

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Contribution a une étude des activités: antimicrobiennes et insecticide de l'argent colloïdal

Présenté par :

- Mme : Chabane Fouzia

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président

Mme Chalane Fatiha

MCA Université UMTS

Examineur

Mme. Ghaouti Dalila

MCA Université UMTS

Rapporteur

Mr. AMMAM A.B.K.

MCA Université UMTS

Année universitaire 2022/2023

Dédicaces

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour le respect et la reconnaissance.

Aussi, c'est tout simplement que :

Je dédie cette Mémoire

À mon père qui n'a pas pu voir mon travail

A ma très chère mère

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables .

Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Puisse Dieu, tout puissant vous comblez de santé de bonheur et vous procurer une longue vie.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur ; maman que dieu vous bénisse.

A mes sueur Amel ,Fatima et Samira

Pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mes chère nièces et neveux

J'espère être un bon exemple pour eux.

je vous dédie ce travail avec mes souhaits de bonheur, de réussite et de bonne santé et tous ceux qui ont apporté leur contribution, petite ou grande, à mon mémoire de fin d'études.

Fouzia

Dédicaces

Remerciement

*Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier en premier lieu **Allah** tous puissant de m'avoir donné le courage et la puissance pour accomplir ce petit projet.*

En second lieu, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à M^r

AMMAME Abdelkader

Maître de conférences à l'Université MOULAY Tahar, Saida, qui est un encadreur attentive et disponible. Je le remercie, pour son assistance matérielle et morale, pour son aide et son soutien.

Grace à votre esprit pédagogique et rigoureux, et pour vos Conseils précieux, complétés avec succès. Que Dieu Tout Puissant vous bénisse Santé, prospérité et bonheur.

Je tien à remercier l'ensemble de notre jury

*En premier **Chalane Fatiha.***

Maître de conférences à l'Université MOULAY Tahar, Saida ; à juger pour ce travail et insigne C'est un honneur qu'elle ait accepté d'être présidente du jury pour ce mémoire.

*Un grand merci à **Ghaouti Dalila.***

Maître de Conférences, Université MOULAY Tahar, Saida; pour accepter de revoir et d'évaluer cet humble travaille.

Remerciement

Liste des abréviations

E. coli :	<i>Escherichia coli.</i>
NPs	les nanoparticules.
Nm	nanomètre.
Mm	millimètre.
AgNPs	les nanoparticule d'argent.
UV	ultra-violet.
uM	micromoles.
Ppm	partie par million.
J.C	Jésus-Christ.
EDTA	acide éthylène diamine tétra-acétique.
PVP	polyvinylpyrrolidone.
<i>P aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>
<i>S aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus .</i>
AC	argent colloïdale.
<i>T.castaneum</i>	<i>Tribolium castaneum</i>

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 01.	Caractéristiques des colloïdes	06
Tableau 02.	Comparaison entre la synthèse biologique et la synthèse chimique	18
Tableau 03.	La classification d' <i>Escherichia coli</i>	28
Tableau 04.	Les caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i>	29
Tableau 05.	La classification de <i>Listeria monocytogenes</i>	31
Tableau 06.	La classification de <i>Enterobacter cloacae</i>	34
Tableau 07.	Caractères biochimique d'identification des espèces du genre <i>Enterobacter</i>	35
Tableau 08.	La classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Tableau 09.	La classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Tableau 10.	La classification d' <i>Aspergillus niger</i>	42
Tableau 11.	La classification de <i>T.castaneu</i>	44
Tableau 12.	Caractères macroscopiques des colonies bactériennes sur gélose	64
Tableau 13.	Des résultats de la diffusion sur gélose pour <i>Escherichia coli</i>	67
Tableau 14.	Des résultats de la diffusion sur gélose pour <i>Listeria monocytogenes</i>	68
Tableau 15.	Des résultats de la diffusion sur gélose pour <i>Enterobacter</i>	69
Tableau 16.	Des résultats de la diffusion sur gélose pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70
Tableau 17.	Des résultats de la diffusion sur gélose pour <i>Staphylococcus aureus</i>	71
Tableau 18.	Récapitulatif des résultats de l'activité antibactérienne des différentes concentrations d'argent colloïdale.	72
Tableau 19.	Résultats d'étude de l'activité anti fongique de l'argent colloïdale sur <i>Aspergillus niger</i>	75

Liste des figures

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01.	Nano particules d'argent en suspension	07
Figure 02.	Exemple de dispersions colloïdale	08
Figure 03.	Hypothèses concernant la pénétration des nanoparticules dans les bactéries	11
Figure 04.	Schéma résume de mécanisme d'action des NPs	12
Figure 05.	Formation électrochimique des colloïdes métalliques	14
Figure 06.	Plantes utilisées dans la synthèse des nanoparticules d'argent	16
Figure 07.	Mécanisme de la biosynthèse des nanoparticules d'argent à base des bacteries	16
Figure 08.	Représentation schématique du mécanisme de synthèse des nanoparticules métalliques dans un extrait végétal	17
Figure 09.	Les Applications des AgNPs	26
Figure 10.	<i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique	28
Figure 11.	<i>Listeria monocytogenes</i> sous microscopie à balayage électronique	30
Figure 12.	<i>Enterobacter cloacae</i> sous microscopie à balayage électronique	33
Figure 13.	Images de <i>P. aeruginosa</i> fixées sur du verre, par microscopie à balayage électronique	36
Figure 14.	Prise de vue au microscope électronique à balayage d'un biofilm de " <i>Staphylococcus aureus</i> " développé	38
Figure 15.	Aspect microscopique et macroscopique d <i>Aspergillus niger</i>	42
Figure 16.	Cycle de développement de <i>Tribolium castaneum</i>	45
Figure 17.	préparation des boites de pétri (photo prise au laboratoire)	50
Figure 18.	Examen à l'état frais	52
Figure 19.	Présentation de la galerie API 20E avant inoculation	55

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 20.	Inoculation de la galerie par la suspension bactérienne	55
Figure 21.	Différentes dilutions préparées avec la solution d'argent colloïdale	56
Figure 22.	Des écouvillons stériles trempés dans les suspensions bactériennes standardisées	57
Figure 23.	Plaque de Mueller-Hinton à ensemercer en stries avec l'écouvillon sur toute la surface du milieu à trois reprises	58
Figure 24.	Application des disques - tourner la boîte de Pétri d'un angle de 60°C après chaque application	59
Figure 25.	Placement des insectes pour le teste antiparasitaire létal	60
Figure 26.	Placement des insectes pour le teste antiparasitaire répulsif	60
Figure 27.	Aspect macroscopique <i>Aspergillus niger</i> photo prise au laboratoire.	61
Figure 28.	Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E.coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> sur des milieux sélectifs photo prise au laboratoire.	63
Figure 29.	Aspect macroscopique de <i>E.coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose nutritive, photo prise au laboratoire.	63
Figure 30.	Aspect microscopique <i>E.coli</i> (Gram-), <i>Listeria monocytogenes</i> (Gram +), <i>Enterobacter</i> (Gram), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , (Gram-), <i>Staphylococcus aureus</i> .(Gram+), Photo prise au laboratoire.	65
Figure 31.	Test d'oxydase négatif : (A) <i>Escherichia coli</i> , (B) <i>Listeria monocytogenes</i> , (C) <i>Enterobacter cloacae</i> , (D) <i>Streptococcus aureus</i> , positif pour (E) <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	66
Figure 32.	Résultat de la Galerie API 20E d' <i>Enterobacter</i>	66
Figure 33.	Résultat d'ApiE20 web d' <i>Enterobacter</i>	66
Figure 34.	Résultat du teste antiparasitaire répulsif	73
Figure 35.	Résultat du teste antiparasitaire létal	77
Figure 36.	gros plan de trois plaques représentatives. Notez que 20 ppm (B) ont inhibé 33% la croissance fongique tandis que 15 ppm (C) inhibaient environ 26 % de croissance par rapport au contrôle sans produit (A)	75

Résumé

Résumé

L'argent colloïdal est considéré actuellement comme un sujet d'actualité, Cette suspension de nanoparticule d'argent est un agent antimicrobien à large spectre parmi les plus documentés de l'histoire de la médecine qui a fait l'objet de plusieurs études. Face à la propagation des phénomènes de résistance microbienne, plusieurs chercheurs se sont penchés sur l'argent colloïdal comme alternative aux agents antimicrobiens de synthèse. L'argent colloïdal, a montré son efficacité vis-à-vis d'à peu près tous les organismes pathogènes, y compris les bactéries, les champignons et les insectes.

Dans cette étude, les souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, la souche fongique *Aspergillus niger* et l'insecte *Tribolium castaneum* ont fait l'objet de l'évaluation de l'activité antimicrobienne et insecticide de l'argent colloïdal..

La méthode de diffusion sur gélose a montré une absence d'activité antibactérienne en utilisant les concentrations d'AC de 20 ppm, 15 ppm, 10ppm et 5ppm.

Le test antifongique avec la macro méthode de dilution a titre de 10% en milieu gélosé par la solution d'AC (20ppm et 15ppm) a montré son activité antifongique contre *Aspergillus niger* (30% et 26%).

La concentration de 20ppm d'AC a donné un effet répulsif de l'ordre de 80% sur *Tribolium castaneum* mais sans effet létal.

Ce travail pourrait alors être un nouveau pas dans la découverte de nouvelles alternatives dans la lutte contre la résistance microbienne et encourager d'autres tests sur de nouvelles espèces et avec de nouvelles concentrations, qui seraient d'une grande importance scientifique pour le domaine de la recherche et de la vie humaine.

summary

summary

Colloidal silver is currently considered a hot topic, This suspension of silver nanoparticles is one of the most documented broad-spectrum antimicrobial agents in the history of medicine which has been the subject of several studies. Faced with the spread of microbial resistance phenomena, several researchers have looked into colloidal silver as an alternative to synthetic antimicrobial agents. Colloidal silver has been shown to be effective against almost all pathogenic organisms including bacteria, fungi and insects.

In this study, the bacterial strains: *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, the fungal strain *Aspergillus niger* and the insect *Tribolium castaneum* were evaluated for antimicrobial activity and colloidal silver insecticide..

The agar diffusion method showed an absence of antibacterial activity using AC concentrations of 20 ppm and 15 ppm 10ppm et5ppm..

The antifungal test with the macro dilution method at 10% in agar medium with CA solution (20ppm and 15ppm) showed its antifungal activity against *Aspergillus niger* (30% and 26%).

The concentration of 20ppm of CA gave a repellent effect of about 80% on *Tribolium castaneum* but without lethal effect.

This work could then be a new step in the discovery of new alternatives in the fight against microbial resistance and encourage other tests on new species and with new concentrations. , which would be of great scientific importance for the field of research and human life

ملخص

تعتبر الفضة الغروية حالياً موضوعاً ساخناً ، ويعد تعليق جزيئات الفضة النانوية أحد أكثر العوامل المضادة للميكروبات واسعة النطاق الموثقة في تاريخ الطب والتي كانت موضوع العديد من الدراسات. في مواجهة انتشار ظاهرة المقاومة الميكروبية ، نظر العديد من الباحثين في الفضة الغروية كبديل للعوامل الاصطناعية المضادة للميكروبات. لقد ثبت أن الفضة الغروية فعالة ضد جميع الكائنات المسببة للأمراض تقريباً بما في ذلك البكتيريا والفطريات والحشرات.

في هذه الدراسة ، تم تقييم السلالات البكتيرية *Escherichia coli* ، *Listeria monocytogenes* ، *Enterobacter cloacae* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus* ، السلالة الفطرية *Aspergillus niger* ، والحشرة *Tribolium castaneum*.

أظهرت طريقة انتشار الأجار عدم وجود نشاط مضاد للبكتيريا باستخدام تركيزات AC 20 جزء في المليون ، 15 جزء في المليون، جزء من المليون، 10 جزء من المليون و 5 جزء من المليون.

أظهر الاختبار المضاد للفطريات باستخدام طريقة التخفيف الكلي بنسبة 10% في وسط أجار بمحلول الفضة الغروية (20 جزء في المليون و 15 جزء في المليون) نشاطه المضاد للفطريات ضد *Aspergillus niger* 30% و 26% أعطى تركيز 20 جزء في المليون من محلول الفضة الغروية تأثيراً طارداً بنحو 80% على تريبوليوم كاستانوم ولكن بدون تأثير مميت.

يمكن أن يكون هذا العمل بعد ذلك خطوة جديدة في اكتشاف بدائل جديدة في مكافحة مقاومة الميكروبات وتشجيع الاختبارات الأخرى على الأنواع الجديدة وبتراكيزات جديدة. والتي ستكون ذات أهمية علمية كبيرة لمجال البحث و حياة الإنسان

Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des tableaux	ii
Liste des figures.....	iii
Résumé	v
Sommaire	viii
Introduction :.....	1
I.1 Historique de l'argent colloïdal:.....	3
I.2. Généralistes sur l'argent colloïdal :.....	5
I.2.1. Les colloïdes :.....	5
I.2.2. L'argent colloïdal :.....	8
1.2.2.1. Ion d'argent :	9
I.2.2.2. Charges électriques des particules :.....	9
I.2.2.4. l'argent colloïdal en tant qu'agent antimicrobien:	10
I.2.3. Méthodes de fabrication de l'argent colloïdal:.....	13
I.2.3.1. le broyage mécanique :.....	13
I.2.3.2 La précipitation chimique :.....	13
I.2.3.3 La méthode électrique :	13
I.2.3.4. Méthode biologique :	15
I.2.4. Critères de qualité des solutions d'argent colloïdal:.....	18
I.2.4.1. La taille des particules:.....	18
I.2.4.2.La concentration:	19
I.2.4.3. La qualité de l'eau:	19
I.2.4.4.La qualité des électrodes :.....	20
I.2.4.5.La couleur :	20
I.2.4.6. Stabilité, conservation :.....	20
I.2.4.7. Pureté De La Solution :.....	20
I.2.4.8. Ajouts:	21
I.2.4.9. Conditionnement:.....	21
I.3. L'argent colloïdale : Spectre d'actions, applications:.....	21
I.3.1. Spectre d'action :	21
I.3. 1.1 Action optique:	21
I.3.1.2 Action catalytique:.....	22

Sommaire

I.3.1.3 Action antimicrobienne:	22
I.3.2. Les Applications de l'argent colloïdale:.....	26
I.3.Généralités sur bactéries, champignon et insecte:	27
I.3.1.Les bactéries:	27
I.3.1.1. Introduction:	27
I.3.1.2. <i>Escherichia coli</i> :.....	27
I.3.1.3. <i>Listeria monocytogenes</i> :.....	30
I.3.1.4. <i>Enterobacter cloacae</i> :	33
I.3.1.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> :	35
I.3.1.6. <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	38
I.3.2.Les champignons :	41
I.3.2.1.Introduction :	41
I.3.2.2. <i>Aspergillus niger</i> :	41
I.3.3. L'insecte <i>Tribolium castaneum</i> :	43
I.3.3.1. Généralités :	44
I.3.3.2. Classification :.....	44
I.3.3.3. Cycle de développement :.....	44
I.3.3.4.Dégâts :	45
I.3.3.5.Origine et répartition :.....	45
I.3.3.6. Moyens de lutte :	46
I.3.3.7.La lutte biologique :.....	46
II. Matériel et méthodes :.....	48
II.1. Matériel.....	48
II.1.1. Souches bactériennes	48
II.1.2. l'insecte:	48
II.1.3. Milieux de culture:	49
II.1.4. Appareils:.....	49
II.1.5. Solvants et réactifs.....	49
II.1.6. l'agent anti microbien.....	49
II.2. Méthodologie :	50
II.2.1.Etude de l'activité antibactérienne :.....	50
II.2.1.1. Identification des souches bactériennes:.....	50
II.2.1.1.1. Caractères morphologiques :	51
II.2.1.1.1.a.Examen macroscopique des caractères cultureaux :.....	51

Sommaire

II.2.1.1.1.b. Examen microscopique :.....	51
II.2.1.1.2 – Etude des caractères biochimiques :	53
II.2.1.1.2.a- Tests biochimiques classiques :	53
II.2.1.1.2.b-Galerie Api 20 E :.....	54
II.2.1.2 - Mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'argent colloïdale :.....	55
II.2.2.Etude de l'activité insecticide:.....	59
II.2.2.1.Préparation des boites de teste :	59
II.2.2.2.Placement des des insectes :	59
II.2.3.Etude de l'activité anti fongique:	60
III. Résultats et discussion :	63
III.1- Résultat d'étude bactériologique :	63
III.1.2- Etude microscopique :.....	65
III.1.3- Etude des caractères biochimiques :	65
III.1.3.1- Tests biochimiques classiques :	65
III.1.3.2. Galerie API 20 ^E 20 :.....	66
III.2 .Résultats d'étude de l'activité antibactérienne de l'argent colloïdale :.....	67
III.3. Résultats d'étude de l'activité insecticide de l'argent colloïdale:	73
III.4. Résultats d'étude de l'activité antifongique de l'argent colloïdale :.....	74
<i>Conclusion</i> :	78
<i>Bibliographie</i>	80
<i>Annexe</i>	87

Introduction

Introduction

Introduction :

L'argent colloïdal pourrait bien redevenir sous peu un classique de l'armoire à pharmacie, que ce soit en Europe, aux USA, au Canada ou en Australie, ce produit est désormais considéré comme une alternative.

