide and gold as elite nanomaterials for fabrication of biosensors for healthcare,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 70, pp. 498–503, 2015.
- [288] D. Nguyen, N. Duong, V. Nguyen, C. T. Luong, P. Nguyen, and T. Nguyen, “Chromolaena odorata extract as a green agent for the synthesis of Ag @ AgCl nanoparticles inactivating bacterial pathogens Chromolaena odorata extract as a green agent for the synthesis of Ag @ AgCl nanoparticles inactivating bacterial pathogens,” *Chem. Pap.*, no. February 2020, 2019, doi: 10.1007/s11696-019-01033-z.
- [289] A. Khan, T. T. Aung, and D. Chaudhuri, “The First Case of Native Mitral Valve Endocarditis due to *Micrococcus luteus* and Review of the Literature ,” *Case Reports Cardiol.*, vol. 2019, pp. 1–3, 2019, doi: 10.1155/2019/5907319.
- [290] “KJ00004197825.pdf.”
- [291] J. P. Kang, Y. J. Kim, P. Singh, Y. Huo, and V. Soshnikova, “Artificial Cells , Nanomedicine , and Biotechnology Biosynthesis of gold and silver chloride nanoparticles mediated by *Crataegus pinnatifida* fruit extract : in vitro study of anti-inflammatory activities,” *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–11, 2017, doi: 10.1080/21691401.2017.1376674.
- [292] Y. Huo *et al.*, “Antimicrobial, antioxidant, and anticancer potentials of AgCl nanoparticles biosynthesized by *Flavobacterium panacis*,” *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.*, vol. 127, no. 4, pp. 1–10, 2021, doi: 10.1007/s00339-021-04386-z.
- [293] A. Le Bail, H. Duroy, and J. L. Fourquet, “Ab-initio structure determination of LiSbWO_6 by X-ray powder diffraction,” *Mater. Res. Bull.*, vol. 23, no. 3, pp. 447–452, 1988.
- [294] Y. Fang, X. Guo, K. Chen, Z. Zhou, and Q. Ye, “Accurate and automated detection of surface knots on sawn timbers using YOLO-V5 model,” *BioResources*, vol. 16, no. 3, p. 5390, 2021.
- [295] K. Paulkumar, S. Rajeshkumar, G. Gnanajobitha, M. Vanaja, C. Malarkodi, and G.

- Annadurai, “Biosynthesis of Silver Chloride Nanoparticles Using *Bacillus subtilis* MTCC 3053 and Assessment of Its Antifungal Activity,” vol. 2013, 2013.
- [296] H. A. Al-Jaber *et al.*, “Enhancing ASP flooding by using special combinations of surfactants and starch nanoparticles,” *Molecules*, vol. 28, no. 15, p. 5770, 2023.
- [297] B. H. Shnawa, S. M. Hamad, A. A. Barzinjy, P. A. Kareem, and M. H. Ahmed, “Scolicidal activity of biosynthesized zinc oxide nanoparticles by *Mentha longifolia* L. leaves against *Echinococcus granulosus* protoscolices,” *Emergent Mater.*, vol. 5, no. 3, pp. 683–693, 2022, doi: 10.1007/s42247-021-00264-9.
- [298] A. M. Iniyar *et al.*, “In vivo safety evaluation of antibacterial silver chloride nanoparticles from *Streptomyces exfoliatus* ICN25 in zebrafish embryos,” *Microb. Pathog.*, vol. 112, pp. 76–82, 2017.
- [299] H. E. Lashgarian, M. Karkhane, A. K. Alhameedawi, and A. Marzban, “Phyco-mediated synthesis of Ag/AgCl nanoparticles using ethanol extract of a marine green algae, *Ulva Fasciata delile* with biological activity,” *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 11, no. 6, pp. 14545–14554, 2021, doi: 10.33263/BRIAC116.1454514554.
- [300] S. Z. Mirzaei, S. Ahmadi Somaghian, H. E. Lashgarian, M. Karkhane, K. Cheraghipour, and A. Marzban, “Phyco-fabrication of bimetallic nanoparticles (zinc–selenium) using aqueous extract of *Gracilaria corticata* and its biological activity potentials,” *Ceram. Int.*, vol. 47, no. 4, pp. 5580–5586, 2021, doi: 10.1016/j.ceramint.2020.10.142.
- [301] B. K. Bhang and S. K. Ray, “International Journal of Biological Macromolecules Nano silver chloride and alginate incorporated composite copolymer adsorbent for adsorption of a synthetic dye from water in a fixed bed column and its photocatalytic reduction,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 144, pp. 801–812, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.070.
- [302] H. E. Emam and H. B. Ahmed, “Polysaccharides templates for assembly of nanosilver,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 135, pp. 300–307, 2016, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.08.095.
- [303] I. Medina-Ramirez, S. Bashir, Z. Luo, and J. L. Liu, “Green synthesis and characterization of polymer-stabilized silver nanoparticles,” *Colloids Surfaces B*

- Biointerfaces*, vol. 73, no. 2, pp. 185–191, 2009, doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.05.015.
- [304] E. Prabakaran and K. Pillay, “One step synthesis of AgCINPs / PANI / D-dextrose nanocomposite by interfacial polymerization method and its catalytic and photocatalytic applications,” *J. Mol. Liq.*, vol. 283, pp. 6–29, 2019, doi: 10.1016/j.molliq.2019.03.014.
- [305] M. A. Al Masud *et al.*, “Green synthesis of silk sericin-embedded silver nanoparticles and their antibacterial application against multidrug-resistant pathogens,” *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 19, no. 1, p. 74, 2021, doi: 10.1186/s43141-021-00176-5.
- [306] S. Ghasemi *et al.*, “Process optimization for green synthesis of silver nanoparticles using *Rubus discolor* leaves extract and its biological activities against multi-drug resistant bacteria and cancer cells,” *Sci. Rep.*, vol. 14, no. 1, pp. 1–19, 2024, doi: 10.1038/s41598-024-54702-9.
- [307] M. Abdelrazik, H. H. Elkotaby, A. Yousef, A. F. El-Sayed, and M. Khedr, “Green synthesis of silver nanoparticles derived from lemon and pomegranate peel extracts to combat multidrug-resistant bacterial isolates,” *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 21, no. 1, p. 97, 2023, doi: 10.1186/s43141-023-00547-0.
- [308] M. Shirzadi-Ahodashi, Z. Hashemi, Y. Mortazavi, K. Khormali, S. Mortazavi-Derazkola, and M. A. Ebrahimzadeh, “Discovery of high antibacterial and catalytic activities against multi-drug resistant clinical bacteria and hazardous pollutants by biosynthesized of silver nanoparticles using *Stachys inflata* extract (AgNPs@SI),” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 617, no. January, 2021, doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.126383.
- [309] S. L. Bee, Y. Bustami, A. Ul-Hamid, K. Lim, and Z. A. Abdul Hamid, “Synthesis of silver nanoparticle-decorated hydroxyapatite nanocomposite with combined bioactivity and antibacterial properties,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 32, no. 9, 2021, doi: 10.1007/s10856-021-06590-y.
- [310] A. M. Hussein *et al.*, “Synthesis, in vitro antioxidant, anticancer activity and molecular docking of new thiazole derivatives,” *Results Chem.*, vol. 7, no. January, p. 101508, 2024, doi: 10.1016/j.rechem.2024.101508.
- [311] S. M. Shakir *et al.*, “Synthesis of Chalcone Mediated Novel Pyrazoline ((3-

- Aminophenyl)-4, 5-Dihydro-1H-Pyrazole-1-yl Ethanone Derivative) Scaffolds: DFT Study, Insilico Predictions, and Anticancer Activity,” *Plasmonics*, vol. 20, no. 8, pp. 6701–6713, 2025, doi: 10.1007/s11468-025-02988-4.
- [312] A. K. Tiwari, P. C. Pandey, M. K. Gupta, and R. J. Narayan, *Nano–Bio Interaction and Antibacterial Mechanism of Engineered Metal Nanoparticles: Fundamentals and Current Understanding: Nano–bio interaction and antibacterial mechanism...: A. K. Tiwari et al.*, vol. 36, no. 1. Springer US, 2025. doi: 10.1007/s10876-024-02728-4.
- [313] A. Wasilewska, U. Klekotka, M. Zambrzycka, G. Zambrowski, I. Święcicka, and B. Kalska-Szostko, “Physico-chemical properties and antimicrobial activity of silver nanoparticles fabricated by green synthesis,” *Food Chem.*, vol. 400, no. January 2022, 2023, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133960.
- [314] S. Ashrafi-Saiedlou, M. H. Rasouli-Sadaghiani, and M. Fattahi, “Green synthesis of iron oxide nanoparticles using *Thymus migricus* for multifunctional applications in antioxidant, antimicrobial, photocatalytic, and seed priming processes,” *Heliyon*, vol. 11, no. 5, p. e42933, 2025, doi: 10.1016/j.heliyon.2025.e42933.
- [315] J. K. Patra, Y. Kwon, and K.-H. Baek, “Green biosynthesis of gold nanoparticles by onion peel extract: Synthesis, characterization and biological activities,” *Adv. Powder Technol.*, vol. 27, no. 5, pp. 2204–2213, 2016.
- [316] J. Flieger, W. Flieger, J. Baj, and R. Maciejewski, “Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles,” *Materials (Basel)*, vol. 14, no. 15, p. 4135, 2021.
- [317] R.-P. Viorica, P. Pawel, and B. Boguslaw, “Use of *Lactobacillus paracasei* isolated from whey for silver nanocomposite synthesis: Antiradical and antimicrobial properties against selected pathogens,” *J. Dairy Sci.*, vol. 104, no. 3, pp. 2480–2498, 2021.
- [318] S. Yousefzadeh-Valendeh, M. Fattahi, B. Asghari, and Z. Alizadeh, “Dandelion flower-fabricated Ag nanoparticles versus synthetic ones with characterization and determination of photocatalytic, antioxidant, antibacterial, and α -glucosidase inhibitory activities,” *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–17, 2023, doi: 10.1038/s41598-023-42756-0.
- [319] R. Lei *et al.*, “Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: A rapid in vivo screening method for

- nanotoxicity,” *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 232, no. 2, pp. 292–301, 2008, doi: 10.1016/j.taap.2008.06.026.
- [320] L. Landeros-Páramo, A. Saavedra-Molina, M. A. Gómez-Hurtado, and G. Rosas, “The effect of AgNPS bio-functionalization on the cytotoxicity of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*,” *3 Biotech*, vol. 12, no. 9, pp. 1–13, 2022, doi: 10.1007/s13205-022-03276-2.
- [321] S. Kummara, M. B. Patil, and T. Uriah, “Synthesis, characterization, biocompatible and anticancer activity of green and chemically synthesized silver nanoparticles – A comparative study,” *Biomed. Pharmacother.*, vol. 84, pp. 10–21, 2016, doi: 10.1016/j.biopha.2016.09.003.
- [322] I. G. Márquez *et al.*, “Zinc oxide and silver nanoparticles toxicity in the baker’s yeast, *Saccharomyces cerevisiae*,” *PLoS One*, vol. 13, no. 3, pp. 1–19, 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0193111.
- [323] K. Chester, S. Zahiruddin, A. Ahmad, W. Khan, S. Paliwal, and S. Ahmad, “Bioautography-based Identification of Antioxidant Metabolites of *Solanum nigrum* L. and Exploration Its Hepatoprotective Potential agChester, K. *et al.* (2017) ‘Bioautography-based Identification of Antioxidant Metabolites of *Solanum nigrum* L. and Explorati,” *Pharmacogn. Mag.*, vol. 13 (Suppl, no. 62, pp. 179–188, 2017, doi: 10.4103/pm.pm.
- [324] J. M. Nguta, J. M. Mbaria, D. W. Gakuya, P. K. Gathumbi, J. D. Kabasa, and S. G. Kiama, “Cytotoxicity of antimalarial plant extracts from Kenyan biodiversity to the brine shrimp, *Artemia salina* L. (Artemiidae),” *Drugs Ther. Stud.*, vol. 2, no. 1, p. 12, 2012, doi: 10.4081/dts.2012.e12.
- [325] İ. Unal, S. Egri, and M. Ates, “Green Synthesis (*Paeonia kesrouanensis*) of Silver Nanoparticles and Toxicity Studies in *Artemia salina*,” *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 109, no. 6, pp. 1150–1154, 2022, doi: 10.1007/s00128-022-03601-8.
- [326] A. A. Becaro *et al.*, “Toxicity of PVA-stabilized silver nanoparticles to algae and microcrustaceans,” *Environ. Nanotechnology, Monit. Manag.*, vol. 3, pp. 22–29, 2015, doi: 10.1016/j.enmm.2014.11.002.
- [327] H. Bharwani, S. Kapur, and S. G. Palani, “Development of a novel and affordable

- point-of-care kit for rapid detection of urea and glucose adulteration in cow milk,” *Anal. Methods*, vol. 17, no. 6, pp. 1265–1280, 2025, doi: 10.1039/d4ay01919a.
- [328] M. N. Drwal, P. Banerjee, M. Dunkel, M. R. Wettig, and R. Preissner, “ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, no. W1, pp. 53–58, 2014, doi: 10.1093/nar/gku401.

Résumés

Résumés

مساهمة الجسيمات النانوية المعدنية المُصنَّعة حيويًا بواسطة بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من منتج ألبان في منطقة ورقلة في تثبيط البكتيريا