Actuellement un tel succès populaire qu'il pourrait constituer une menace pour les entreprises pharmaceutiques [5]

Avec plus de 125 000 sites internet où il est question de lui, l'argent colloïdal fait incontestablement partie des succès actuels en matière de produits de santé, la raison de cet engouement pour ce produit est due à ces étonnantes propriétés thérapeutiques: il élimine un très grand nombre de bactéries pathogènes, y compris des souches résistantes aux antibiotiques représentant à présent l'un des problèmes de santé publique majeurs de notre millénaire, de l'avis même de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Or, les remèdes à base d'argent sont les anti-infectieux à large spectre parmi les plus documentés de l'histoire de la médecine. L'argent colloïdal est en effet capable de s'attaquer à la plupart des bactéries, virus et parasites. Il n'engendre apparemment pas de souches résistantes. Préparé et administré correctement, il ne présente aucune toxicité et ne produit aucun effet secondaire [4].

Cependant, il y a lieu de préciser qu'en dépit de l'explosion des ventes de l'argent colloïdal, il n'est pas breveté autant qu'agent antimicrobien, ni autorisé par les grandes sociétés pharmaceutiques et les recherches scientifiques continuent à lui tourner le dos, s'agit-il alors, d'un intérêt purement économique ou de la non reconnaissance des vertus et de l'impact thérapeutique de ce produit autant qu'agent antimicrobien ? L'argent colloïdal peut-il constituer un éventuel agent antimicrobien prometteur ?

L'objet de cette étude est de présenter, les formes d'utilisation de l'argent colloïdal et ses mécanismes d'action, son spectre d'action, les pathologies pour lesquelles des études ont montré l'efficacité de l'argent colloïdal, et ainsi une étude de cinq souches bactériennes ; *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* et un test d'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent réalisé sur elles, un test insecticide réalisé sur *Tribolium castaneum* et antifongique sur *Aspergillus niger*.

Ce travail tentera également d'apporter un éclairage sur les conclusions de certaines études sur l'efficacité de ce produit autant qu'agent antimicrobien en les comparant avec nos conclusions.

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

I.1 Historique de l'argent colloïdal:

L'action antibactérienne de l'argent, connue depuis des siècles, retrouve aujourd'hui ses lettres de noblesse face au problème de la résistance aux antibiotiques.[3]

L'argent à l'époque avant Jésus-Christ jusqu'à environ 650 :

La première utilisation d'argent à des fins de guérison remonte à la dynastie Han en Chine, vers 1500 avant J.-C. Les récipients et ustensiles en argent massif étaient principalement utilisés à des fins curatives sous les empires phénicien, macédonien et perse. L'eau potable devait être conforme aux normes d'hygiène et elle était donc stérilisée avec une pièce d'argent ou stockée dans un récipient en argent massif. Hérodote [1][78]

(Vers 484 - 425 av. J.-C.), historien et scientifique grec, a préconisé l'utilisation de l'argent pour la purification de l'eau. Il rapporte que le roi perse Cyrus (vers 600 – 530 av. J.-C.) conservait l'eau dans des récipients en argent massif afin de la garder dans un état purifié pour toute son armée et sa cour[1]. Le père de la médecine, Hippocrate lui-même (460-370 AV JC), déploya l'usage de la « fleur d'argent », qui n'est autre qu'une poudre d'argent à visée cicatrisante, et la préconise contre les blessures [7], le naturaliste et philosophe romain Pline l'Ancien (79 après J.C.), rapporte dans son encyclopédie d'histoire naturelle (Historia Naturalis) que l'argent a de nombreuses propriétés thérapeutiques. [1][4]

L'argent à l'époque médiévale (entre 500 & 1500) :

Au début du XVI^e siècle, Paracelse (1493-1541), l'un des plus grands alchimistes et médecins de Renaissance, utilisait l'argent pour le traitement des blessures dans les infections cérébrales.

Les propriétés de l'argent pour la santé ont fait que les familles des couches socio-économiques supérieures avaient l'habitude, au Moyen-âge, de manger dans des récipients et avec des couverts en argent massif afin de prévenir les maladies et de prolonger leur espérance de vie. D'où l'étymologie du proverbe "être né avec une cuillère en argent dans la bouche", puisque les bébés et les enfants de la classe supérieure étaient nourris avec des cuillères en argent afin de les maintenir en bonne santé et de favoriser leur longévité. Non seulement l'eau, mais aussi les aliments étaient conservés dans des récipients en argent massif ou avec des pièces de monnaie en argent. Cependant, tout le monde ne pouvait pas se permettre de dîner dans de semblables récipients. Les paysans, par exemple, qui mangeaient dans des ustensiles de fer, d'étain ou de faïence, étaient plus sensibles à diverses maladies que la noblesse. [1]

L'argent à l'époque moderne (entre 1500 & 1945) :

La légende veut que l'aristocratie ait utilisé l'argent sous toutes ses formes, à tel point qu'elle a développé des décolorations bleues de la peau appelées argyrie, une constatation qui a peut-être conduit au terme de «sang bleu» pour décrire les membres de l'aristocratie.[1][2]

Au moment où la noblesse insistait sur l'utilisation de couverts et des récipients en argent massif comme moyen de lutter contre les microbes, la médecine moderne s'est développée. La médecine moderne utilisait différentes formes d'argent de qualité médicale, dont le nitrate d'argent, la sulfadiazine d'argent et l'argent colloïdal

Dans les années 1800 Sims est reconnu comme le premier chirurgien américain ; il a déclaré avec audace que l'utilisation de sutures d'argent a été l'une des principales contributions à la chirurgie. [2]

Le nitrate d'argent a été utilisé sous forme de gouttes pour les yeux dans le cadre de la prévention de la gonorrhée chez les nouveaux-nés entre 1880 et la fin des années 1900.

Plus précisément, c'est l'obstétricien allemand Dr. Carl Franz Siegmund Credé (1819-1892) qui a introduit cette méthode d'utilisation de l'argent afin d'éviter l'ophtalmie, en obtenant ainsi une réduction considérable de l'ophtalmie néonatale de 7,8 % à 0,13 % en 13 ans [1][.2]

On attribue à son fils, Carl Benno Credé (1847-1929), l'introduction du premier argent colloïdal, un mélange soluble dans l'eau qu'il utilisait comme onguent dès 1897. Credé a été le pionnier de l'utilisation de l'argent pour lutter contre les infections cutanées.

L'utilisation de l'argent comme agent antimicrobien en médecine s'est arrêtée avec la découverte des antibiotiques en 1907 par le médecin allemand Paul Ehrlich (1854-1915). Ehrlich a ensuite mis au point avec le chimiste allemand Alfred Bertheim (1879-1914), une série d'antibiotiques synthétiques dérivés de l'arsenic, ce qui a mis fin à l'utilisation très répandue de l'argent.

Jusqu'à ce que le médecin Dr. Edouard Prouvost découvre que les performances de l'argent colloïdal intraveineux étaient très efficaces pendant l'épidémie de grippe de 1918, également connue sous le nom de "grippe espagnole",¹³ l'argent était utilisé en même temps que les antibiotiques.[1]

Les colloïdes fournissant des particules fines,. Les colloïdes électriques d'argent sont devenus le pilier des antimicrobiens [2]

L'argent à l'époque contemporaine (de 1945 à aujourd'hui) :

L'argent reste aujourd'hui largement utilisé sous diverses formes en médecine, notamment dans les bandages qui libèrent des ions d'argent, dans les cathéters pour le drainage rénal et dans les valves cardiaques mécaniques, pour n'en citer que quelques-unes. En raison du niveau croissant de résistance bactérienne à certains antibiotiques, l'argent colloïdal a été réévalué comme l'ancien remède antibiotique dans les études et les essais actuels. Le Dr. Gary Smith, chercheur dans le domaine du cancer, a démontré par ses recherches que l'homéostasie dans le corps d'une personne dépend de la présence d'argent : "Lorsque l'argent est présent, les cellules cancéreuses se différencient et le corps est restauré...", tandis que le manque d'argent favorise la croissance des cellules cancéreuses.[1][2]

Au milieu du XXe siècle, le Dr. Robert O. Becker (1923-2008), chirurgien orthopédiste et chercheur médical américain, a montré que les ions argent générés électriquement peuvent guérir l'inflammation de la moelle osseuse (ostéomyélite) et même traiter le cancer en tuant les bactéries et en stimulant la croissance des tissus en même temps.

En 1995, le physicien Bob Beck a popularisé l'argent colloïdal aux États-Unis en mettant en œuvre le protocole de bioélectrification Bob Beck, une méthode permettant de fabriquer de l'argent colloïdal chez soi, qui est encore largement connue aujourd'hui. L'argent colloïdal continu d'être utilisé pour stériliser l'eau à bord de la navette spatiale de la NASA. De nombreuses compagnies aériennes utilisent aujourd'hui des filtres avec des électrodes en argent pour purifier l'eau pendant les vols.

Les applications étendues et toujours plus nombreuses de l'argent en médecine, dans le domaine de la santé et des soins personnels, dans les produits ménagers et dans de multiples activités quotidiennes, sont la preuve de l'efficacité de l'argent ainsi que de l'argent colloïdal ionique en tant que composé anti-infectieux et antimicrobien.[11]

I.2. Généralistes sur l'argent colloïdal :

I.2.1. Les colloïdes :

Le terme "colloïde" a été employé pour la première fois par Thomas Graham en 1861. C'est un mot d'origine grecque, *kolla*, qui signifie "colle". Il désigne une substance composée de particules ultra fines suspendues dans un milieu différent. Ces particules peuvent être gazeuses, liquides ou solides. Le milieu peut lui aussi être gazeux, liquide ou solide. Les colloïdes ont de nombreuses formes : des particules liquides ou solides suspendues dans un milieu liquide

constituent une émulsion (lait, latex, huile dans de l'eau...) ; des particules liquides suspendues dans un milieu gazeux forment un brouillard ; des particules solides en suspension dans un milieu gazeux forment une fumée. Le sang et les liquides lymphatiques sont aussi des suspensions colloïdales. Pour pouvoir être utilisés par l'organisme, les nutriments doivent passer de l'état cristallin à l'état colloïdal. [4][15]

Dans un système colloïdal ou une solution colloïdale, les particules doivent être insolubles : elles ne se dissolvent pas dans la solution ou la suspension.

La taille des particules joue un rôle essentiel pour définir le type de système dont il s'agit. En dessous de 1 nanomètre, le système tendra vers la solution "vraie" (ou "système moléculaire"). Entre 1 nm et 100 nm, le système peut être qualifié de "colloïdal". Au-dessus de 100 nm, on aura tout d'abord des systèmes qui présentent encore la plupart des caractéristiques des colloïdes, puis on se dirige ensuite vers des suspensions de plus en plus grossières selon le tableau 01. On ne peut pas établir de point précis séparant les solutions vraies des solutions colloïdales parce que la transition se fait insensiblement (Tableau 01). [6]

Tableau 01 : Caractéristiques des colloïdes [6][27]

diamètres	0,1nm	1nm	100nm	1 μ	100 μ	1 mm
Type de système	Solution vraies		Solution colloïdales		émulsions et suspensions → particules de plus en plus grossières	
	région de l'ultramicroscope			région du microscope		
	les particules sont animées d'un mouvement brownien**				pas de mouvement brownien visible	
	les particules passent à travers le papier-filtre ordinaire				les particules sont retenues par le papier-filtre ordinaire	
	les particules font preuve d'une solubilité accrue				les particules ont une solubilité normale	

Un colloïde est une préparation constituée de particules infiniment petites (nanoparticules). (Figure 01) électriquement chargées en suspension dans une eau purifiée de très haute qualité. L'argent colloïdal ne se dissout pas dans l'eau, mais diffuse uniformément dans la solution.

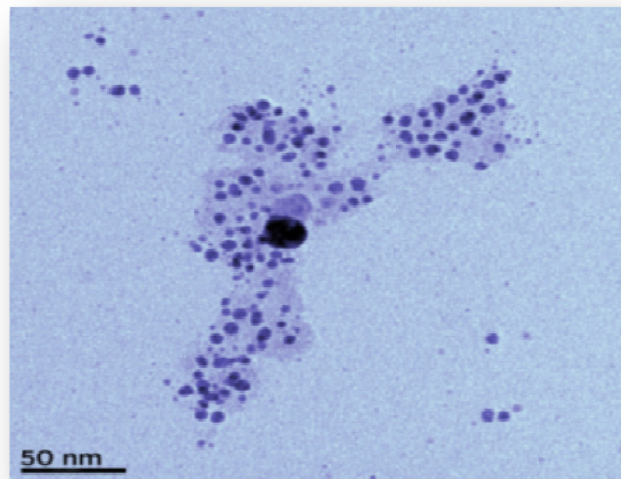


Figure 01: Nano particules d'argent en suspension [20]

Le meilleur moyen de détecter cet état colloïdal est par ce qu'on appelle "l'effet de Tyndall", où on projette un étroit faisceau de lumière à travers le liquide pour voir ainsi un cône représentant la dispersion de la lumière. Les particules ainsi illuminées exhibent aussi un mouvement désordonné, en zigzag, appelé "mouvement de Brown" lorsqu'on les observe au microscope. [5][27]

Lorsqu'une particule est complètement dissoute, les effets de Brown et de Tyndall disparaissent.