المقاومة للأدوية المتعددة

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم انتشار البكتيريا متعددة المقاومة للمضادات الحيوية (BMR) واستكشاف استخدام *Streptococcus spp.* المعزولة من سمن حليب الناقة في التخليق الحيوي الخارجي لجزيئات نانو كلوريد الفضة (AgClNPs)، مع تقييم أنشطتها البيولوجية وسميتها. وفقًا للنتائج، في عام 2023، تم عزل وتحديد 43 حالة من حالات العدوى البكتيرية، والتي نشأت في الغالب من وحدة العناية المركزة وعينات القيح في مستشفى ورقلة العام، وكانت النساء أكثر تأثرًا من الرجال. تظهر AgClNPs ذروة امتصاص عند 369 نانومتر في الطيف فوق البنفسجي-المرئي، وهي ذات هيكل مكعب بحجم 17.94 نانومتر ونسبة تبلور 43.49%. تؤكد نتائج المجهر الإلكتروني الماسح المقترن بالتحليل الطيفي لتشتت الطاقة بالأشعة السينية (MEB-EDX) وجود هيكل كروي بحجم 5.29 نانومتر، كما يثبت التركيب العنصري من للكلور (Cl) والفضة (Ag). جزيئات AgClNPs فعالة ضد البكتيريا المقاومة للأدوية، حيث تتراوح قيم تركيز التثبيط الأدنى (CMI) والتركيز القاتل الأدنى (CMB) بين 7.81 و125 ميكروغرام/مل. كما أن الالتحام الجزيئي (moléculaire docking) أظهر أن طاقات الربط المثلى المتوقعة كانت -2.12 كيلو كالوري/مول لبكتيريا *P. aeruginosa*. علاوة على ذلك، نانو كلوريد الفضة له القدرة على تثبيط الجذور الحرة DPPH و ABTS كما تتمتع بنشاط مضاد للأوكسدة كلي كبير. أظهرت اختبارات البقاء في المختبر CL₅₀ بمقدار 0.520 ملغ/مل، بينما كشفت الاختبارات في الجسم الحي عن سمية مائية متوسطة، وأظهرت التحليلات الحاسوبية سمية من الفئة الثالثة مع DL₅₀ بمقدار 276 ملغ/كغ. تُظهر الدراسة انتشار BMR في المستشفيات، مما يسمح بتحسين استخدام المضادات الحيوية وتدابير الوقاية. كما تسلط الضوء على إمكانيات *Streptococcus spp.* في التخليق الحيوي لجزيئات AgClNPs، مما يبرز بديلاً مبتكراً واقتصادياً ومستداماً وصديقاً للبيئة. كما تُظهر الأنشطة البيولوجية أيضًا إمكانات AgClNPs كعامل مضاد للبكتيريا ضد BMR، مما يعزز التطور السريع للمواد النانوية في المجال الطبي وفي المنتجات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية، دراسة استرجاعية، *Streptococcus sp.*، نانوكلويد الفضة، التخليق الحيوي، السمية الخلوية.

Contribution to the inhibition of multidrug-resistant bacteria by metallic nanoparticles biosynthesized by a lactic acid bacteria isolated from a dairy products in the Ouargla region

Abstract

This study aims to evaluate the frequency of multidrug-resistant bacteria (MDRB) and to explore the use of *Streptococcus* spp. isolated from camel semen for the extracellular biosynthesis of silver chloride nanoparticles (AgClNPs), while assessing their biological activities and toxicity. According to the results, in 2023, 43 MDRB were isolated and identified, emanating mostly from the intensive care unit service and pus samples at the Ouargla public hospital, with women being more affected than men. The AgClNPs exhibit an absorption peak at 369 nm in the UV-Vis, a cubic structure, a crystallinity of 43.49%, and a crystallite size of 17.94 nm. Scanning electron microscopy coupled with X-ray energy dispersive spectroscopy (SEM-EDX) confirms a spherical structure and a particle size of 5.29 nm, thus validating the elemental composition of chlorine (Cl) and silver (Ag). The AgClNPs are effective against MDR, with MIC and MBC values ranging between 7.81 and 125 µg/mL. Additionally, molecular docking demonstrated that the optimal predicted binding energies were -2.12 kcal/mol for *P. aeruginosa*. Furthermore, they inhibit DPPH and ABTS radicals and possess significant antioxidant activity. *In vitro* viability tests showed an LC₅₀ of 0.520 mg/mL, while *in vivo* tests revealed moderate aquatic toxicity, and *in silico* analysis highlighted a class III toxicity with an LD₅₀ of 276 mg/kg. The study reveals the prevalence of MDRB in hospitals, allowing for the optimization of antibiotic use and preventive measures. It also highlights the potential of *Streptococcus* spp. in the biosynthesis of AgClNPs, showcasing its innovative, economical, sustainable, and ecological alternative. Biological activities also demonstrate their potential as antibacterial agents against MDRB, thus promoting the rapid development of nanomaterials in nanomedicine and pharmaceuticals.

Keywords: MDRB, Retrospective study, *Streptococcus* spp., AgClNPs, Biosynthesis, Cytotoxicity.

Contribution à l'inhibition des bactéries multirésistantes par des nanoparticules métalliques biosynthétisées par une bactérie lactique isolée à partir d'un produit laitier dans la région d'Ouargla

Résumé

Cette étude vise à évaluer la fréquence des bactéries multirésistantes (BMR) et à explorer l'utilisation de *Streptococcus* sp. isolés à partir de smen camelin pour la biosynthèse extracellulaire de nanoparticules de chlorure d'argent (AgClNPs), tout en évaluant leurs activités biologiques et leur toxicité. D'après les résultats, En 2023, 43 BMR ont été isolées et identifiées, emanant le plus du service de l'unité de soins intensif et des echantillons de pus a l'hôpital public d'Ouargla, les femmes étant plus touchées que les hommes. Les AgClNPs présentent un pic d'absorption à 369 nm dans l'UV-Vis, une structure cubique, une cristallinité de 43,49 % et une taille de cristallite de 17,94 nm. La microscopie électronique à balayage couplée à la spectroscopie de dispersion d'énergie X (MEB-EDX) confirme une structure sphérique et une taille de particule de 5,29 nm, validant ainsi la composition élémentaire en chlore (Cl) et en argent (Ag). Les AgClNPs sont efficaces contre les BMR, avec des valeurs de CMI et de CMB comprises entre 7,81 et 125 µg/mL. Ainsi que, le docking moléculaire a démontré que les énergies de liaison optimales prévues étaient de -2,12 kcal/mol pour *P. aeruginosa*. En outre, Ils inhibent les radicaux DPPH et ABTS et possèdent une activité antioxydante significative. Les tests de viabilité *in vitro* ont montré une CL₅₀ de 0,520 mg/mL, tandis que les tests *in vivo* ont révélé une toxicité aquatique modérée et l'analyse *in silico* mis en évidence une toxicité de classe III avec une DL50 de 276 mg/kg. L'étude révèle la prévalence du BMR dans les hôpitaux, permettant d'optimiser l'utilisation des antibiotiques et les mesures de prévention. Elle met également en évidence le potentiel de *Streptococcus* sp. dans la biosynthèse des AgClNPs, mettant en avant son alternative innovante, économique, durable et écologique. Les activités biologiques démontrent également leur potentiel en tant qu'agents antibactériens contre le BMR, favorisant ainsi le développement rapide de nanomatériaux en nanomédecine et dans les produits pharmaceutiques.

Mots-clés : BMR, Étude rétrospective, *Streptococcus* sp., AgClNPs, Biosynthèse, Cytotoxicité.

Liste des annexes

[illegible][illegible]

Annexe 2 : Liste des antibiotiques testés pour les principales bactéries selon la Standardisation algérienne, (2020).

<i>Entérobactéries sp</i>	<i>Staphylococcus sp</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>
Ampicilline(10µg)	Pénicilline (10UI)	Ampicilline (10µg)	Ticarcilline (75µg)	Ticarcilline (75µg)
Amoxicilline +Acide clavulanique (20/10µg)	Oxacilline (CMI)	Gentamicine (120µg)	Ticarcilline + Acide clavulanique (75/10µg)	Ticarcilline + Acide clavulanique (75/10µg)
Aztréonam (30µg)	Céfoxitine (30µg)	Streptomycine (300µg)	Pipéracilline (100µg)	Pipéracilline (100µg)
Céfazoline (30µg)	Kanamycine (30µg)	Erythromycine (15µg)	Pipéracilline + tazobactam (100/10µg)	Pipéracilline + tazobactam (100/10µg)
Cefoxitine (30µg)	Amikacine (30µg)	Pristinamycine(15µg) / Quinupristine -dalfopristine (15µg)	Ceftazidime (30µg)	Ceftazidime (30µg)
Cefotaxime (30µg)	Gentamicine (10µg)	Furanes (300µg)	Aztréonam (30µg)	Imipénème (10µg)
Imipénème (10µg)	Erythromycine (15µg)	Tétracycline (30µg)	Imipénème (10µg)	Mèropénème (10µg)
Ertapénème(10µg)	Clindamycine (2µg)	Vancomycine (30µg)	Mèropénème(10µg)	Amikacine (30µg)
Mèropénème (10µg)	Pristinamycine/ Quinupristine - dalfopristine (15µg)	Teicoplanine (30µg)	Amikacine (30µg)	Gentamicine(10µg)
Amikacine (30µg)	Ofloxacin (5µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Gentamicine(10µg)	Tobramycine(10µg)

Gentamicine(10µg)	Ciprofloxacin(5µg)	Lévofoxacin (5µg)	Tobramycine(10µg)	Lévofoxacin(5µg)
Acide nalidixique(30µg)	Lévofoxacin(5µg)	Rifampicine (5µg)	Néblmicine (30µg)	Doxycycline(30µg)
Ciprofloxacin (5µg)	Chloramphénicol (30µg)	Fosfomycine (300µg)	Ciprofloxacin (5µg)	Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)
Colistine (CMI)	Vancomycine (CMI)	Chloramphénicol(30µg)	Lévofoxacin(5µg)	Colistine (CMI)
Chloramphénicol (30µg)	Teicoplanine (CMI)	Tigécycline (CMI)	Fosfomycine (CMI)	
Furanes (300µg)	Rifampicine (5µg)	Imipénème (10µg)	Colistine (CMI)	
Triméthoprim + sulfaméthoxazole(1.25/23.75µg)	Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)			
Fosfomycine(200µg)	Tétracycline (30µg)			
	Acidefusidique(30µg)			
	Fosfomycine (IV)			
	Composé Vibriostatique O/129			

Annexe 3 : Composition des puits des cartes Gram négatif (GN) et Gram positif (GP).**Carte Gram négatif (GN)**

Puits	Test	Mnémonique	Dosage / puits (mg)
2	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	APPA	0,0384
3	ADONITOL	ADO	0,1875
4	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	PyrA	0,018
5	L-ARABITOL	IIARL	0,3
7	D-CELLOBIOSE	dCEL	0,3
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036
10	PRODUCTION DE H ₂ S	H ₂ S	0,0024
11	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	0,0408
12	Glutamyl Arylamidase pNA	AGLTp	0,0324
13	D-GLUCOSE	dGLU	0,3
14	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	GGT	0,0228
15	FERMENTATION / GLUCOSE	OFF	0,45
17	BETA-GLUCOSIDASE	BGLU	0,036
18	D-MALTOSE	dMAL	0,3
19	D-MANNITOL	dMAN	0,1875
20	D-MANNOSE	dMNE	0,3
21	BETA-XYLOSIDASE	BXYL	0,0324
22	BETA-Alanine arylamidase pNA	BAlap	0,0174
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	0,0234
26	LIPASE	LIP	0,0192
27	PALATINOSE	PLE	0,3

29	Tyrosine-ARYLAMIDASE	TyrA	0,0276
31	UREASE	URE	0,15
32	D-SORBITOL	dSOR	0,1875
33	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	0,3
34	D-TAGATOSE	dTAG	0,3
35	D-TREHALOSE	dTRE	0,3
36	CITRATE (SODIUM)	CIT	0,054
37	MALONATE	MNT	0,15
39	5-KETO-D-GLUCONATE	5KG	0,3
40	Alcalinisation du L-LACTATE	ILATk	0,15
41	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036
42	Alcalinisation du SUCCINATE	SUCT	0,15
43	Beta-N-AC2TYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA	0,0306
44	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL	0,036
45	PHOSPHATASE	PHOS	0,0504
46	Glycine ARYLAMIDASE	GlyA	0,012
47	ORNITHINE D2CARBOXYLASE	ODC	0,3
48	LYSINE DECARBOXYLASE	LDC	0,15
52	BASE DE DECARBOXYLASE	0DEC	N/A
53	Assimilation de la L-HISTIDINE	IHISa	0,087
56	COUMATATE	CMT	0,126
57	BETA-GLUCURONIDASE	BGUR	0,0378
58	RESISTANCE O/129 (comp. Vibrio.)	O129R	0,0105

59	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	GGAA	0,0576
61	Assimilation du L-MALATE	IMLTa	0,042
62	ELLMAN	ELLM	0,03
64	Assimilation du L-LACTATE	ILATa	0,186

Carte Gram positif (GP)

Puits	Test	Mnémonique	Dosage / puits (mg)
2	D-AMYGDALINE	AMY	0,1875
4	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	PIPLC	0,015
5	D-XYLOSE	dXYL	0,3
8	ARGININE DIHYDROLASE 1	ADH1	0,111
9	BETA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036
11	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036
13	Ala-Phe-Pro ARYLAMIDASE	APPA	0,0384
14	CYCLODEXTRINE	CDEX	0,3
15	L-Aspartate ARYLAMIDASE	AspA	0,024
16	BETA-GALACTOPYRANOSIDASE	BGAR	0,00204
17	ALPHA-MANNOSIDASE	AMAN	0,036
19	PHOSPHATASE	PHOS	0,0504
20	Leucine-ARYLAMIDASE	LeuA	0,0234
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	0,0234
24	BETA-GLUCURONIDASE	BGURr	0,0018
25	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL	0,036
26	L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE	PyrA	0,018
27	BETA-GLUCURONIDASE	BGUR	0,0378
28	Alanine-ARYLAMIDASE	AlaA	0,0216
29	Tyrosine-ARYLAMIDASE	TyrA	0,0276
30	D-SORBITOL	dSOR	0,1875

31	UREASE	URE	0,15
32	RESISTANCE A LA POLYMYXINE B	POLYB	0,00093
37	D-GALACTOSE	dGAL	0,3
38	D-ROBOSE	dRIB	0,3
39	Alcalinisation du L-LACTATE	ILATk	0,15
42	LACTOSE	LAC	0,96
44	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	NAG	0,3
45	D-MALTOSE	dMAL	0,3
46	RESISTANCE A LA BACITRACINE	BACI	0,0006
47	RESISTANCE A LA NOVOBIOCINE	NOVO	0,000075
50	CROISSANCE DANS DU NaCl a 6,5%	NC6,5	1.68
52	D-MANNITOL	dMAN	0,1875
53	D-MANNOSE	dMNE	0,3
54	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	MBdG	0,3
56	PULLULAN	PUL	0,3
57	D-RAFFINOSE	dRAF	0,3
58	RESISTANCE O/129 (comp. Vibrio.)	O129R	0,0084
59	SALICINE	SAL	0,3
60	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	0,3
62	D-TREHALOSE	dTRE	0,3
63	ARGININE DIHYDROLASE 2	ADH2s	0,27
64	RESISTANCE A' L'OPTOCHINE	OPTO	0,000399

Annexe 4 : Résultats de l'identification des souches collectées par VITEK®2

Pseudomonas aeruginosa

Client bioMérieux : 20114 VITEK 2 COMPACT Rapport graphique Imprimé 21 avril 2025 08:54:13 WAT

Nom du patient : ID du patient :
 Lieu : Médecin :
 ID labo : 1 Numéro d'isolat : 1

Numération :
 Germe sélectionné : *Pseudomonas aeruginosa*

Source : Prélevé :

Commentaires :	

Informations sur l'identification	Heure de l'analyse : 5,57 heures	État : Final
Germe sélectionné	97% Probabilité <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Profil biochimique : 0043053143500240	
Commentaires sur l'Ident.		