Le terme colloïdal se rapporte à des particules d'argent de taille comprise entre 1 nanomètre et 1 micron. Un vrai colloïde est très stable et a une durée de vie de plusieurs années.[4][5]

La stabilité d'une suspension colloïdale résulte de l'équilibre entre les interactions attractives et les interactions répulsives qui s'exercent sur les particules. Ces interactions dépendent notamment de la température, du pH et des électrolytes dissous. Cette stabilité relève plus de l'ordre cinétique que de l'ordre thermodynamique. En effet, la sédimentation de la phase diffusée et donc la séparation des deux phases est l'état final de tout colloïde. C'est la vitesse de ce phénomène de floculation/sédimentation, très lente, qui donne cette apparence de stabilité (Figure 02). [5][4]

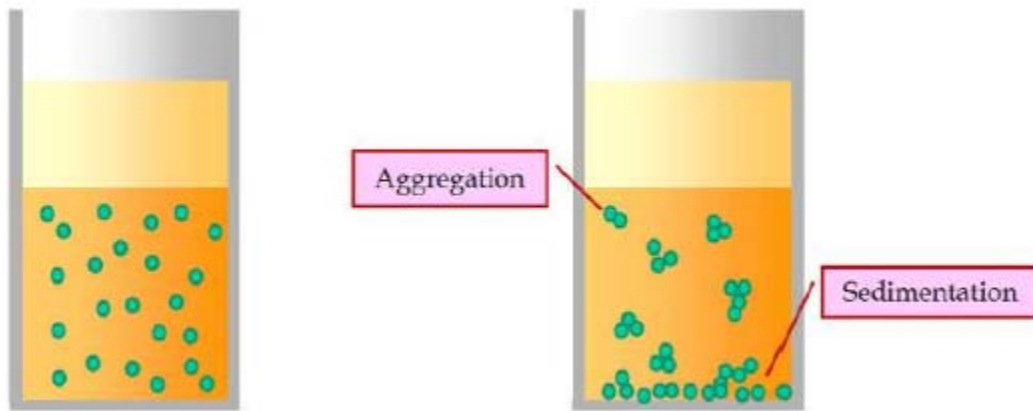


Figure 02 : Exemple de dispersions colloïdale stable (à gauche) et instable (à droite). Dans le Deuxième cas, on remarque que les particules se rassemblent (aggrégation) et sédimentent (Sédimentation).[7]

La connaissance et compréhension des forces qui gouvernent la stabilité des suspensions colloïdales est donc essentielle à leur préparation. Les nanoparticules peuvent être stabilisées par des phénomènes électrostatiques ou stériques. La stabilisation stérique est établie grâce à l'addition de polymères et/ou surfactants : elle consiste à fixer autour des particules des polymères ayant une forte affinité avec le solvant, ainsi lorsque deux polymères vont se rencontrer ils préféreront interagir avec le solvant et se repousseront. La stabilisation électrostatique est basée sur la répulsion de charges de même signe. Des phases différentes ont souvent des affinités électrostatiques différentes ce qui provoque la formation d'une double couche électrique à l'interface.[5]

I.2.2. L'argent colloïdal :

L'argent colloïdal est un type de colloïde consistant en particules solides (argent) en suspension dans liquide (eau distillée ou désionisée). La plupart des produits commerciaux contiennent en fait presque exclusivement (de 80 à 95 %) une autre forme d'argent appelé "ions". Le terme "argent colloïdal" employé pour désigner tous les produits commerciaux courants est donc en fait impropre du point de vue scientifique. la plupart des solutions dites d'argent colloïdal sont composées à la fois d'argent métallique et d'ions d'argent (atome d'argent avec un électron déficient) dans des proportions variables selon les fabricants. On parle également d'argent ionique. Bien que le sujet soit en débat chez les spécialistes, le type d'argent colloïdal (plutôt métallique ou ionique) ne serait pas un critère d'efficacité. Par commodité, dans la suite

de cet écrit, nous parlerons d'argent colloïdal, qu'il s'agisse d'une solution à dominante métallique ou à dominante ionique [7]

.Bien que de nombreuses techniques différentes aient été développées au cours des dix dernières années, afin d'obtenir un argent colloïdal de qualité, la meilleure et la plus fiable reconnue est celle du processus électrique, car il s'agit de la seule méthode qui permette de préserver l'homogénéité. Cette technique par électrolyse, permet d'obtenir des particules infiniment petites (d'argent pur électro-colloïdal à 99,999 %) en suspension dans le liquide. De plus, avec l'accroissement de l'intérêt porté par les consommateurs pour l'argent colloïdal, des générateurs à usage domestiques ont été développés permettant d'obtenir des particules colloïdales de la taille du sous-nanomètre.[4]

Les solutions d'argent sont préparées dans l'optique d'obtenir des nanoparticules d'argent de forme, taille, et surface contrôlables, déterminant une stabilité et des propriétés fonctionnelles précises. Elles seront utilisées dans diverses applications biomédicales comme : pansements et bandages, vêtements, cosmétiques, vendus en grande consommation, ou encore en tant que précurseurs pour la synthèse de nano composites combinant l'argent colloïdal avec des polymères.

1.2.2.1. Ion d'argent :

L'ion d'argent est un atome d'argent auquel il manque un électron. De ce fait, ayant perdu une charge négative (électron), l'ion d'argent est porteur d'une charge positive et devient soluble (cette solubilité est limitée et peut se mesurer). L'argent dissout n'est plus métallique et demeure invisible même sous le microscope le plus puissant ; contrairement à l'argent colloïdal, il ne reflète pas la lumière. Les particules d'argent métallique qui forment l'argent colloïdal sont porteuses d'une charge négative et non positive comme les ions. [4]

1.2.2.2. Charges électriques des particules :

Les charges électriques des particules, lorsqu'ils sont dispersés dans de l'eau ayant une faible concentration ionique, la plupart des solides acquièrent une charge négative appelée "potentiel zêta". Cette charge est en partie due à l'adsorption des ions de la solution. L'ionisation dissocie la molécule d'eau en ions hydrogène (H⁺) et hydroxyles (OH⁻). Ces derniers sont des ions non métalliques qui s'unissent aux atomes des particules d'argent et parce que les particules se repoussent mutuellement avec une force suffisante pour demeurer dispersées.[4]

I.2.2.4. L'argent colloïdal en tant qu'agent antimicrobien:

L'argent colloïdal est un composé naturel ou qui inhibe la croissance microbienne. Les chercheurs ont un réel engouement pour l'argent colloïdal en grande partie pour son toxicité envers les bactéries. Cette toxicité s'exerce grâce à divers mécanismes qui restent jusqu'à nos jours pas bien détaillés.

a. Mécanisme de pénétration de l'argent colloïdal :

L'argent colloïdal possède un mécanisme de pénétration qui est peu élucidé, donc les chercheurs ont su mettre à l'œuvre plusieurs hypothèses :

- La première serait un passage par des porines non spécifiques de la paroi, mais les plus grosses porines ayant un diamètre de 2 nm, cette explication semble donc peu probable

- La deuxième hypothèse la plus probable est que l'argent colloïdal est capable d'exercer une pression mécanique sur la paroi, en raison d'une différence de concentration en osmolytes de part et d'autre de la membrane, et donc de traverser celle-ci en forçant le passage (figure 03).

- La troisième hypothèse serait qu'une particule en contact avec la membrane pourrait produire des espèces réactives d'oxygène et ainsi provoquer des dommages membranaires, des trous dans la membrane seraient formés et permettraient la pénétration des nanoparticules dans le périplasme ou le cytoplasme. D'autres chercheurs suggèrent l'importance de la charge de la particule pour qu'elle puisse s'approcher de la paroi et libérer les ERO (espèces réactives d'oxygène) à son voisinage (figure 03), les nanoparticules chargées positivement pénètrent dans la paroi bactérienne. Ainsi, c'est peut-être la charge des particules, en complément ou en substitution de leur taille, qui conditionne la pénétration des nanoparticules. De plus, cela conforte la troisième hypothèse de mécanisme de pénétration. [9][6]

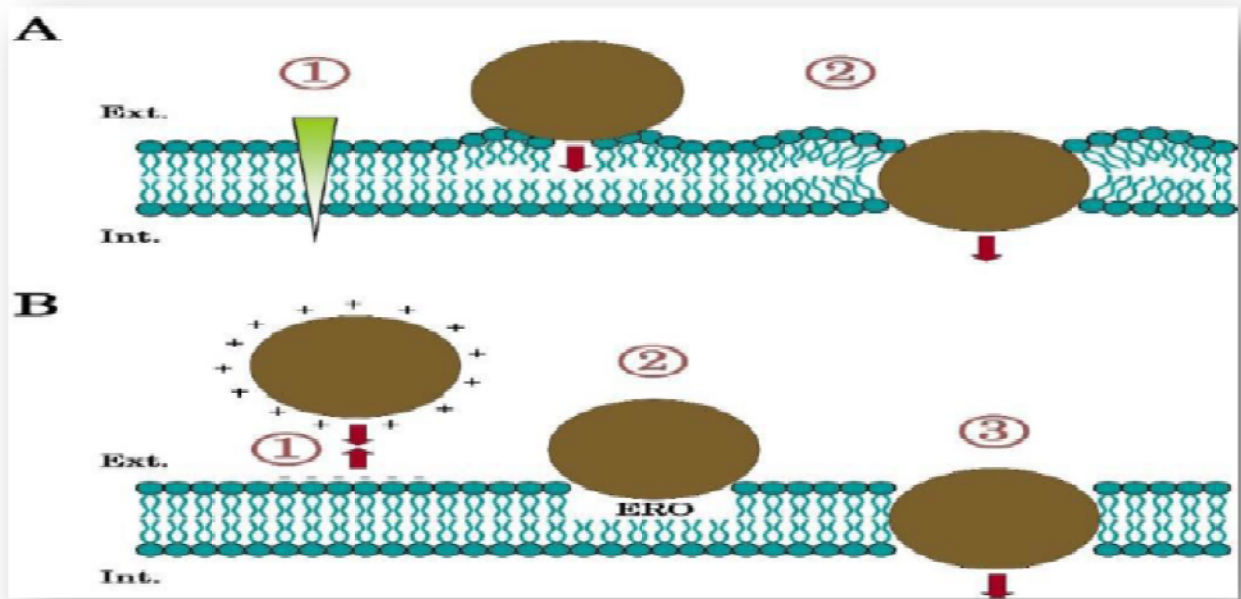


Figure 03 : Hypothèses concernant la pénétration des nanoparticules dans les bactéries [9]

Hypothèse du passage mécanique (A) : En imaginant une différence de concentration en nanoparticules exerçant une pression (1), les nanoparticules forcent le passage pour aller du compartiment le plus concentré au moins concentré. Hypothèse du passage par détérioration de la membrane externe (B) : Une particule chargée positivement peut se coller sur la bactérie chargée négativement (1), en imaginant que ces particules sont capables de produire des ERO (2) l'une des conséquences possibles est une détérioration de la membrane externe et une formation de puits permettant le passage des nanoparticules (3).

b .Activité antibactériennes de l'argent colloïdal:

Le mode d'action exact de l'argent colloïdal n'est pas encore complètement élucidé aujourd'hui par les scientifiques. Cependant, certaines hypothèses sont communément acceptées comme possibles. L'argent sous forme de nanoparticules a une efficacité démultipliée, notamment du fait que ces particules extrêmement fines sont réparties uniformément et ont donc une surface d'action plus grande. De plus, ces nanoparticules sont suffisamment petites pour pouvoir interagir avec les cellules. En ce qui concerne, plus largement, les nano médicaments,

Citons le professeur Patrick Couvreur, figure emblématique des nanotechnologies médicales, pionnier de la vectorisation des médicaments sous forme de nanoparticules et lauréat français, en 2007, de la médaille « Host Madsen Medal » qui est la plus haute distinction décernée par la Fédération Internationale Pharmaceutique : « Un comprimé d'un gramme de poudre présente une surface de quelques millimètres carrés ; le même gramme de substance éclaté en nanoparticules

présente une surface d'environ 100 m². Les nano médicaments présentent donc une surface d'interaction avec les milieux vivants beaucoup plus importante que les formes pharmaceutiques traditionnelles.

Selon l'immunologie Research Fondation, « L'argent colloïdal détruit bactéries, virus et autres microbes, d'au moins 3 manières menant à la désactivation définitive de l'ADN et des protéines de la bactérie, sans dommages sur les tissus :

- Perturbation des protéines membranaires externes des organismes pathogènes
- Désactivation des enzymes des bactéries
- Inhibition de la reproduction des bactéries par association avec leur ADN (Figure 04) .[10][7]

De nombreuses formes de bactéries, virus, champignons, et mycoplasmes utilisent une enzyme spécifique pour respirer et pour vivre. Les particules d'argent liquide colloïdal agissent comme un catalyseur en inhibant cette enzyme qui est le poumon chimique de ces micro-organismes. Ils se trouvent donc asphyxiés sans que les tissus alentour ne soient altérés. De plus, l'argent s'attache à l'ADN de ces micro-organismes afin d'en empêcher la reproduction, et de ce fait annule leur résistance.

Les cellules des mammifères ne sont pas altérées par l'argent car elles sont protégées par une paroi cellulaire complètement différente des peptidoglycanes constituant la paroi cellulaire de la bactérie. [7]



Figure 04: schéma résumé de mécanisme d'action des NPs[10]

I.2.3. Méthodes de fabrication de l'argent colloïdal:

Diverses méthodes étaient utilisées autrefois pour la fabrication de colloïdes. En ce qui concerne l'argent colloïdal, trois méthodes furent employées.

I.2.3.1. le broyage mécanique :

Produisait de très grosses particules (de l'ordre de 100 microns) qui tendaient à se déposer au fond de la solution. Pour essayer d'éviter la précipitation, on ajoutait souvent des stabilisants. Ceux-ci avaient tendance à diminuer l'action de l'argent et pour compenser ce phénomène on employait de plus fortes quantités d'argent, ce qui créait un risque potentiel de toxicité.

I.2.3.2 La précipitation chimique :

En raison de l'inefficacité de la méthode du broyage, les experts se sont tournés vers la technique chimique qui offrait une meilleure qualité de la solution. Cependant, cette méthode possédait un inconvénient majeur notamment la formation de colloïde par précipitation chimique via l'ajout d'un réducteur (généralement un acide fort) à un sel d'argent. (généralement du nitrate d'argent), En tout cas, les chercheurs ont estimé que cette technique pouvait avoir un effet nocif sur l'organisme.[4][13].

I.2.3.3 La méthode électrique :

Dite aussi "électrocolloïdale", est celle qui devait finalement prévaloir .Au processus cathodique (employé pour la première fois en 1926) s'ajoutent diverses configurations d'arcs électriques. La méthode cathodique (électrolytique) est la plus efficace et la plus sûre. [4]. De manière simple, elle consiste à placer des électrodes en argent dans un récipient rempli d'eau purifiée. Ensuite, un courant continu est émis dans l'eau au moyen des électrodes (Figure 05). [13]

L'électrolyse de l'eau pure avec des électrodes en argent arrache des ions d'argent à l'électrode positive et les met en solution. Etant porteurs d'une charge positive, ils sont attirés par la cathode (électrode négative). Ils se déplacent très lentement du fait de la résistance de l'eau et dans l'idéal peu d'entre eux atteignent la cathode. Quand cela se produit, les ions sont neutralisés au contact de cette charge négative et repassent à l'état métallique ; de l'argent se dépose alors sur la cathode qui doit être nettoyée régulièrement.[4][13]

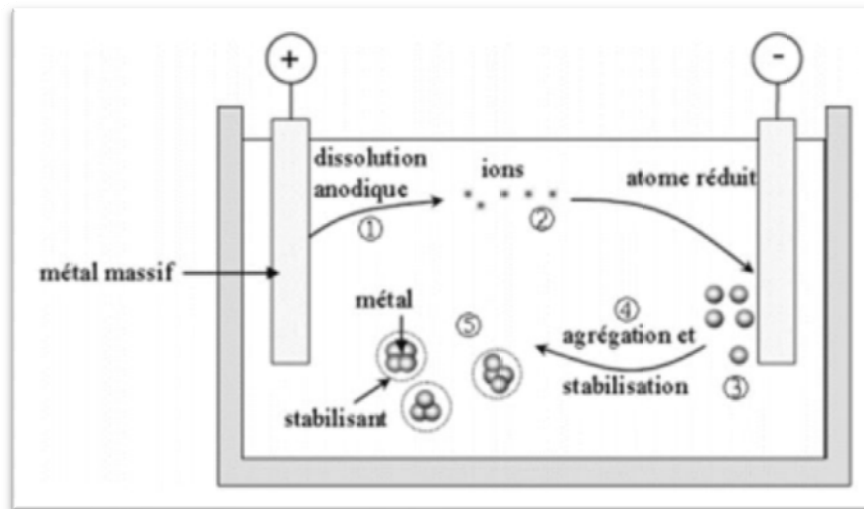


Figure 05 : Formation électrochimique des colloïdes métalliques [4]

Technologie actuelle :

Certains fabricants se sont ingénies, au prix de longs et couteux efforts, a perfectionner le Procédé de base décrit ci-dessus, l'objectif étant d'obtenir des particules les plus fines possibles et une stabilité maximale du produit. Pour cela, il faut parfaitement maitriser divers paramètres, entre autres équilibrer les caractéristiques du courant (voltage, ampérage, wattage) grâce a des circuits électroniques spéciaux. Pour éviter l'encrassement de la cathode, les modèles les plus sophistiqués sont munis d'un système de renversement de polarité ; ainsi, les électrodes sont autonettoyantes [4] .Il existe plusieurs variantes de la méthode électrique :