Détails biochimiques																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	+	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	+
23	ProA	+	26	LIP	+	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	-	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Klebsiella pneumoniae

Nom du patient : 44, 44*

Lieu :

ID labo : 4

ID du patient : 4

Médecin :

Numéro d'isolat : 1

Numération :

Germe sélectionné : *Klebsiella pneumoniae*

Source :

Prélevé :

Commentaires :	

Informations sur l'identification	Heure de l'analyse : 4,83 heures	État : Final
Germe sélectionné	99% Probabilité <i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Commentaires sur l'Ident.	Profil biochimique : 7305714572704112	

Détails biochimiques																	
2	APPA	+	3	ADO	+	4	PyrA	+	5	IARL	+	7	dCEL	+	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	+	39	SKG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	+	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	(-)
46	GlyA	-	47	ODC	(-)	48	LDC	+	53	IHISa	+	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	+			

Escherichia coli

Client bioMérieux : 20114

VITEK 2 COMPACT
Rapport graphique

Imprimé 21 avril 2025 08:54:20 WAT

Nom du patient :

Lieu :

ID labo : 3

ID du patient :

Médecin :

Numéro d'isolat : 1

Numération :

Germe sélectionné : *Escherichia coli*

Source :

Prélevé :

Commentaires :	

Informations sur l'identification	Heure de l'analyse : 2,62 heures	État : Final
Germe sélectionné	99% Probabilité <i>Escherichia coli</i>	
Commentaires sur l'Ident.	Profil biochimique : 0405610450026611	

Détails biochimiques																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-			

Annexe 4 : Résultats de l'antibiogramme et les tests complémentaires des souches collectées par VITEK®2

M1 : *Pseudomonas aeruginosa*

1 De 23

Valide

ID d'échantillon: 1

Origine du germe: Technicien

Germe: Ps.aeruginosa

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification:

BÉTA-LACTAMINES:
BLSE + R CARBAPÉNÈMES (IMPER)
CARBAPÉNÉMASE
CÉPHALOSPORINASE HN + R AUX CARBAPÉNÈMES (IMPER)

AST4222

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ticarcilline	2128	R	☐ Acétiomam			☐ Ciprofloxacine	24	R
☐ Ticarcilline/ acide clavulanique	2128	R	☐ Imipénème	216	R	☐ Pefloxacine		
☐ Pipéradilline	2128	R	☐ Méropénème	8	R	☐ Minoxydine		
☒ Pizéradilline/ tazobadame	2128	R	☐ Amikacine	264	R	☐ Colistine	2	S
☐ Cefazoline	264	R	☐ Gentamicine	216	R	☐ Rifampicine		
☐ Cefépine	264	R	☐ Tobramydicine	216	R	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole		

Nom du patient: SOUCHE1, SOUCHE1

État de l'analyse: 10.03 h - Final

Messages d'analyse:
Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse:
Aztreonam.
Les antibiotiques suivants ne sont pas requis:
Rifampidine.

Technicien: Laboratory Administrator (Labo)

Numeration:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M2 : *Klebsiella aerogenes*

1 De 16

Valide

ID d'échantillon: 2

Origine du germe: Technicien

Germe: Enterobacter

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification:

BÉTA-LACTAMINES:
CARBAPÉNÉMASE (BLSE + OX)
IMPERVIRABILITE CARBA (BLSE + OX) HN AmC (+)

AST4222

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Amoxicilline			☐ Cefazoline	264	R	☐ Fosfomycine	2256	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	232	R	☐ Enapénème	88	R	☐ Isentiamine	2212	R
☐ Pipéradilline/ tazobadame	2128	R	☐ Imipénème	8	R	☐ Cefepime/ cefazoline	42	S
☐ Cefazoline	264	R	☐ Amikacine	264	R	☐ Colistine		
☐ Cefoxitine	264	R	☐ Gentamicine	216	R	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	160	R
☐ Cefotaxime	8	R	☐ Ciprofloxacine	24	R			

Nom du patient: SOUCHE2, SOUCHE2

État de l'analyse: 10.01 h - Final

Messages d'analyse:
Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse:
Amoxicilline.

Technicien: Laboratory Administrator (Labo)

Numeration:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M3 : *Escherichia coli*

1 De 18

Validé

ID d'échantillon: 3

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch coli

Résultats AES: ☐ Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: Aucun élément détecté

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline			☐ Cefazidime	16	R	☐ Fosfomycine	3256	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	42	R	☐ Entapénème	40,12	S	☐ Nitrofurantoïne	616	S
☐ Pipéracilline/ tazobactam	64	S	☐ Imipénème	40,25	S	☐ Chloramphénicol	4	S
☐ Céfazoline	64	R	☐ Amikacine	42	S	☐ Colistine		
☐ Céfotaxime	64	R	☐ Gentamicine	41	S	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	420	S
☐ Céfotaxime	40,25	S	☐ Ciprofloxacine	40,25	S			

Nom du patient: SOUCHE3, SOUCHE3

État de l'analyse: 11:70 h - Final

Messages d'analyse: Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse: Ampicilline.

Technicien: Laboratory Administrator (Laba...

Numération:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M4 : *Klebsiella pneumoniae*

1 De 18

Validé

ID d'échantillon: 4

Origine du germe: Technicien

Germe: K.pneumoniae

Résultats AES: ☐ Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTA-LACTAMINES
BÉTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline	42	R	☐ Cefazidime	4	S	☐ Fosfomycine	3256	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	42	S	☐ Entapénème	40,12	S	☐ Nitrofurantoïne	616	S
☐ Pipéracilline/ tazobactam	64	S	☐ Imipénème	40,25	S	☐ Chloramphénicol	42	S
☐ Céfazoline	64	R	☐ Amikacine	42	S	☐ Colistine		
☐ Céfotaxime	64	S	☐ Gentamicine	41	S	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	420	S
☐ Céfotaxime	264	R	☐ Ciprofloxacine	40,25	S			

Nom du patient: SOUCHE4, SOUCHE4

État de l'analyse: 10:55 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Laba...