-Le procédé basse tension courant continu (sigle anglais LVDC) utilise des voltages généralement compris entre 12 et 30 volts. La solution ainsi obtenue contient environ 90 % d'ions argent et 10 % de particules d'argent métallique.[4][12][13]

-Le procédé haute tension courant alternatif (sigle anglais HVAC) permet de faire passer 170 volts au niveau des électrodes. La solution ainsi obtenue contient environ 80 % d'ions argent et 20 % de particules d'argent métallique.[4][12][13]

Des procédés spéciaux utilisent un système HVAC pour produire des solutions qui contiennent 80 % de particules d'argent métallique et seulement 20 % d'ions d'argent. Ces particules sont extrêmement fines (moins de 2 nm en moyenne) et la solution est très stable.[4][12]

I.2.3.4. Méthode biologique :

La synthèse verte des nanoparticules émerge progressivement comme une branche clé de la nanotechnologie dans laquelle les nanoparticules sont produites à l'aide d'entités biologiques, où la paroi cellulaire chargée négativement interagit électro statiquement avec les ions métalliques chargés positivement et bio réduit les ions métalliques en NPs. Cette méthode peut être considérée comme une approche respectueuse de l'environnement et également comme une technique à faible coût à haut rendement, et non toxique, simple, fiable, une densité élevée, la stabilité et la solubilité immédiate des nanoparticules préparées dans l'eau . Par rapport aux méthodes de synthèse chimique et physique qui indiquent une faible biocompatibilité et présentent des risques biologiques latents consomment une énergie importante, nécessitent une pression élevée, coûteuses et ont un faible rendement. [14]

En raison de sa nature relativement polyvalente les extraits de métabolites secondaires collectés à partir des sources biologiques contiennent de nombreuses biomolécules telles que des enzymes, des protéines, des flavonoïdes, des stérols, des triterpènes, des triterpénoïdes et des saponines qu'ils ont des propriétés réductrices et antioxydants responsables de la réduction des composés métalliques dans leurs nanoparticules respectives[14] . Les nanoparticules d'argent peuvent être préparées par les bactéries, les champignons, les extraits de plantes et les biopolymères. L'eau est le plus souvent le solvant de choix pour extraire les agents réducteurs.[6]

Il est significatif que la production de nanoparticules à l'aide de plantes (figure06) présente des avantages importants par rapport à d'autres systèmes biologiques. Le faible coût de culture, le temps de production court, la sécurité et la capacité d'augmenter les volumes de production font des plantes une plate-forme attrayante pour la synthèse de nanoparticule [24] . il a été démontré que le jus d'A. indica peut réduire le nitrate d'argent en nanoparticules sphériques polydispersées d'une taille de 5 à 25 nm (Figure 06) (Figure 07) .[24]

Cependant, par cette approche, il est très difficile de contrôler la composition chimique et la pureté des particules obtenues (figure 08)



Figure06: Plantes utilisées dans la synthèse des nanoparticules d'argent.[6]

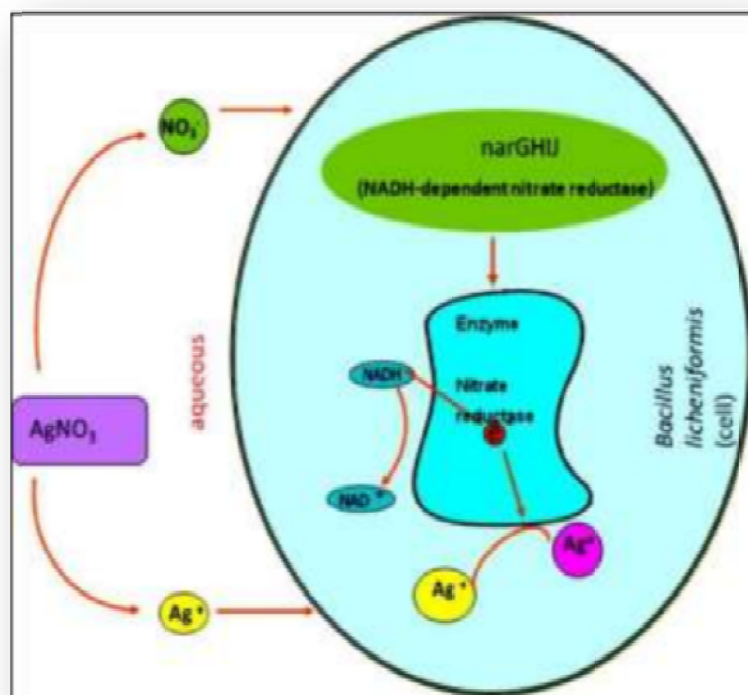


Figure 07 : Mécanisme de la biosynthèse des nanoparticules d'argent à base des bacteries.[16]

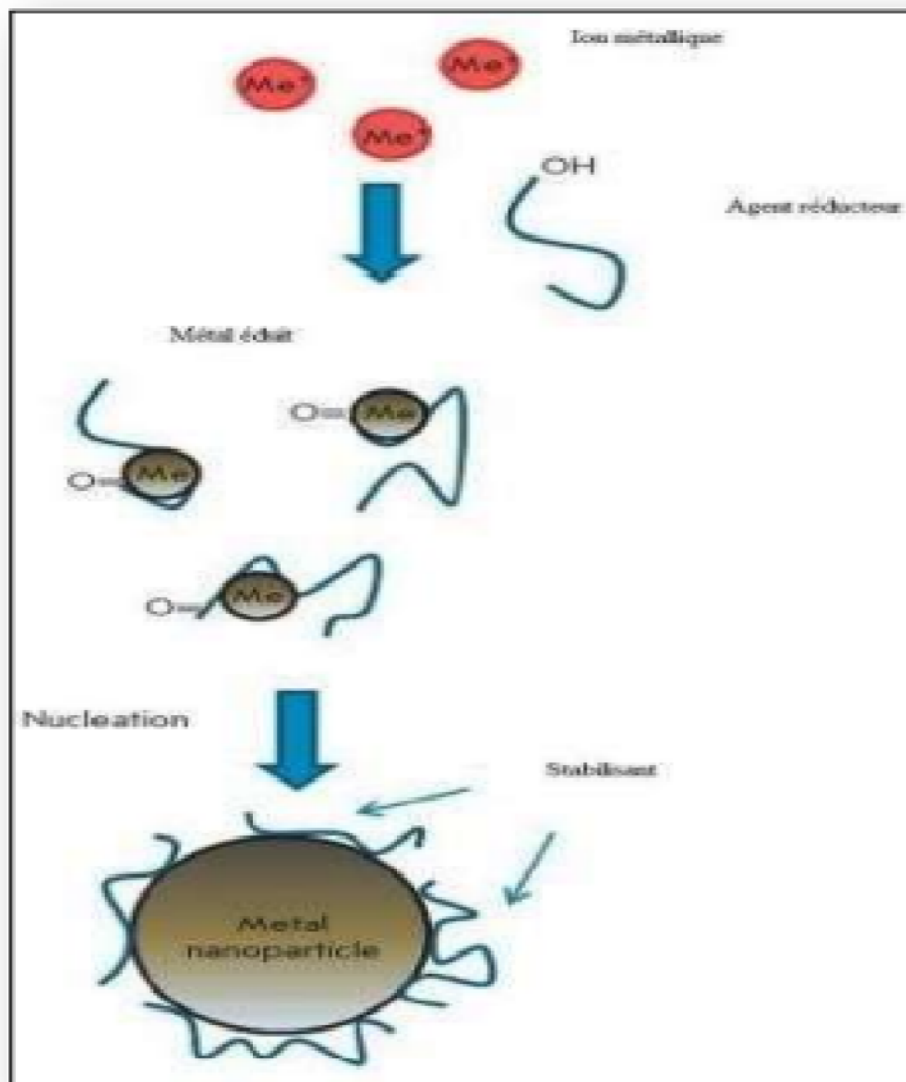


Figure 08 : Représentation schématique du mécanisme de synthèse des nanoparticules métalliques dans un extrait végétal [16]

Tableau 02: Comparaison entre la synthèse biologique et la synthèse chimique.[14]

Synthèse des nanoparticules		
Bottom-up approche		Top-down approche
Méthodes vertes	Méthode chimiques	Méthodes physiques
<ul style="list-style-type: none"> - Utiliser des bactéries - Utiliser des champignons - Utiliser des plants et leurs extraits - Utiliser de la levure - Utiliser d'enzymes et de biomolécules - Utiliser un micro-organisme 	<ul style="list-style-type: none"> - Réduction chimique - Sonochimique - Microémulsion - Photochimique - Electrochimique - Pyrolyse - Four micro-onde - Solvothermal 	<ul style="list-style-type: none"> - Ablation laser pulsée - Evaporation-condensation - Décharge d'arc - Pyrolyse par pulvérisation - Fraisage à billes - Phase vapeur et gaz - Décharge de fil d'impulsion - Lithographie
Non toxique	peut être toxique	

I.2.4. Critères de qualité des solutions d'argent colloïdal:

I.2.4.1. La taille des particules:

Le principal critère de qualité et d'efficacité d'une solution d'argent colloïdal est la taille de ses particules. Il y a une relation étroite entre la taille des particules et l'efficacité du produit.

- Les particules colloïdales doivent être suffisamment fines pour ne pas s'agglutiner entre elles. En effet, au-delà d'une certaine taille, elles sont attirées les unes vers les autres et cherchent à s'unir. Ce phénomène peut alors faire "boule de neige", jusqu'au moment où l'argent précipite et se dépose au fond de la solution sous l'action de la pesanteur. Bien sûr, plus il y a d'argent qui précipite, plus le produit perd de son efficacité.

- Outre le phénomène de précipitation mentionné ci-dessus, la taille des particules détermine aussi leur surface de contact avec les micro-organismes, et celle-ci détermine à son tour une grande partie de la valeur thérapeutique du produit. Plus les particules sont fines, plus leur surface de contact est étendue et plus elles seront à même de pénétrer et de se disperser dans les tissus. En d'autres termes, pour augmenter la capacité germicide d'une quantité d'argent donnée, il faut exposer à l'eau une surface de métal maximum. Ceci s'obtient en fragmentant l'argent en particules les plus fines possibles. Ainsi donc, un produit de haute qualité contiendra un maximum de particules de la taille la plus petite possible. [4][17]

I.2.4.2. La concentration:

La quantité réelle d'argent dans une solution colloïdale se mesure en milligrammes par litre. Dans la pratique, on utilise le plus souvent une mesure équivalente : les parties par million (ppm). Ceci désigne le nombre de parties d'argent (en poids) pour chaque million de parties d'eau. Par exemple, 10 parties par million signifie 10 parties d'argent pour un million de parties d'eau (noté 10 ppm), et équivaut à 10 mg/l.

D'après l'expérience des utilisateurs et des fabricants, et d'après les tests effectués en laboratoire, il a été remarqué que la concentration avait un impact sur l'efficacité de la solution. La plupart des solutions commerciales ont une concentration de 5, 10 ou 20 ppm, de nombreuses études ont été faites avec des concentrations variant entre 3 et plusieurs centaines de PPM. En pratique l'indicateur clef n'est pas tant la concentration de la solution que la dose d'argent total ingérée : une cuillère à soupe d'une solution à 40 PPM est équivalente à 2 cuillères à soupe d'une solution à 20 PPM !

Plus les particules sont petites, plus la solution est efficace, pour une quantité d'argent équivalente. Ingérer, par exemple un morceau d'argent métallique d'un milligramme n'aurait pas beaucoup d'effet. Par contre, si ce milligramme était divisé en un million de particules d'argent, il serait beaucoup plus efficace parce que chaque particule d'argent s'attaque à un micro-organisme pathogène. Donc, à concentration égale, ce produit est un million de fois plus efficace que le précédent. C'est pourquoi il n'est pas nécessaire d'avoir de fortes concentrations si l'argent est divisé en un nombre maximum de particules. En outre, plus la concentration des particules augmentent, plus ces particules vont avoir tendance à s'agglomérer, et finalement à précipiter. Si bien qu'au-delà de 50 ppm, la solution nécessiterait un stabilisant qui en réduirait l'efficacité.[17][4]

I.2.4.3. La qualité de l'eau:

L'argent colloïdal doit être préparé avec une eau de haute qualité (double ou triple distillation ou désionisation). En effet, si l'eau utilisée contient trop de solides dissouts, les ions d'argent produits vont se combiner avec ces solides pour former des sels d'argent potentiellement toxiques. En outre, une telle eau possède une conductivité trop élevée qui engendre la formation de grosses particules. L'eau du robinet, l'eau minérale et même une eau filtrée par osmose inverse sont donc proscrites. Les chercheurs qui ont étudié les propriétés et la structure de l'eau ont

même conclu que l'eau distillée était une eau "morte" et qu'il fallait lui préférer une eau non dénaturée par la chaleur, l'eau désionisée.

I.2.4.4.La qualité des électrodes :

Les électrodes doivent elles aussi être d'un degré de pureté suffisant pour éviter la formation d'ions plus ou moins toxiques. La pureté conseillée est généralement de 99.99 %, mais 99.9 % semble aussi très acceptable.

Au simple fil d'argent, on préférera un ruban dont la largeur peut varier entre 6 mm et 25mm. La densité du courant électrique sera d'un niveau plus faible, ce qui entraîne la production de particules plus fines.

I.2.4.5.La couleur :

Un indicateur simple, mais fondamental, de la qualité d'une solution ionique d'argent colloïdal est la couleur qu'elle présente. En fait, il faudrait plutôt dire l'absence de couleur, puisque les meilleurs produits sont parfaitement incolores. À mesure qu'augmente la concentration et/ou la taille des particules, on voit apparaître une certaine teinte : jaune pâle, puis or, brun, rouge et noir. Le brun, rouge et noir indiquent des produits de qualité inacceptable.

I.2.4.6. Stabilité, conservation :

Au bout d'un temps plus ou moins long, les particules d'argent finissent par perdre leur charge électrique et précipitent. Pour prolonger la durée de vie du produit, il est bon de le conserver dans des récipients en verre. Le plastique réagit avec les particules porteuses d'une charge électrique qui finissent par précipiter. En outre, l'exposition à la lumière dégrade rapidement la solution. Des récipients en verre coloré (brun ou bleu-cobalt) permettent de minimiser ce phénomène. Certains produits de haute qualité revendiquent une durée de vie "illimitée". Cela reste à voir, mais les tests ont montré qu'ils étaient beaucoup moins sensibles aux facteurs ci-dessus et pouvaient se conserver au moins un an ou deux sans perdre d'efficacité.[19][4].

I.2.4.7. Pureté De La Solution :

La pureté de la solution provient de deux facteurs : l'eau et l'argent utilisés. Une eau distillée de grade pharmaceutique aura très peu de PPM en bactéries et autres métaux lourds. Ces

particules nuisent à l'efficacité de l'argent colloïdal. Une eau ultra-pure type I sera d'autant meilleure du fait d'une quasi-absence de bactéries, métaux lourds ou minéraux. De plus, les électrodes d'argent utilisées durant l'électrolyse doivent être les plus pures possibles, le pourcentage de pureté le plus souvent utilisé est de 99.99 %.[18]

I.2.4.8. Ajouts:

L'argent colloïdal ne doit pas contenir d'additifs tels que des protéines d'argent, des stabilisants chimiques (l'EDTA, le PVP, la résine de carbopol etc...) ou tout autre additif chimique qui nuise à sa conservation et biodisponibilité. [18]

I.2.4.9. Conditionnement:

L'argent colloïdal doit être de préférence conditionné dans des bouteilles en verre teinté. Si le conditionnement des produits se fait dans des bouteilles en plastique, ce qui est fréquemment le cas (principalement pour des raisons de transport), la durée de conservation doit être réduite car les charges d'ions d'argent peuvent être diminuées par le plastique.[18].

I.3. L'argent colloïdale : Spectre d'actions, applications:

I.3.1. Spectre d'action :

Les actions potentielles optiques, catalytiques et antibactériennes de l'argent colloïdal le rend très utilisé dans de nombreuses technologies et incorporées dans un large éventail de produits de consommation qui tirent parti de ces propriétés.