Numération:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M5 : *Escherichia coli*

1 De 13

Validé

ID d'échantillon: 57

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch coli

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTA-LACTAMINES, BÉTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

AST-N305	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT		
☐	Amploline	232	R	☐	Ceftazidime	8	I	☐	Fosfomycine	410	S
☐	Amoxicilline/ acide clavulanique	10	I	☐	Ertapénème	40,12	S	☐	Nitrofurantoïne	410	S
☐	Pipéradoline/ tazobactam	34	S	☐	Imipénème	40,25	S	☐	Chloramphénicol	42	S
☐	Céfazoline	254	R	☐	Amikacine	4	S	☐	Colistine		
☐	Céfotaxime	34	S	☐	Gentamicine	210	R	☐	Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	4320	R
☐	Céfotaxime	254	R	☐	Ciprofloxacine	1	S				

Nom du patient: Souche5, SOUCHE5

État de l'analyse: 8:00 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Laba)

Numération:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M6: *Klebsiella pneumoniae*

1 De 13

Validé

ID d'échantillon: 6

Origine du germe: Technicien

Germe: K.pneumoniae

Résultats AES: Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTA-LACTAMINES, BÉTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

AST-N305	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT		
☒	Amploline	42	R	☐	Ceftazidime	10	R	☐	Fosfomycine	4250	R
☐	Amoxicilline/ acide clavulanique	42	S	☐	Ertapénème	40,12	S	☐	Nitrofurantoïne	410	S
☐	Pipéradoline/ tazobactam	34	S	☐	Imipénème	40,25	S	☐	Chloramphénicol	42	S
☐	Céfazoline	34	R	☐	Amikacine	42	S	☐	Colistine		
☐	Céfotaxime	34	S	☐	Gentamicine	31	S	☐	Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	420	S
☐	Céfotaxime	8	R	☐	Ciprofloxacine	40,25	S				

Nom du patient: SOUCHE6, SOUCHE6

État de l'analyse: 13:25 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Laba)

Numération:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M7: *Pseudomonas aeruginosa*

1 De 23

Validé

ID d'échantillon: 7

Origine du germe: Technicien

Germe: *Ps. aeruginosa*

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification: Aucun élément détecté

Commentaires sur la carte: Commentaires de l'outil de reporting avancé:

AST-N222					
Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ticarcilline	40	S	☐ Aztréonam		
☐ Ticarcilline/ acide clavulanique	40	S	☐ Imipénème	0.5	S
☐ Piperacilline	94	S	☐ Méropénème	40.25	S
☐ Piperacilline/ tazobactam	94	S	☐ Amikacine	42	S
☐ Ceftazidime	61	S	☐ Gentamicine	21	S
☐ Cefépine	51	S	☐ Tobramycine	41	S
			☐ Ciprofloxacine	40.25	S
			☐ Pefloxacine		
			☐ Minocycline		
			☐ Colistine	40.5	S
			☐ Rifampicine		
			☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole		

Nom du patient: SOUCHE7, SOUCHE7

État de l'analyse: 8:23 h - Final

Messages d'analyse: Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse: Aztréonam, Les antibiotiques suivants ne sont pas requis: Rifampicine.

Technicien: Laboratory Administrator (Lab.)

Numeration:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M8: *Escherichia coli*

1 De 18

Validé

ID d'échantillon: 8

Origine du germe: Technicien

Germe: *Esch. coli*

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTA-LACTAMINES
CARBAPÉNÉMASE (BLSE + OX-1)
IMPERMEABILITÉ CARBA (BLSE + OX-HH AmpC+)

Commentaires sur la carte: Commentaires de l'outil de reporting avancé:

AST-N255					
Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline	432	R	☐ Ceftazidime	264	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	432	R	☐ Etapénème	4	R
☐ Piperacilline/ tazobactam	2128	R	☐ Imipénème	2	I
☐ Cefépine	264	R	☐ Amikacine	42	S
☐ Cefotaxime	8	S	☐ Gentamicine	51	S
☐ Ceféoxime	18	R	☐ Ciprofloxacine	3.5	S
			☐ Fosfomycine	64	R
			☐ Nitrofurantoine	128	R
			☐ Chloramphénicol	8	S
			☐ Colistine		
			☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	4320	R

Nom du patient: SOUCHE7, SOUCHE7

État de l'analyse: 10:30 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Lab.)

Numeration:

Pailasse: ECBU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M9: *Klebsiella aerogenes*

12/10/18 Validé

ID d'échantillon: 9

Origine du germe: Technicien

Germe: Ent.aerogenes

Résultats AES: ☐ Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: Aucun élément détecté

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

Antibiotique	CM	INT	Antibiotique	CM	INT	Antibiotique	CM	INT
☐ Ampicilline			☐ Cefazodime	4	S	☐ Fosfomidyne	3250	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	42	R	☐ Entapénème	40.12	S	☐ Nitrofurantoin	64	I
☐ Piperacilline/ tazobactam	44	S	☐ Imipénème	40.25	S	☐ Chloramphénicol	42	S
☐ Cefazoline	16	R	☐ Amikacine	32	I	☐ Colistine		
☐ Cefotaxime	32	R	☐ Gentamicine	8	I	☐ Triméthoprime/ sulfaméthoxazole	400	S
☐ Cefotaxime	40.25	S	☐ Ciprofloxacine	1	S			

Nom du patient: SOUCHEH, SOUCHEH

État de l'analyse: 13.51 h - Final

Messages d'analyse: Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse: Ampicilline.

Technicien: Laboratory Administrator (Lab)

Nomération:

Pailasse: ECU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M11: *Pseudomonas aeruginosa*

12/10/18 Validé

ID d'échantillon: 11

Origine du germe: Technicien

Germe: Ps.aeruginosa

Résultats AES: ☐ Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTA-LACTAMINES, CÉPHALOSPORINES DE HAUT NIVEAU, POLYPEPTIDES, RESISTANT

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

Antibiotique	CM	INT	Antibiotique	CM	INT	Antibiotique	CM	INT
☐ Tigecycline	4128	R	☐ Aztreonam			☐ Ciprofloxacine	34	R
☐ Ticarcilline/ acide clavulanique	1900		☐ Imipénème	2	S	☐ Polysporine		
☐ Piperacilline	4128	R	☐ Méropénème	1900		☐ Minocycline		
☐ Piperacilline/ tazobactam	1900		☐ Amikacine	8	S	☐ Colistine	4	I
☐ Cefazoline	16	I	☐ Gentamicine	416	R	☐ Rifampicine		
☐ Colistine	8	I	☐ Tobramycine	416	R	☐ Triméthoprime/ sulfaméthoxazole		

Nom du patient: SOUCHEH, SOUCHEH

État de l'analyse: 13.20 h - Final

Messages d'analyse: Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse: Actinomycine. ANTIBIOTIQUE TERMINE: Temps d'incubation insuffisant pour l'analyse. Méropénème, Ticarcilline/ acide clavulanique. Les antibiotiques suivants ne sont pas analysés: Rifampicine. ANTIBIOTIQUE TERMINE: Concentration insuffisante dans le suite de contrôle. Piperacilline/ tazobactam.

Technicien: Laboratory Administrator (Lab)

Nomération:

Pailasse: ECU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M12: *Escherichia coli*

10x10

Valide

ID d'échantillon: 12

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch.coli

Résultats AES: Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: Aucun élément détecté

Commentaires sur la carte: i

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline			☐ Cefazidime	0.25	S	☐ Fosfomycine	118	S
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	10	R	☐ Ertapénème	40.12	S	☐ Nitrofurantoïne	110	S
☐ Pipéracilline/ tazobactam	10	S	☐ Imipénème	40.25	S	☐ Chloramphénicol	104	R
☐ Cefazoline	8	R	☐ Amikacine	42	S	☐ Colistine		
☐ Céftriaxone	10	R	☐ Gentamicine	110	R	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	1320	R
☐ Céfotaxime	40.25	S	☐ Ciprofloxacin	14	R			

Nom du patient: SOUCHE12, SOUCHE12 i

État de l'analyse: 8.71 h - Final

Messages d'analyse: Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse: Ampicilline.

Technicien: Laboratory Administrator (Labo...)

Numeration:

Pailasse: ECU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M13: *Escherichia coli*

10x10

Valide

ID d'échantillon: 13

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch.coli

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTALACTAMINES
BÉTALACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU
CEPHALOSPORINASE HN (AmpC)

Commentaires sur la carte: i

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline	100	R	☐ Cefazidime	30	R	☐ Fosfomycine	1200	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	100	R	☐ Ertapénème	40.12	S	☐ Nitrofurantoïne	110	S
☐ Pipéracilline/ tazobactam	1123	R	☐ Imipénème	1	S	☐ Chloramphénicol	104	R
☐ Cefazoline	104	R	☐ Amikacine	4	S	☐ Colistine		
☐ Ceftriaxone	30	R	☐ Gentamicine	2	S	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	1020	R
☐ Céfotaxime	104	R	☐ Ciprofloxacin	14	R			

Nom du patient: SOUCHE13, SOUCHE13 i

État de l'analyse: 8.05 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Labo...)

Numeration:

Pailasse: ECU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encontre:

M14: *Escherichia coli*

1 De 18

Valide

ID d'échantillon: 14

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch.coli

Résultats AES: Concordant après correction

Phénotypes sélectionnés pour vérification: BÉTA-LACTAMINES, BÉTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU

Commentaires sur la carte: Commentaires de l'outil de reporting avancé

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline			☐ Cefazidime	4	S	☐ Fosfomycine	1056	R
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	42	R	☐ Ertapénème	0.5	S	☐ Nitrofurantoine	32	S
☐ Pipéradoline/ tazobactam	64	S	☐ Imipénème	40.25	S	☐ Chloramphénicol	4	S
☐ Céfazoline	64	R	☐ Amikacine	364	R	☐ Colistine		
☐ Céfotaxime	364	R	☐ Gentamicine	8	I	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	1020	R
☐ Céftriaxone	1	S	☐ Ciprofloxacin	34	R			

Nom du patient: SOUCHE14, SOUCHE14

État de l'analyse: 18.10 n - Final

Messages d'analyse: Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse: Amoxicilline.

Technicien: Laboratory Administrator (Laba...)

Numérateur:

Pailasse: ECRU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encours:

M15: *Escherichia coli*

1 De 18

Valide

ID d'échantillon: 15

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch.coli

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification: Aucun élément détecté

Commentaires sur la carte: Commentaires de l'outil de reporting avancé

Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT	Antibiotique	CMi	INT
☐ Ampicilline	232	R	☐ Cefazidime	0.25	S	☐ Fosfomycine	118	S
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	8	S	☐ Ertapénème	40.12	S	☐ Nitrofurantoine	118	S
☐ Pipéradoline/ tazobactam	64	S	☐ Imipénème	40.25	S	☐ Chloramphénicol	4	S
☐ Céfazoline	264	R	☐ Amikacine	42	S	☐ Colistine		
☐ Céfotaxime	64	S	☐ Gentamicine	11	S	☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	120	S
☐ Céftriaxone	40.25	S	☐ Ciprofloxacin	40.25	S			

Nom du patient: SOUCHE15, SOUCHE15

État de l'analyse: 10.53 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Laba...)

Numérateur:

Pailasse: ECRU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encours:

M16: *Escherichia coli*

1 de 16

Valide

ID d'échantillon: 16

Origine du germe: Technicien

Germe: Esch.coli

Résultats AES: Concordant

Phénotypes sélectionnés pour vérification: Aucun élément détecté

Commentaires sur la carte:

Commentaires de l'outil de reporting avancé:

AST-N305					
Antibiotique	DMI	INT	Antibiotique	DMI	INT
☐ Ampicilline	16	1	☐ Ceftriaxone	8.5	5
☐ Amoxicilline/ acide clavulanique	8	5	☐ Etapénème	42.12	5
☐ Piperacilline/ tazobactam	94	5	☐ Imipénème	42.25	5
☐ Cefazoline	94	5	☐ Amikacine	42	5
☐ Cefotaxime	5	5	☐ Gentamicine	41	5
☐ Ceftriaxone	42.25	5	☐ Ciprofloxacine	42.25	5
			☐ Fosfomycine	42.5	5
			☐ Nitrofurantoin	41.5	5
			☐ Chloramphénicol	16	1
			☐ Colistine		
			☐ Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	42.5	5

Nom du patient: SOUCHE16, SOUCHE15

État de l'analyse: 7.20 h - Final

Messages d'analyse:

Technicien: Laboratory Administrator (Laba)

Numération:

Patiente: ECU

Tests supplémentaires:

Tests à l'encarte:

Annexe 5: Prédiction de la toxicité des AgCINPs biosynthétisées par le plateforme ProTox-3.0

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dili	Inactive	0.99
Organ toxicity	Neurotoxicity	neuro	Active	0.60
Organ toxicity	Nephrotoxicity	nephro	Inactive	0.83
Organ toxicity	Respiratory toxicity	respi	Inactive	0.97
Organ toxicity	Cardiotoxicity	cardio	Inactive	0.73
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Active	0.66
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Inactive	0.99
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Inactive	0.82
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.74
Toxicity end points	BBB-barrier	bbb	Active	0.95
Toxicity end points	Ecotoxicity	eco	Inactive	0.50
Toxicity end points	Clinical toxicity	clinical	Inactive	0.85
Toxicity end points	Nutritional toxicity	nutri	Inactive	0.58

Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aryl hydrocarbon Receptor (AhR)	nr_ahr	Active	0.93
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor (AR)	nr_ar	Inactive	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD)	nr_ar_lbd	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Aromatase	nr_aromatase	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Alpha (ER)	nr_er	Inactive	0.91
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD)	nr_er_lbd	Active	0.95
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma)	nr_ppar_gamma	Active	0.96
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nrf2/ARE)	sr_are	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Heat shock factor response element (HSE)	sr_hse	Active	1.0
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Mitochondrial Membrane Potential (MMP)	sr_mmp	Inactive	0.99
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53	sr_p53	Active	0.95
Tox21-Nuclear receptor signalling pathways	ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)	sr_atad5	Active	0.95
Molecular Initiating Events	Thyroid hormone receptor alpha (THR α)	mie_thr_alpha	Inactive	0.95

Molecular Initiating Events	Thyroid hormone receptor beta (THR β)	mie_thr_beta	Inactive	0.97
Molecular Initiating Events	Transthyretin (TTR)	mie_ttr	Active	0.57
Molecular Initiating Events	Ryanodine receptor (RYR)	mie_ryr	Inactive	0.98
Molecular Initiating Events	GABA receptor (GABAR)	mie_gabar	Inactive	0.69
Molecular Initiating Events	Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR)	mie_nmdar	Inactive	0.96
Molecular Initiating Events	alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4- isoxazolepropionate receptor (AMPA)	mie_ampar	Inactive	1.0
Molecular Initiating Events	Kainate receptor (KAR)	mie_kar	Inactive	1.0
Molecular Initiating Events	Achetylcholinesterase (AChE)	mie_ache	Inactive	0.64
Molecular Initiating Events	Constitutive androstane receptor (CAR)	mie_car	Inactive	1.0
Molecular Initiating Events	Pregnane X receptor (PXR)	mie_pxr	Inactive	0.65
Molecular Initiating Events	NADH-quinone oxidoreductase (NADHox)	mie_nadhox	Inactive	0.75
Molecular Initiating Events	Voltage gated sodium channel (VGSC)	mie_vgsc	Inactive	0.81
Molecular Initiating Events	Na ⁺ /I ⁻ symporter (NIS)	mie_nis	Inactive	0.94
Metabolism	Cytochrome CYP1A2	CYP1A2	Inactive	0.94

Metabolism	Cytochrome CYP2C19	CYP2C19	Inactive	0.94
Metabolism	Cytochrome CYP2C9	CYP2C9	Active	0.73
Metabolism	Cytochrome CYP2D6	CYP2D6	Inactive	0.84
Metabolism	Cytochrome CYP3A4	CYP3A4	Inactive	0.94
Metabolism	Cytochrome CYP2E1	CYP2E1	Inactive	0.95

Publications

Publications

Publication dans une revue à comité de lecture.