I.3. 1.1 Action optique:

Les solutions colloïdales constituées de nanoparticules en solution sont une famille d'objets aux propriétés optiques uniques. Leur utilisation comme élément de base à la fabrication de composants optiques sur longueur d'onde pourrait permettre la naissance de nouvelles applications en particulier dans le domaine de l'optique intégrée et de la détection biologique [19]. Sont utilisées aussi pour récolter efficacement la lumière et améliorer les spectroscopies optiques, y compris la fluorescence par le métal (MEF) et la diffusion Raman par la surface [6] La manipulation de ces particules reste toutefois un défi en raison de leur taille et de leur dispersion aléatoire dans un milieu liquide.[22]

I.3.1.2 Action catalytique:

. La catalyse consiste à rendre possible une réaction énergétiquement impossible ou en favoriser une plutôt qu'une autre. Omniprésente, elle nécessite le développement de catalyseurs toujours plus performants et moins coûteux. Les nanoparticules, qui offrent une très grande surface d'échange catalytiquement active, intéressent particulièrement les scientifiques. [23]

I.3.1.3 Action antimicrobienne:

a. Bactérie:

Le Dr Larry C. Ford (Université de Californie, Los Angeles) a répertorié environ 650 pathogènes sensibles à l'argent colloïdal. Les bactéries résistantes à certains antibiotiques ne le seraient pas en présence de l'argent colloïdal.

Une étude de l'Université d'Adélaïde (Australie), publiée en 2014, a montré que l'argent colloïdal atténue les biofilms (couche mince de micro-organismes adhérents à une surface) de staphylocoque doré.[11].

Pour donner un aperçu de la diversité des bactéries pathogènes combattues par l'argent colloïdal, et pour mettre en exergue une seule des études l'ayant démontré, le docteur Ron Leavitt, professeur de biologie moléculaire à l'université *Brigham Young* de Provo (Utah) a cliniquement validé l'action antibactérienne de solutions d'argent colloïdal à des concentrations variant entre 5 ppm et 20 ppm. L'efficacité de cet argent colloïdal a été démontrée par lui sur les germes suivants, en précisant, pour chacun, les infections qu'ils provoquent:

- *Staphylococcus aureus*

- Pneumonie.
- Méningite.
- infection : des yeux de la peau.

- *Salmonella tyhirum*

- Gastro-entérite.

- *Escherichia coli*.

- Infection : urinaire des voies respiratoires .

• *Haemophilus influenza.*

- Grippe.
- Méningite.
- Otite.
- Pneumonie.
- Infection de la gorge et des sinus.

• *Enterobacter cloacae*

- Infection de la peau et des voies urinaires

• *Shigella boydii.*

la peau • des voies urinaires.

- Dysenterie.

• *Streptococcus pneumoniae*

- Pneumonie.
- Méningite.
- Otite.
- Sinusite.

• *Streptococcus pyogenes.*

- Infection de la peau et des voies respiratoires supérieures

• *Streptococcus faecalis*

- Infection intestinale et des voies urinaires.

• *Streptococcus mutans*

- Carie dentaire
- Gingivite
- Stomatite
- Glossite.[11][7]

b. Champignons:

Les AgNPs ont une puissante activité antifongique contre *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida cruzi* et *Trichophyton mentagrophytes* en inhibant la germination des conidies *Bipolaris sorokiniana*. Par exemple, l'activité antifongique des AgNPs contre *C. albicans* peut être exercée en perturbant la structure de la membrane cellulaire et en inhibant le processus de bourgeonnement normal en raison de la perturbation de l'intégrité de la membrane [5][55].

c. Virus :

L'argent colloïdal pourrait « gérer » environ 24 virus. Sans aller ici dans les détails l'argent oligodynamique peut lui s'attaquer à environ 200 virus ! Citons en exemple le virus de la grippe, le *H5N1*, le *SRAS*, *H1N1*, *Coliphages MS-2* ... Des scientifiques se sont également préoccupés du *VIH*, *Malaria*, *Hépatite B*. C'est aussi une piste pour certains cancers. Le chercheur Dr Gary Smith a remarqué que les cellules cancéreuses se développent dans un organisme en carence en argent. Quand l'argent est présent, les cellules cancéreuses cessent de se développer et le corps guérit.[20][5]

d. Parasites :

- Oeufs d'helminthes, *Giardia sp*, oeufs de *Cryptosporidium sp* [5].

Une action anti-inflammatoire:

L'argent colloïdal aurait démontré son utilité pour apaiser les inflammations (rougeurs, sensation de chaleur, douleurs localisées, etc.), Il soulage la douleur et l'inconfort résultant du gonflement et de l'inflammation et accélère le processus de guérison.

Une action sur les affections oculaires :

L'argent colloïdal apaise et guérit les affections oculaires telles que la conjonctivite en raison de ses propriétés antivirales, antibactériennes et anti-inflammatoires.[11]

Les bienfaits pour les maladies de peau:

Grâce à son action antifongique et cicatrisante, l'argent colloïdal serait utile pour soulager et apaiser les brûlures ou encore les affections cutanées (eczéma, psoriasis, mycose, etc.).

En effet, il stimulerait la régénération de la peau et des tissus mous, c'est en 2008 qu'une étude de l'Université d'Alberta (Canada) a montré des résultats encourageants sur les bienfaits de l'argent colloïdal sur une dermatite porcine.

La peau enflammée a été traitée quotidiennement avec des pansements d'argent nanocristallin. La peau a retrouvé son aspect normal au bout de 72 heures.

L'étude de l'Université Griffith (Australie) publiée en 2012 a mis en évidence une action antiseptique intéressante pour le traitement des brûlures et des mycoses. L'étude a été effectuée sur 12 préparations du commerce. Cependant, cette étude a aussi démontré que toutes les préparations commercialisées ne présentaient pas les mêmes effets. [11]

I.3.2. Les Applications de l'argent colloïdale:

Les utilisations pratiques de l'argent colloïdal sont si nombreuses que leur seule limite semble être celle de l'imagination (Figure 09).[4]

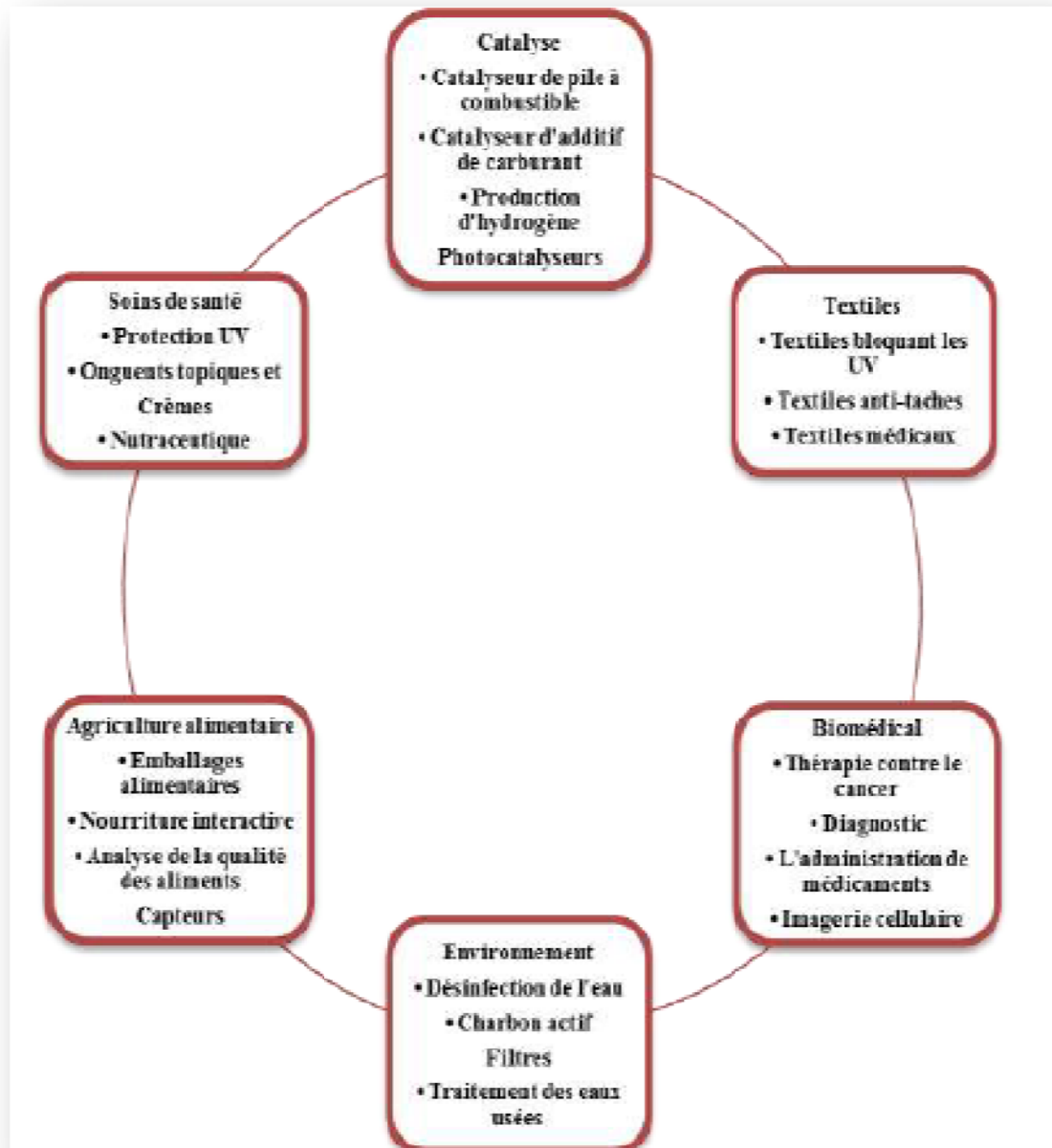


Figure 09: Les Applications des AgNPs [16]

I.3.Généralités sur bactéries, champignon et insecte:

I.3.1.Les bactéries:

I.3.1.1. Introduction:

Les bactéries (*Bacteria*) sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisées par une absence de noyau et d'organites. La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique, le peptidoglycane. Les bactéries mesurent quelques micromètres de long et peuvent présenter différentes formes : des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées. On distingue les bactéries à Gram positif et à Gram négatif sur une différence de composition pariétale. La paroi des bactéries Gram positif est riche en acide teichoïque et en acide diaminopimélique qui sont absents ou moins abondants chez les Gram négatif, lesquelles ont une paroi plus riche en lipides.[25]

J'ai étudié 5 souches bactériennes qui sont : *E.coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

I.3.1.2. *Escherichia coli* :

I.3.1.2.1. Généralité:

En 1885, l'allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*, bactérie isolée à partir de selles de nourrissons, qu'il nomma tout d'abord *Bacterium coli* commune. Ce n'est que 70 ans plus tard que le nom de *Escherichia coli* (*E. coli*) est réellement retenu en hommage aux travaux de T. Escherich.(figure10)[28]

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie que l'on trouve couramment dans le tube digestif de l'être humain et des organismes à sang chaud. La plupart des souches sont inoffensives. Certaines en revanche peuvent provoquer une intoxication alimentaire grave.[30]

La bactérie *E. coli* est devenue indispensable aux laboratoires. Elle est très facile à transformer en lui ajoutant des morceaux d'ADN que l'on souhaite cloner. Elle permet aussi d'exprimer des protéines en grandes quantités. Mais en plus d'être un outil, *E. coli* est aussi

l'objet d'études qui permettent de mieux comprendre le fonctionnement des bactéries en général.[30]



Figure10: Escherichia coli sous microscope électronique [29]

I.3.1.2.2. Classification :

Tableau03 : La classification d'*Escherichia coli* [52]

Règne	<i>Bactéria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>Escherichia.coli</i>

I.3.1.2.3. Caractéristiques :

Escherichia coli entérotoxigène (ECET) appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* . Il s'agit d'un bacille Gram négatif, en forme de bâtonnet, sporulé, qui peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches ou être non mobile. Les bactéries se développent sur gélose Mac Conkey (les colonies, rouges ou incolores, atteignent un diamètre de 2 à 3 mm) . Elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies , et produisent deux types d'entérotoxines : des entérotoxines thermolabiles (LT) et des entérotoxines thermostables (ST).[27][51]

I.3.1.2.4. Caractères culturels :

Aéro-anaérobies facultatifs Culture facile sur milieux ordinaires, lactosés. Sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Pousse sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey, Drigalski. [27][31]

I.3.1.2.5. Caractères biochimiques :

E. coli possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces dernières permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. [27][31]

-Ces caractères sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Les caractères biochimiques d'*Escherichia coli* [27]

Test	GLU	LAC	H ₂ S	GAZ	CS	ONPG	GEL	MAL	NIT	LDC	ODC	ADH	URE	TDA	IND	RM	VP	ESC
Résultat	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+	-	-

Légende : + : caractère positif - : caractère négatif +/- : caractère inconstant

I.3.1.2.6 .Le pouvoir pathogène:

Son réservoir naturel est l'homme et tous les animaux à sang chaud. *Escherichia coli*, fait partie de la flore commensale. Il représente 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte, et on le retrouve aussi au niveau de différentes muqueuses. De simple bactérie commensale, *Escherichia coli* peut aussi devenir un agent pathogène responsable de différents types d'infections : infections urinaires, diarrhées, cholécystites. Il peut aussi être impliqué dans des infections nosocomiales. La transmission peut se faire par contact direct ou via des contaminations fécales.[31]

I.3.1.3. *Listeria monocytogenes*:

I.3.1.3.1. Généralité:

En 1926, la bactérie *Listeria monocytogenes* est décrite chez des animaux, puis elle est rapidement associée à des infections humaines. En 1940, ce nom de *Listeria monocytogenes* est proposé à la nomenclature. D'autres espèces sont progressivement décrites et l'hétérogénéité génomique du genre *Listeria* est prouvé. Ce genre appartient au groupe des bactéries à Gram positif présentant un GC% inférieur à 50. *Listeria monocytogenes* est une bactérie présente naturellement dans l'environnement et dans certains aliments consommés par l'homme. Elle est responsable d'une maladie touchant l'Homme et les animaux (zoonose) appelée la listériose (Figure.11).[35][33][34]

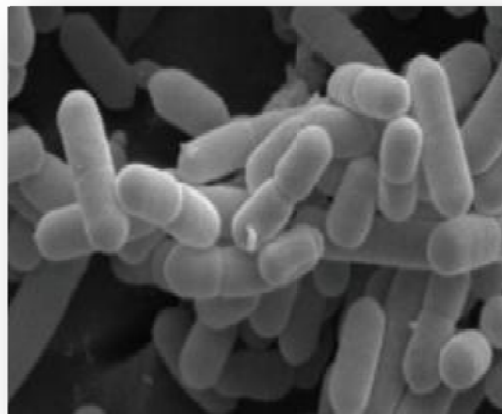


Figure.11: *Listeria monocytogenes* sous microscopie à balayage électronique [62]

I.3.1.3.2. Classification :**Tableau05** : La classification de *Listeria monocytogenes* [73]

Régne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Eubacteria</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Listeriaceae</i>
Genre	<i>Listeria</i>
Espèce	<i>Listeria monocytogenes</i>

I.3.1.3.3. caractéristiques :

Listeria est un petit bacille (0,5 - 2 µm x 0,5 µm), Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile à 20-25[33]. Sa mobilité, est assurée par une ciliature péritriche lui donnant des mouvements en "pirouette" reconnaissable à l'état frais.[36]

I.3.1. 3.4. Caractères cultureux :

Cette bactérie est aérobie-anaérobie facultative et n'est pas exigeante. Les milieux de culture sont habituellement incubés en aérobie, la croissance sous CO₂ (5 à 10%) est possible. Sa croissance est stimulée par l'addition de glucose ou de sang. Sa température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C, mais la croissance paraît démontrée de -2 à +45°C. Les bactéries survivent à la congélation. Le pH optimal de sa croissance est de 7 ou légèrement alcalin. *Listeria monocytogenes* présente une halotolérance et peut croître en présence de 10% de NaCl. Certaines souches tolèrent des concentrations en sel supérieures à 10%. En clinique humaine, les prélèvements sont souvent isolés sur gélose au sang à 5% (sang de cheval ou mouton).