S. Khenfer, M. Bouricha, S. Mosbah, R. Hammoudi, O. Bacha, O. Baka, Extracellular biosynthesis of silver chloride nanoparticles by *Streptococcus* spp. isolated from Algerian camel smen : antioxidant, antibacterial and antibiofilm potentials, (2026). Biomass Conversion and Biorefinery. <https://doi.org/10.1007/s13399-026-07098-7>

Biomass Conversion and Biorefinery (2026) 16:161
<https://doi.org/10.1007/s13399-026-07098-7>

ORIGINAL ARTICLE



Extracellular biosynthesis of silver chloride nanoparticles by *Streptococcus Spp.* isolated from Algerian camel smen: antioxidant, antibacterial and antibiofilm potentials

Siham Khenfer¹ · M'hamed Bouricha² · Said Mosbah^{1,2} · Roukla Hammoudi² · Oussama Bacha³ · Oulad Baka³ · Salah Eddine Laouini⁴ · Hakim Belkhalifa⁵

Received: 4 March 2025 / Revised: 1 May 2025 / Accepted: 19 February 2026
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2026

Abstract

This study aims to explore the innovative use of a non-pathogenic bacterium, *Streptococcus spp.*, isolated from camel smen for the extracellular biosynthesis of silver chloride nanoparticles (AgCINPs) and evaluate their biological activities. Biosynthesized AgCINPs exhibit a maximum absorbance at 369 nm within the UV-Vis range. X-ray diffraction (XRD) analysis indicates that the nanoparticles have a cubic structure, with a crystallinity of 43.49% and an average crystallite size of 17.94 nm. Field emission scanning electron microscopy with energy dispersion analysis (FE-SEM) shows a spherical structure with an average particle size of 5.29 nm. Energy-dispersed X-ray spectroscopy (EDX) confirms the elemental composition. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis identifies the bioactive functions associated with AgCINPs. A surface charge of -34.8 mV and an average hydrodynamic diameter of 381.1 nm were also measured. AgCINPs biosynthesized demonstrated a total antioxidant capacity of 131.12±0.15 µg AAE/mg at a concentration of 100 µg/mL; 27.93 µg/mL of AgCINPs reduced 50% the initial DPPH concentration. The biosynthesized AgCINPs exerted bacteriostatic and bactericidal properties on the studied strains *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Micrococcus luteus* ATCC9314, and *Salmonella enterica* ATCC6017 at concentrations ranging from 15.62 to 125 µg/mL. AgCINPs, at an MIC concentration, were able to eradicate more than 50% of mature biofilms formed by the studied strains. These results highlight the potential of *Streptococcus spp.* in the biosynthesis of AgCINPs, thus reinforcing the ability of this technique to offer an innovative, inexpensive, reliable and eco-friendly alternative. In addition, these nanoparticles can be effective alternatives and considered as a solution to the problems of biofilms formed by pathogenic bacteria in many fields, including medicine, food and agriculture where they could be used as antibacterial and antibiofilm agents.

Keywords Biosynthesis · Camel Smen · *Streptococcus Spp.* · Silver Chloride Nanoparticle · Antioxidant · Antibacterial · Antibiofilm

✉ Oussama Bacha
bacha.oussama@gmail.com;
bacha.oussama@univ-ouargla.dz

¹ Laboratoire de Recherche sur la Phoeniciculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah, Ouargla 30000, Algérie

² Biogeochemistry of Desert Environments Laboratory, Faculty of Natural Science and Life, University of Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla, Algeria

³ Laboratory of Dynamic Interactions and Reactivity of Systems, Kasdi Merbah University, Ouargla 30000, Algeria

⁴ Laboratory of Biotechnology Biomaterials and Condensed Matter, Faculty of Technology, University of El Oued, El Oued 39000, Algeria

⁵ Scientific and Technical Research Center in Physicochemical Analysis, Bou-Ismaïl, Tipaza, Algeria

Participation à des congrès nationaux et internationaux

Congrès internationaux

Khenfer, S., & Mosbah, S., Bouricha, M., Hammoudi, R., Boudjenah-Haroun, S. (2024, 16-17 October). Ecological synthesis of nanoparticles: an overview on biosynthesis and characterization methods. [Présentation orale]. 1st international conference on: "Energy Systems, Artificial Intelligence, Plasma, Materials and Environment", university of Ghardaia, Algeria.

Khenfer, S., & Mosbah, S., Bouricha, M., Hammoudi, R., Boudjenah-Haroun, S. (2024, 10-11 November). Technological potentials of lactic acid bacteria isolated from camel milk. [Poster]. International WorkShop on Dromedary Development. University of Ouargla, Algeria.

Khenfer, S., & Bouricha, M., Mosbah, S., Hammoudi, R. (2025, 21- 22 April). Green synthesis of nanoparticles by bacteria lactic. [Présentation orale]. The Third International Conference on Materials, Energy & Environment (MEE'2025)", university of Eloued, Algeria.

Khenfer, S., & Bouricha, M., Mosbah, S., Bacha, O. (2025, 15- 17 November). Nanoparticles as an innovative alternative to antibiotics: a promising approach against multi-resistant bacteria. [Présentation orale]. 4th edition of the international conference on materials science and engineering and their impact on the environment -ICMSE'2025-, Djillali Liabés University in Sidi Bel Abbès, Algeria.

Congrès nationaux

Khenfer, S., & Bouricha, M., Mosbah, S., Hammoudi, R. (2024, 17 January). Biosynthèdes nanoparticules à partir des bactéries lactiques. [Poster]. 2nd Forum for PhD Students and Young Researchers on The role of Saharan bioresources on food security. University of Ouargla, Algeria.

Khenfer, S., & Mosbah, S., Bouricha, M., Hammoudi, R. (2024, 19 December). L'impact des nanotechnologies sur l'agriculture: nanofertilisation. [Présentation orale]. Le 1^{er} Séminaire National sur L'Innovation et la Vulgarisation Agricole SNIVA'2024 « EN LIGNE » ESAS-Adrar, Algérie.

Khenfer, S., & Bouricha, M., Mosbah, S., Hammoudi, R., Bacha, O. (2025, 18 September). Nanotechnology in Chemistry: Advanced Characterization of Nanomaterials for Innovative Applications. [Présentation orale]. 1st National Conference on Chemistry and Associated Sciences (1st NCC-AS), held on September 18th, 2025, at the Higher School of Teachers in Bousaada, M'Sila, Algeria.