Les colonies sont circulaires, d'environ 1 à 1,5 mm de diamètre après 24H. d'incubation sur gélose au sang et une étroite zone d'hémolyse totale (bêta-hémolyse) est visible en périphérie des colonies (zone d'hémolyse qui n'est parfois observable que sous les colonies). L'isolement de *Listeria monocytogenes* est parfois réalisé sur milieux sélectifs comme la gélose au sang + acide nalidixique (inhibant des bacilles à Gram négatif) quand la recherche est effectuée à partir

d'un prélèvement plurimicrobien. D'autres milieux de culture sélectifs sont utilisés dans l'agro-alimentaire. [34]

I.3.1.3.5. Caractères biochimiques :

Le genre *Listeria* est un petit bacille à Gram positif possédant une catalase et ne possédant pas d'oxydase. L'identification peut être effectuée par exemple sur galerie Api *Listeria* bio Mérieux. Sur cette galerie, cette bactérie donne les résultats suivants : hydrolyse de l'esculine, présence d'une alpha-mannosidase, acidification du D-arabitol, du L-rhamnose, du méthyl- alpha D- glucopyranoside, mais pas d'acidification du D-xylose, du D-ribose, du glucose-1-phosphate, du D-tagatose. Le caractère DIM est négatif pour *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes* ne produit pas d'indole, ni d'H₂S et ne possède pas de nitrate réductase, ni d'uréase, ni de gélatinase.

I.3.1.3.6 Le pouvoir pathogène:

Les génomes de *Listeria monocytogenes* a été entièrement séquencés. Tout un arsenal génétique lui permet d'entrer dans les cellules intestinales, d'où elle va progresser dans les tissus de l'hôte en y déterminant des lésions. Une protéine de sa surface, l'internaline, se lie à un récepteur, la E-cadhérine, qui lui permet d'entrer dans une cellule de la muqueuse intestinale où ce récepteur est exprimé. La bactérie va alors activer une batterie de gènes de virulence lui permettant de lyser la vacuole dans laquelle elle a été introduite. Entrée ainsi dans le cytoplasme, elle induit la polymérisation de l'actine cellulaire qui, formant des filaments à un pôle de la bactérie, provoque son déplacement intra cytoplasmique. Progressant ainsi dans sa cellule hôte, la bactérie atteint et traverse la membrane cellulaire, et va ensuite envahir les cellules voisines. Les principales molécules impliquées dans ces mécanismes sont la listériolysine (codée par le gène *hly*) qui provoque la lyse vacuolaire, et la protéine ActA (gène *actA*) qui induit la polymérisation de l'actine. . Ce « voyage intracellulaire » de *Listeria monocytogenes* est sous le contrôle d'un régulateur positif appelé prfA, pour positive regulatory factor A. [74]

I.3.1.4. *Enterobacter cloacae* :

I.3.1.4.1. Généralité :

Enterobacter cloacae , espèce retrouvée dans l'environnement, est un germe commensal chez l'homme présent au niveau du tractus digestif. Capable de passer de l'état commensal à celui de pathogène opportuniste, il a pris une importance croissante du fait de son implication dans les infections des services de soins intensifs (prévalence de 5–10 %). L'espèce a été subdivisée en 13 clusters définis à partir des gènes *rpoB* ou *hsp60* dont six avec un nom d'espèce (*E. asburiae*, *E. kobei*, *E. cloacae*, *E. ludwigii*, *E. hormaechei* et *E. nimipressuralis*). Trois clusters (III, VI et VIII) sont fréquemment retrouvés parmi les souches cliniques responsables d'infections et d'épidémies hospitalières. Le principal problème en pratique clinique réside dans la diffusion de souches d'ECC multi-résistantes aux antibiotiques. (Figure 12) [37]



Figure 12: *Enterobacter cloacae* sous microscopie à balayage électronique [75]

I.3.1.4.2. Classification:Tableau 06 : La classification d'*Enterobacter cloacae* [40]

Régne	<i>Bacteria</i>
Embrevement	<i>Pseudomonadota</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacterales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Enterobacter</i>
Espèce	<i>Enterobacter cloacae</i>

I.3.1.4.3. Caractéristiques:

Les espèces du genre *Enterobacter* font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles Gram négatif anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur non sporulés; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche et sont dotés de pilus de classe 1. [38][51]

I.3.1.4.4. Caractères cultureux :

Le genre *Enterobacter* se développe facilement sur les milieux usuels non enrichis comme la gélose ordinaire coulée en boîte de pétri en 24h à pH neutre et à une température optimale de croissance de 37°C c'est-à-dire des germes mésophiles, aéro-anaérobies facultatifs, ne sont pas pigmentées et ont un aspect classique des colonies d'entérobactéries (des colonies lisses, brillantes, bombées et humides de structures homogènes)[38][39].

I.3.1.4.5. Caractères biochimiques :

Oxydase -, catalase + Nitratase +, glucose +, lactose +, H₂S -, ONPG +, citrate +, indole -, VP +, ODC +, LDC -, ADH +, gélatinase -, Sorbitol +, rhamnose +, melibiose +, saccharose +. Esculine et uréase permettent d'individualiser 2 sous espèces : *cloacae* et *dissolvens* (tableau 07).[38]

Tableau 07:Caractères biochimique d'identification des espèces du genre *Enterobacter* [38]

	LDC	ADH	URÉE	ESC	GEL	βXYL	INO	SOR	SAC	RAF	MEL
<i>E. cloacae</i>	-	+	-	-	v	+	(-)	+	+	(+)	+
<i>subsp cloacae</i>											
<i>E. cloacae subsp dissolvens</i>	-	+	+ f	+	v	+	v	+	+	+	+
<i>E. asburiae</i>	-	v	+/-	+	-	+	-	+	+	(+)	v
<i>E. cancerogenus</i>	-	+	-	+	+*	-	-	v	-	-	-
<i>E. hormaechei</i>	-	v	(+)	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>E. kobei</i>	-	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. nimipressuralis</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>E. aerogenes</i>	+	-	-	-	v	+	+	+	+	+	+
<i>E. amnigenus 1</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+
<i>E. amnigenus 2</i>	-	v	-	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. cowanii</i>	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. gergoviae</i>	v	-	+f	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. ludwigii</i>	-	+	-	-v	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. pyrinus</i>			+	+	-		+	-	+	-	+
<i>E. radicintans</i>	-	+	-	+			-	+	+		-
<i>E. sakazakii</i> °	-	+	-	+	(+)	+	v	-	+	v+	+

+/- variable en fonction des méthodes ; () généralement ; v variable ; f faible * à 27°C° *E. sakazakii* donne des colonies pigmentées en jaune (sorbitol -). *E. asburiae* est très proche de *E. cloacae* : immobile, souvent VP-, indol -, sorbitol +, saccharose +, mélibiose -, ADH-, rhamnose-.

I.3.1.4.6. Le pouvoir pathogène:

Le genre *Enterobacter* a pris une importance croissante du fait de son implication dans les infections nosocomiales. C'est un pathogène opportuniste responsable d' :infection urinaire bactériémie ,infection respiratoire suppurations diverses. infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à *Bacillus cereus*.Des septicémies dues à la contamination de préparations pour nutrition parentérale conservées au réfrigérateur ont été décrites.[38].

I.3.1.5 .*Pseudomonas aeruginosa* :

I.3.1.5.1. Généralité :

Pseudomonas aeruginosa (couleur vert-de-gris) ou bacille pyocyanique a été découvert par Gessard en 1882. Au cours de la 1ère guerre mondiale, l'agent du "pus bleu" est à l'origine de la surinfection de plaies chez les soldats. Mais c'est surtout dans les années 1960-70, parallèlement

au développement de l'hospitalisation et des techniques invasives d'exploration, que cette bactérie à Gram négatif émerge comme un agent pathogène majeur de l'Homme. C'est l'exemple-type des bactéries nosocomiales opportunistes. C'est la bactérie commensale de la peau et des muqueuses dont la niche principale est la fosse nasale. La colonisation est définie comme le portage asymptomatique de la bactérie et concerne environ 30 à 50% de la population générale au niveau nasal .D'autres sites peuvent également être colonisés par *S. aureus* tels que le pharynx, l'intestin, la peau et les aisselles. Si l'Homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surface, aliments) et chez l'animal, notamment d'élevage (Figure 13) [41][42] .

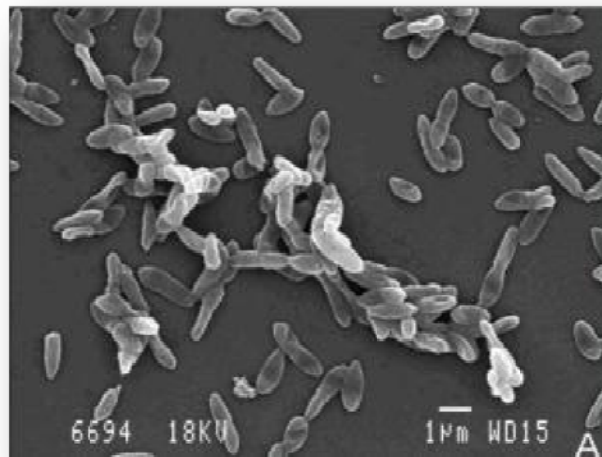


Figure 13: Images de *P. aeruginosa* fixées sur du verre, par microscopie à balayage électronique.[53]

I.3.1.5.2. Classification:

Tableau 08: La classification de *Pseudomonas aeruginosa*. [42]

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>g-Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

I.3.1.5.3. Caractéristiques:

Ce sont des bacilles fins à Gram -, non capsulés, mobiles. Au contraste de phase le déplacement des bacilles s'effectue plutôt en ligne droite. [42]

I.3.1.5.4 Caractères cultureux :

Pas d'exigence nutritive particulière : la pousse est possible sur des milieux non enrichis. L'isolement à partir de prélèvements plurimicrobiens peut être facilité par l'utilisation de milieux sélectifs disponibles dans le commerce ou par l'incubation des milieux à 41°C. et prenant un aspect irisé métallique avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce : il est dû à la combinaison de pyoverdine (pigment jaune vert fluorescent commun aux espèces du groupe fluorescent) et à la pyocyanine (pigment bleu spécifique de *P. aeruginosa*). Une odeur aromatique de type seringa est souvent présente.[42]

I.3.1.5.5. Caractères biochimiques:

L'aspect irisé des colonies et le pigment vert orienteront très vite le diagnostic. La confirmation pourra être apportée de façon minimum par : - le caractère mobile et gram- des bacilles - le caractère aérobic strict - une oxydase positive violente (sauf pour les colonies muqueuses) - la pousse à 41°C - la résistance à la kanamycine. Pour les souches atypiques quant à leurs caractères cultureux, la réalisation d'une identification biochimique pourra être lancée à l'aide de galeries : les caractères principaux sont la production d'une arginine dihydrolase, gélatinase, nitrate réductase et l'assimilation de certains hydrates de carbone comme le glucose.[42].

I.3.1.5.6. Le pouvoir pathogène:

P. aeruginosa est une espèce classée dans les pathogènes opportunistes. Les infections pourront avoir une origine endogène ou exogène. Dans les infections communautaires, elle est responsable principalement de broncho-pneumopathies évoluant sur un mode chronique dans la mucoviscidose et les affections respiratoires dues à la dilatation des bronches ; d'otites externes, d'endophtalmies après traumatisme, d'infections cutanées dans les ulcères. Dans les infections nosocomiales, elle est impliquée dans les pneumopathies chez les malades sous respirateur, les infections urinaires chez les malades sondés, les infections cutanées secondaires à des brûlures, les infections ostéo-articulaires sur matériel [42].

I.3.1.6 *Staphylococcus aureus* :

I.3.1.6.1. Généralité :

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital (infections dites communautaires). Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés). Les traitements visant à éradiquer les infections sont difficiles car de nombreuses souches sont multirésistantes aux antibiotiques. Selon les services hospitaliers, ces dernières représentent entre 20 et 50% des souches. (Figure 14) [43][48][49]

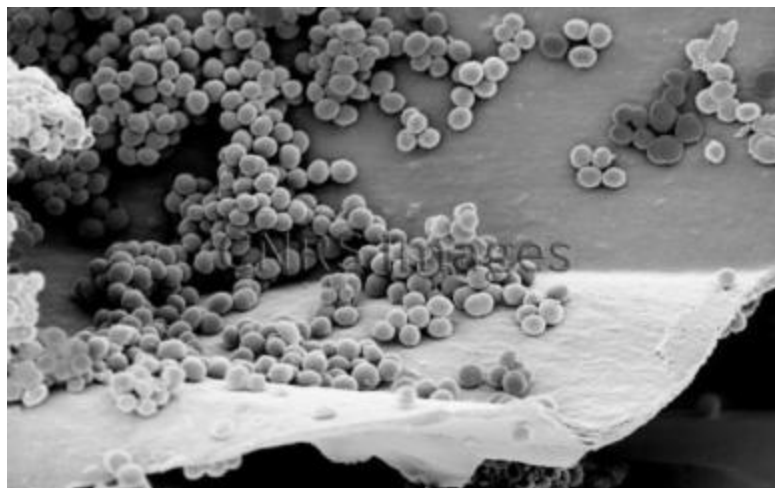


Figure 14: Prise de vue au microscope électronique à balayage d'un biofilm de "*Staphylococcus aureus*" développé [54]

I.3.1.6.2. Classification:Tableau 09 : La classification de *Staphylococcus aureus* [44][46]

Règne	<i>Bacteria</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Caryophanales</i>
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

I.3.1.6.3. Caractéristiques:

S. aureus est un coque à coloration de Gram positive. en amas, immobiles. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. *S. aureus*, espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré, produit de nombreuses toxines dont les SE, produites par certains *S. aureus* (ceux portant les gènes de ces toxines) et qui sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie. À ce jour, 21 sérotypes différents [47][45]

I.3.1.6. 4. Caractères cultureux :

Comme tous les Staphylocoques, cette espèce n'a pas d'exigence nutritive particulière. Son métabolisme respiratoire est aérobie-anaérobie facultatif. Les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées, pouvant être pigmentées en jaune orangé, en 18 heures, à 37°C. Une hémolyse de type β est généralement présente sur gélose au sang de mouton. Sur le milieu de Chapman, les colonies sont mannitol +.

I.3.1.6.5. Caractères biochimiques:

S. aureus est catalase +, oxydase -. Les Staphylocoques sont rapidement différenciés des Microcoques et apparentés par leur sensibilité aux furanes. L'identification de *S. aureus* peut être réalisée sur quelques tests unitaires : coagulase libre, Dnase, agglutination mettant en évidence la coagulase liée et la protéine A, résistance à la polymyxine B, fermentation du mannitol.[47][51]

I.3.1.6.6. Le pouvoir pathogène:

Son réservoir naturel est l'homme. *Staphylococcus aureus* est très fréquent à l'état commensal et pathogène. En effet, très rapidement après la naissance, il colonise la peau, le tube digestif et la région périnéale des nouveaux nés. Il est également très présent au niveau des fosses nasales et des mains. Mais il peut devenir pathogène et être responsable d'infections cutanées:[50].

S. aureus est responsable de très nombreuses infections qui sont de deux types :

- **les infections suppuratives** à différents niveaux : peau, tissus mous, muscle, os, tractus respiratoire, valve cardiaque, tractus urinaire après manœuvre instrumentale..., et également infections sur matériel étranger. Ces infections suppuratives peuvent évoluer vers des états septicémiques.

- **les toxi-infections** dues à la synthèse de différentes toxines par certaines souches :

- TSST1 exotoxine, superantigénique responsable du choc toxique staphylococcique. Devant un tel choc il est important de rechercher *Staphylococcus aureus* au niveau cutané .Certaines souches peuvent être méticilline R
- exfoliatine ou épidermolysine responsable du syndrome de la peau ébouillantée ou syndrome de Ritter.L'impétigo et le pemphigus sont des formes mineures localisées du syndrome.
- entérotoxines responsables de toxi-infections alimentaires (toxine préformée dans l'aliment, incubation très courte) ou d'entéocolites suite à la sélection d'une souche productrice d'entérotoxines par l'antibiothérapie
- - leucocidine de Panton-Valentine (LPV), responsable d'infections nécrosantes : lésions dermonécrotiques, pneumopathies nécrosantes communautaires chez les sujets jeunes immunocompétents d'évolution sévère (75% de mortalité). Ces souches productrices de LPV sont plus fréquemment isolées en Afrique (30% de souches), qu'en Europe (moins de 5%)

Les infections à *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) occupent une place prépondérante dans les infections nosocomiales et font l'objet aujourd'hui de mesures standardisées de détection des porteurs et de prévention.[47][26][50].

I.3.2.Les champignons :

I.3.2.1.Introduction :

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique. Certaines vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont Des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres enfin sont des saprophytes se Développant aux dépens de substrats inertes ou en voie de décomposition ; L'Aspergillus est un champignon filamenteux (ou moisissure) qui se Développe par un système De filaments ou hyphes présent dans les moisissures,.[60][59]

I.3.2.2. *Aspergillus niger*:

I.3.2.2.1.Généralité :

L'Aspergillus niger ou l'aspergille noir, est un champignon filamenteux ascomycète .De L'ordre des eurotiales. C'est une des espèces les plus communes du genre *Aspergillus* qui Apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes [60]

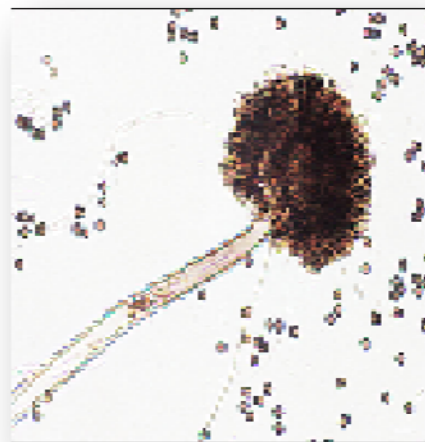
L'aspergillus se retrouve dans le sol, les céréales, les aliments et le compost en de composition .. Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses responsable de mycoses pulmonaires; *Aspergillus niger* responsable d'aspergillose [59]

I.3.2.2.2. Classification :Tableau 10 : La classification d'*Aspergillus niger* [76]

Règne	<i>Mycètes</i>
Embranchement	<i>Amastigomycota</i>
Sous-embranchement	<i>Deuteromycotina</i>
Classe	<i>Deutoromycètes</i>
Ordre	<i>Moniliales</i>
Famille	<i>Moniliaceae</i>
Genre	<i>Aspergillus</i>
Espèce	<i>Aspergillus niger</i>

I.3.2.2.3. Caractéristiques:

Sous microscopie parait avec têtes conidiennes brun foncé à noires, radiées à l'état jeune puis se séparant en colonnes plus ou moins bien définies à maturité, et pouvant atteindre un diamètre de 700 à 800 µm. -Conidiophore lisse, de 1,5 à 3 mm de long, hyalin ou brunâtre dans leur moitié supérieure. Vésicule globuleuse de 50 à 100 µm, supportant deux séries de stérigmates sur toute sa surface. Phialides 7-9,5 x 3-4 µm formées sur des mutules généralement brunes 20-30 x 5-6 µm, fréquemment septes. -Conidies brunes globuleuses et ornementées (échenillées à très verruqueuses), 3,5-5 µm. les caractères Morphologique (figure15).[60]

**figure15:** Aspect microscopique et macroscopique d *Aspergillus niger* [77]

I.3.2.2.4. Caractères culturels :

La culture permet l'identification précise du genre et de l'espèce du champignon. Elle est réalisée sur milieu fongique spécifique coulé dans une boîte de Pétri ou en tube. Les milieux que l'on utilise classiquement sont ceux de Sabouraud Dextrose Agar. On peut y ajouter des antibiotiques comme le chloramphénicol ou la gentamycine, ce qui permet de limiter les proliférations bactériennes, surtout pour les prélèvements potentiellement multi-contaminés. Par contre, il faut éviter l'utilisation d'actidione dans le milieu de Sabouraud car elle inhibe la croissance des *Aspergillus*. Le milieu de Czapek est également utilisé, en deuxième intention, car il permet d'étudier la macroscopie et la vitesse de croissance. Enfin le milieu à l'extrait de malt peut aussi être utile, notamment car il permet un examen microscopique optimal grâce à l'apparition de fructifications abondantes. Les géloses sont ensuite placées à l'étuve et incubées à 37°C. Les *Aspergillus* se développent en moyenne en 2 à 5 jours à cette température. L'aspect macroscopique est ras à poudreux, velouté parfois cotonneux, et de couleur variée selon les espèces [61][62]

I.3.3. Le parasite *Tribolium castaneum* :

de nombreuses espèces d'insectes sont des déprédateurs des céréales et s'attaquent aux divers stades de croissance de la plante. Ils représentent une contrainte majeure suite aux dégâts qu'ils occasionnent. Les principales espèces d'insectes ravageurs sont d'ordre des :

- *Orthoptères* tel que le *criquet pèlerin*
- *Lépidoptères* tel que la *pyrale de la farine*
- *Coléoptères* tel que le *charançon et le tribolium*.
- *Diptères* tel que les *mineuses*
- *Hémiptères* tel que les *puçerons et la punaise des vertes des céréales*.

Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'effet de l'argent colloïdale sur un insecte coléoptère qui cause actuellement des dégâts considérables au niveau des sillons de stockage des céréales, il s'agit de l'espèce *Tribolium castaneum*. [63][64]

I.3.3.1. Généralités :

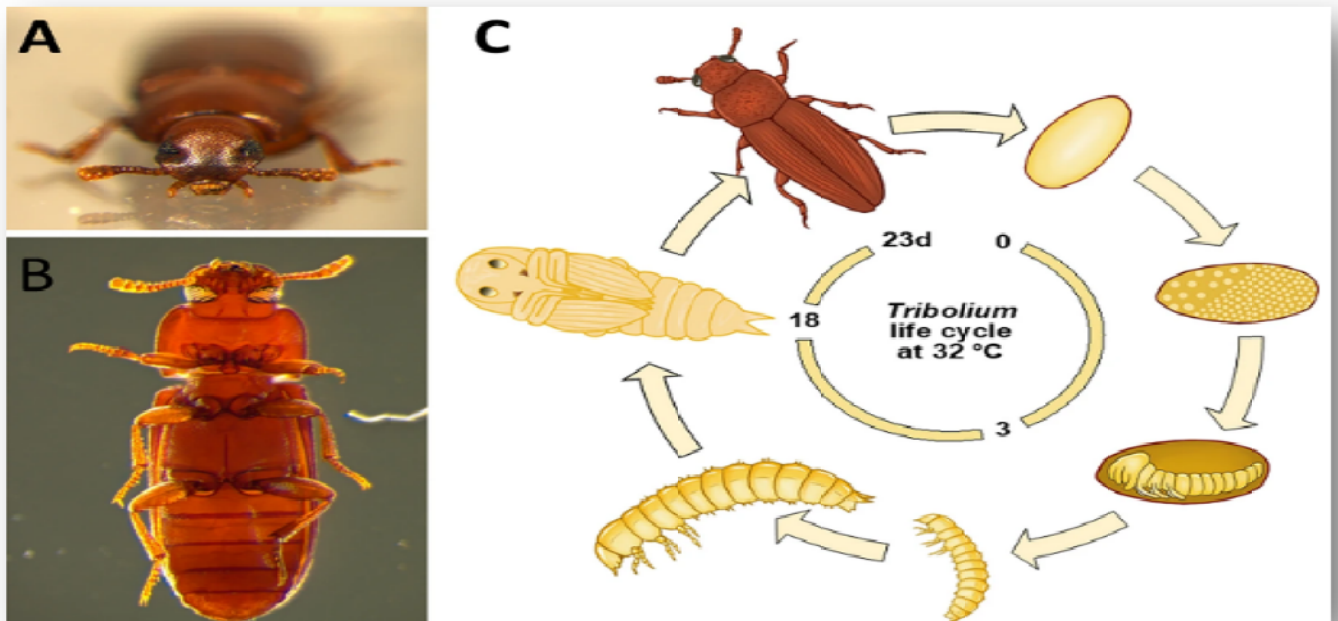
C'est un insecte appartenant à la famille des *Ténébrionidae*. L'adulte mesure de 3 à 4mm, de couleur uniformément brun rougeâtre, et étroit, allongé, à bord parallèles à pronotum presque aussi large que les élytres et non rebordé antérieurement.

I.3.3.2. Classification :Tableau 11:La classification de *T.castaneum* [63]

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Ordre	<i>Coleoptera</i>
Famille	<i>Tenebrionidae</i>
Genre	<i>Tribolium</i>
Espèce	<i>Tribolium castaneum</i>

I.3.3.3. Cycle de développement :

La longévité de l'insecte est de 2 à 8 mois selon les conditions abiotiques. La femelle dépose ses œufs en vrac sur les graines. Les larves sont mobiles et se nourrissent, d'une teinte blanche avec du jaune et passent par 5 à 11 mues. A la fin du dernier stade larvaire, les larves s'immobilisent, cessent de se nourrir et se transforment en nymphes blanchâtres et immobiles. L'adulte émerge de la nymphe six jours après sa formation. C'est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32 c° et 33c°, et résiste très bien aux basses hygrométries. La durée du cycle dure environ un mois (figure16).[74]



Le cycle de vie de *T. castaneum*. Un face à face avec un *Tribolium castaneum* de type sauvage. B Vue ventrale d'un mâle sous éclairage sur fond noir. Les yeux blancs (mutant vermillon) permettent une détection sensible des marqueurs oculaires transgéniques. La taille d'un coléoptère adulte est de 3,5 mm (longueur). C Cycle de vie du *Tribolium* : les œufs sont pondus dans le substrat (farine) et le développement embryonnaire dure 3 jours à 32 °C. Seuls deux stades larvaires sur un nombre variable (environ 7) sont représentés. La pupa libera permet une inspection visuelle des structures externes facilitant les études phénotypiques de la métamorphose. Les coléoptères femelles ont besoin de quelques jours après l'éclosion pour commencer à pondre des œufs, qu'elles continuent pendant 3 à 4 mois (les dessins ne sont pas à l'échelle). Croquis du cycle de vie par Benjamin Schwarz

Figure 16 : Cycle de développement de *Tribolium castaneum* [65].

I.3.3.4. Dégâts :

Le *T. castaneum* un insecte cosmopolite, qui affectionne les farines dans lesquelles il creuse des galeries il leur communique une teinte brunâtre et une odeur âcre et rend la panification difficile . Souvent, l'infestation par les *triboliums* favorise le développement de moisissures, qui contribuent à réduire considérablement la qualité et la valeur du grain.

I.3.3.5. Origine et répartition :

Le *Tribolium* est aujourd'hui tellement cosmopolite et commensal de l'homme que son origine est incertaine. Il proviendrait de régions d'Asie méridionale au climat chaud et sec

I.3.3.6. Moyens de lutte :

A l'heure actuelle la lutte chimique est prédominante contre le *Tribolium castaneum* par l'utilisation de la fumigation : C'est le plus utilisé à cause de son grand potentiel sur la gestion des insectes ravageurs des grains stockés dans la majorité des pays. Son efficacité dépend de facteur de température, débit de dose, la période d'exposition et sorption de gaz

I.3.3.7. La lutte biologique :

L'utilisation anarchique des pesticides a engagé depuis quelques années des effets néfastes considérables. Ces effets ont incité les scientifiques à chercher des alternatives de lutte pour remplacer ces pesticides chimiques par des biopesticides végétaux biodégradables et respectueux de l'environnement tels que l'utilisation des huiles essentielles de *Ruta chalepensis* [63]

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes :

Le présent travail, porte sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne et insecticide de l'argent colloïdale dans un but de valoriser l'effet inhibiteur face à des agents bactériens pathogènes pour l'Homme, un agent fongique et enfin face à un insecte. Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire régional de l'hygiène et de la prévention de la wilaya de Saïda,

II.1. Matériel

II.1.1. Souches bactériennes

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, cinq souches bactériennes ont été utilisées à savoir: *Escherichia coli* (ATCC 25753), *Listeria monocytogenes*(27331), *Enterobacter cloacae*(29117), *Pseudomonas aeruginosa*(27962) , *Staphylococcus aureus*(25851). Les souches utilisées ont été récupérées au près du Laboratoire N° .. (Laboratoire de Microbiologie) de la faculté des sciences de la nature et de la vie, département Microbiologie Générale, Université de Moulay Tahar Saïda. Elles ont été conservées dans le milieu gélose nutritive. Ces espèces bactériennes sont considérées représentatives des germes les plus courants de contamination bactérienne. Elles possèdent aussi différentes résistances qui donnent une grille d'appréciation finale significative de l'efficacité des NPs d'argent colloïdale.

II.1.2. l'insecte:

L'activité insecticide a été testée sur *Tribolium castaneum* , l'échantillonnage a été réalisé à partir du semoule stockés à la maison déjà infecter ,une quantité de cette semoule est prélevée et mise dans un sachet en plastique. Ce dernier est ramené au laboratoire et l'échantillon est transféré dans un bocal couvert de tissu de compresse, afin d'offrir un système d'aération à la population d'insectes contenue dans la spéculon et en même temps de créer une sorte de barrière pour éviter que les adultes émergents quittent l'élevage après maturation..Cet insecte est considéré comme un ravageur des denrées stockées .l'argent colloïdale peut contribuer à la sécurité alimentaire en testant son activité anti parasitaire dans cette étude.

II.1.3. Milieux de culture:

- ✓ Milieu Chapman.
- ✓ Milieu Hektoen.
- ✓ Milieu Sabouraud.
- ✓ Milieu nutritive. (Annexe)

De plus, tout le "nécessaire d'épreuve" (pipettes, micropipettes, boîtes de Pétri, etc.) pour les tests bactériologiques ont été utilisés pour la réalisation des activités microbiologiques.

II.1.4. Appareils:

La réalisation de ce travail a nécessité l'utilisation de plusieurs appareils:

- Microscope optique.
- Autoclave
- TDS mètre. (Annexe)

II.1.5. Solvants et réactifs

La liste des solvants et réactifs utilisés est la suivante :

- De l'eau distillée a été utilisé comme solvant.
- Le violet de Gentiane, Lugol, alcool acétone et la fushine pour la coloration de Gram .(annexe 02)
- Eau oxygénée
- Le réactif de l'oxydase

II.1.6. l'agent anti microbien

Argent Colloïdal Biofloral (20 ppm), 500 ml de Biofloral ultra-pur de qualité pharmacopée européenne est obtenu par ionisation, une fabrication approuvée depuis plus de 50 ans.

II.2. Méthodologie :

II.2.1. Etude de l'activité antibactérienne :

II.2.1.1. Identification des souches bactériennes:

Avant de réaliser l'identification morphologiques et biochimiques des souches bactériennes par plusieurs examens macroscopique, microscopique coloration de gram ainsi que la galerie Api 20 E, on prépare :

- **les boîtes de pétri :**
 - Faire fondre les milieux gélosés au bain marie a une température de 95°C jusqu'à homogénéisation du milieu de culture.
 - Coulé a flux laminaire le milieu de culture gélosé (a une température de 44-47°C) dans les boîtes de pétri de façon a obtenir une épaisseur de 4mm pour les boîtes de 90mm (Figure 17).
 - Laisser refroidir et solidifier les milieux en boîte sous hôte a flux lamellaire avec un Couvercle ouvert pour éviter la formation de gouttelette d'eau de condensation sur le couvercle.



Figure 17: préparation des boîtes de pétri (photo prise au laboratoire).Chabane.f.2023

- **les bactéries a testé :**

Les cinq souches bactériennes à tester, sont repiquées sur la gélose nutritive (Annexe 1) puis sur les milieux d'isolement disponibles (Chapman- Hektoen) , les boites sont incubées à 37°C pendant 18h à 24h.

II.2.1.1.1. Caractères morphologiques :

II.2.1.1.1.a. Examen macroscopique des caractères culturaux :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies isolées permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

D'après les éléments d'identifications macroscopiques sont :

- La forme des colonies : punctiforme, irrégulières,...etc.
- La taille des colonies par la mesures du diamètre : petite ; moyenne ou grande taille...
- La pigmentation : couleur de la colonie...
- L'élévation : bossue, convexe, plane...
- L'opacité : opaque, translucides, transparente...
- Aspect : lisse, rugueuse, sèche...

II.2.1.1.1.b Examen microscopique :

L'observation de l'aspect microscopique des colonies obtenue est effectuée par l'examen à l'état frais et la coloration de Gram.

➤ Examen a l'état frais :

L'état frais est une étape qui permet de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement. L'observation est réalisée comme suit :

- ✓ Une petite goutte d'eau distillée stérile est déposée au centre d'une lame stérile.

- ✓ Une partie d'une colonie bactérienne pure est prélevée à l'anse et dissociée dans la goutte.
- ✓ Une lamelle stérile est ensuite appliquée sur la goutte en évitant la formation de bulles d'air.
- ✓ L'observation microscopique est réalisée à l'objectif X10 puis X40. (figure18)

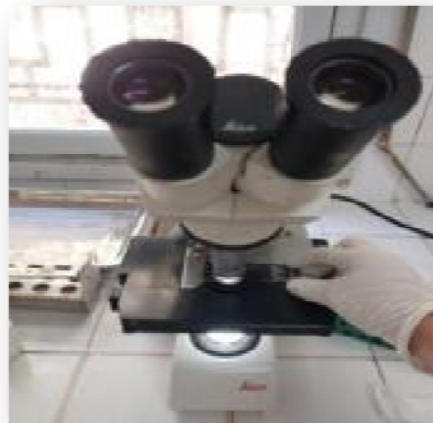


Figure 18: Examen à l'état frais. **Chabane f.2023**

➤ **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram est la coloration différentielle microbiologique la plus importante et la plus largement utilisée, elle permet de différencier les bactéries selon 2 critères principaux : leur forme et leur affinité pour les colorants :

- **Forme** : Paires, Tétrades, Groupes, Chaînes, Lancettes...
- **Affinité pour les colorants** : Gram positif ou Gram négatif

Elle se déroule en plusieurs étapes :

- ✓ Inonder le frottis séché à l'air et fixé à la chaleur pendant 1 minute avec le le violet de gentiane

- ✓ Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes
- ✓ Inondation avec le mordant : iode ou lugol. Attendez 1 minute
- ✓ Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.
- ✓ Inondation la lame avec agent décolorant. Attendre 15 secondes ou ajouter goutte à goutte pour faire sortir l'agent de décoloration
- ✓ Inondation la lame avec contre-colorant, 'safranine'. Patienter 30 secondes à 1 minute.
- ✓ Laver la lame dans un jet d'eau eau du robinet jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.
- ✓ Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile.
Examiner au microscope, objectif x100

II.2.1.1.2. Etude des caractères biochimiques :

II.2.1.1.2.a. Tests biochimiques classiques :

❖ Test catalase:

La catalase est une enzyme produite en abondance par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit le peroxyde d'hydrogène et libère de l'oxygène .La technique consiste à prélever une partie de la colonie et à l'émulsionner dans un tube qui contient une solution d'eau oxygénée. Le dégagement des bulles de gaz signifie qu'il y'a production de la catalase.

❖ Test d'oxydase:

Le teste d'oxydase est basé sur une éventuelle production bactérienne d'une enzyme oxydase intercellulaire en présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C .Pour déterminer l'activité de l'oxydase, la colonie récoltée est placées sur le réactif de l'oxydase. L'apparition d'une couleur violette signifie que le test est positif et que l'isolat bactérien possède l'enzyme l'oxydase

II.2.1.1.2.b. Galerie Api 20 E :**✓ Principe:**

Galerie API est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes dont la plus connue est l'api 20^E cette dernière contient 20 mini-chambres (Puits) de test contenant des milieux déshydratés ayant des compositions chimiquement définies pour chaque test. Ils détectent généralement une activité enzymatique, principalement liée à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés par les organismes inoculés.

L'incubation entraîne un changement de couleur spontanément ou en ajoutant certains réactifs. Cette galerie permet d'identifier une centaine de bacilles à Gram négatif, dont la famille des *Enterobacteriaceae*. Dans le présent travail, la bactérie qui a été identifiées par la galerie AP 20E est *Enterobacter cloacae* quand à *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, , *Staphylococcus* n'ont pas subies une identification par galerie biochimique en raison de la non disponibilité de ces dernières.

✓ Préparation de la galerie:

La méthode consiste à Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Ensuite, inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. Puis Sortir la galerie de son emballage et déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation [55][56]

✓ Inoculation de la galerie par la suspension bactérienne:

L'inoculation de chaque tube de la galerie (Figure19-20) est faite par des suspensions bactériennes standardisées afin d'assurer une interprétation correcte du résultat obtenu. Pour ce faire, la préparation des suspensions bactériennes ont été faites de la manière suivante :

À partir d'une culture jeune de 24 heures, quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et introduites dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile à 0.9%. La suspension bactérienne ainsi obtenue, est bien homogénéisée et est ajustée, à l'aide d'un spectrophotomètre, jusqu'à l'obtention d'une charge bactérienne de l'ordre de 0,5 Mc Farland ($\approx 1 \times 10^8$ UFC/ml), équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.1. L'ensemencement des galeries doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum bactérien.

L'incubation est réalisée à 36°C pendant 24 heures. Les résultats sont reportés sur les fiches des résultats appropriées, et interprétés par l'application d'Api Web.

- ✓ Pour les caractères soulignés ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, ensemercer le tubule par la suspension et la cupule par l'huile de vaseline stérile.
- ✓ Pour les caractères encadrés VP, CIT, Gel, ensemercer le tubule et la cupule par la suspension.
- ✓ Pour les caractères non encadrés, non soulignés ensemercer uniquement le tubule par la suspension



Figure 19 : Présentation de la galerie API 20_E avant inoculation. **Chabane.f.2023**

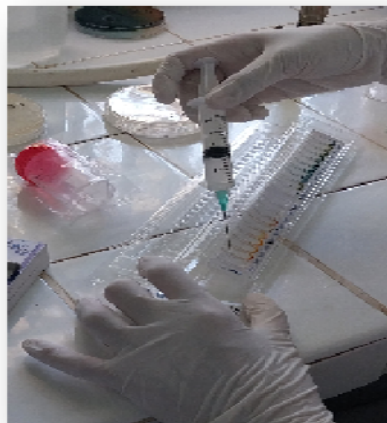


Figure 20:Inoculation de la galerie par la suspension bactérienne **Chabane.f.2023**

II.2.1.2 - Mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'argent colloïdale :

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'argent colloïdale vis-à-vis des souches testées consiste à rechercher la sensibilité de ces derniers à l'agent antimicrobien en question. Ce test est réalisé par la méthode de diffusion sur gélose. Pour ce faire, différentes étapes ont été suivies à

savoir : la préparation des différentes concentrations d'argent colloïdale, la préparation de l'inoculum bactérien, et enfin le test d'activité biologique vis-à-vis des bactéries pathogènes.

- **Préparation des dilutions d'argent colloïdale:**

Pour diluer la solution d'argent colloïdale "Argent Colloïdal Biofloral (20 ppm)", j'ai considéré cette dernière comme solution mère c'est à dire le 100% ; à partir de laquelle j'ai préparée trois autres concentrations (figure 21)

- La concentration 75% a été obtenue en mélangeant 3ml de la solution mère avec 1ml d'eau distillé. L'équivalent d'une solution de 15 ppm.
- La concentration 50% a été obtenue en mélangeant 2ml de la solution mère avec 2ml d'eau distillé. L'équivalent d'une solution de 10 ppm.
- La concentration 50% a été obtenue en mélangeant 1ml de la solution mère avec 3ml d'eau distillé. L'équivalent d'une solution de 5 ppm.



Figure 21 : différentes dilutions préparées avec la solution d'argent colloïdale. **Chabane.f.2023**

- **Préparation de l'inoculum bactérien :**

À partir d'une culture fraîche de 24 heures et pour chacune des souches à tester, quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile. Immerger l'anse dans de l'eau physiologique stérile à 0.9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne jusqu'à l'obtention d'une charge bactérienne de l'ordre de 0,5 Mc Farland ($\approx 1 \times 10^8$ UFC/ml), équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.1.

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui ont suivi la préparation de l'inoculum.

• **Test de diffusion sur gélose :**

Des écouvillons stériles trempés dans les suspensions bactériennes standardisées (Figure) ont servis à ensemercer uniformément toute la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu MH avec des stries bien serrées afin d'obtenir un tapis bactérien

L'ensemencement se fait sur une gélose Muller Hinton par la méthode de Kirby-Baur, par écouvillonnage appelée méthode NCCLS (national committee of clinical laboratory standards). Ce type d'ensemencement est rapide mais est imprécis.

Dans des conditions stériles imbiber un écouvillon dans la suspension bactérienne.

Ensemencer le milieu de culture de haut en bas avec des stries sériées, l'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de Pétri de 60°. (figure 22-23). [83]

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois [8]

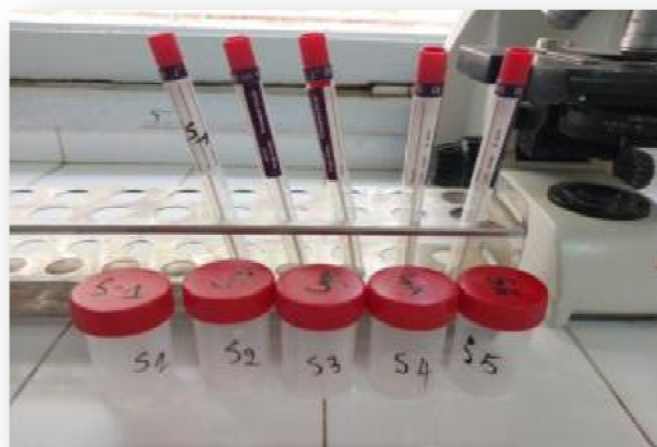


Figure 22: Des écouvillons stériles trempés dans les suspensions bactériennes standardisées

Chabane.f.2023

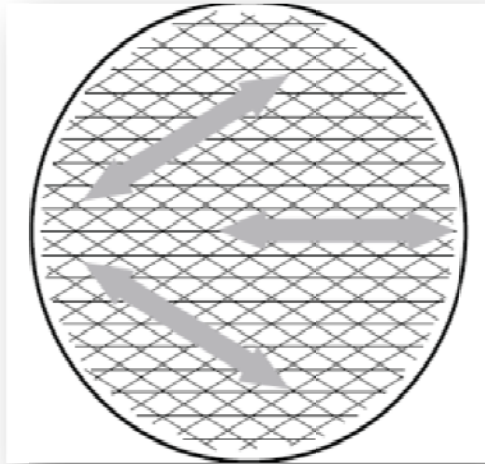


Figure 23:. Plaque de Mueller-Hinton à ensemercer en stries avec l'écouvillon sur toute la surface du milieu à trois reprises en faisant tourner la boîte de Pétri d'un angle de 60°C après chaque application [72]

- **Application des disques :**

J ai utilisé la méthode de diffusion en milieu solide pour l'activité antibactérienne. De ce fait, chacun des disques de papier Wattman stérile N° 3 et de diamètre 6 mm est imprégné par 20 µl de chaque concentration d argent colloïdale (20ppm ,15ppm,10ppm,5ppm) espacés de 24 mm et placé aseptiquement à la surface du milieu de la boîte de pétri(figure 24) Ensuite les boîtes ont été incubées dans l'étuve à 37° C pendant 24 heures.

La lecture se fait après 24 heures d'incubation, mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique [8][57].

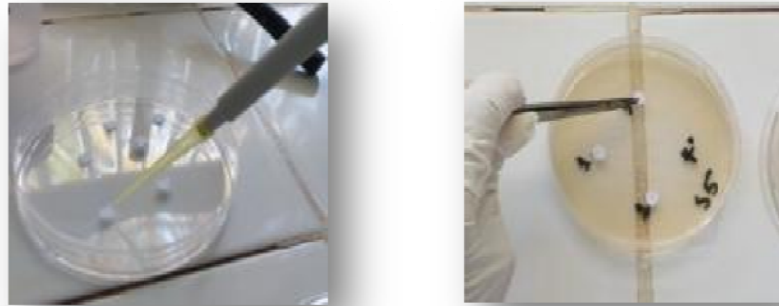


Figure24: Application des disques. Chabane.f.2023

II.2.2.Etude de l'activité insecticide :

L'évaluation de l'activité antiparasitaire de l'argent colloïdale sur le vise à rechercher la sensibilité de ce dernier au Nps de l'agent antiparasitaire en question. Ce test est réalisé par contacte directe du parasite avec l'argent colloïdale. Pour ce faire, d.eux étapes ont été suivies à savoir :la préparation des boites de teste, le prélèvement du parasite en question.

II.2.2.1.Préparation des boites de teste :

J'ai pris des boites pétri dans les quelles j'ai mis du papier filtre imbibé entièrement avec de la solution d'argent colloïdale mère (20ppm) pour le teste insecticide létal .pour le teste insecticide repulsif j'ai imbibé la moitié du papier uniquement en séparant la partie sèche de la patie humide du papié par un trait repaire.

II.2.2.2.Placement des des insectes :

➤ **le teste insecticide létal :**

ce teste consiste a metre en contacte l'insecte avec un papié absorbant imbibe de solution mere d'argent colloïdale (20ppm). J'ai mis aléatoirement sur le papier 10 *Tribolium castaneum* adultes de recoltés à partir de l'élevage réalésé précédemment. Le tout dans une boite pétri laissé 24h a température ambiante. (figure.25)

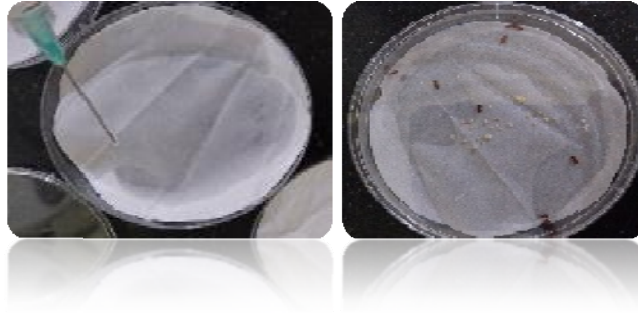


Figure 25 :Placement des des insectes pour le teste insecticide létal. **Chabane.f.2023**

➤ **le teste insecticide répulsif :**

ce teste consiste a mettre en contacte l'insecte avec un papié absorbant moitié imbibé de solution mère d'argent colloïdale (20ppm) et moitié sec. J 'ai mis sur un trait desiné sur le papier qui separe les deux moitié 10 adultes recoltés à partir de l'élevage réalésé précédemment. Le tout dans une boite pétri laissé 24h a température ambiante (figure 26).

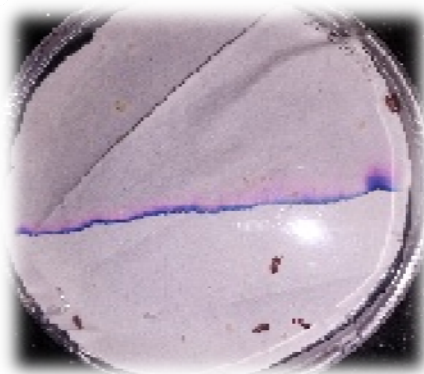


Figure26: Placement des des insectes pour le teste insecticide repulsif. **Chabane.f.2023**

II.2.3.Etude de l'activité anti fongique:

Activité antifongique de l'argent colloïdale contre *Aspergillus niger* (figure 27) a été criblés sur gélose Sabouraud . en utilisant la macro méthode de dilution en milieu gélosé. Un bloc d'hyphes (5 mm de diamètre) *Aspergillus niger* a été inoculé au centre de la plaque Sabouraud dilué a titre de 10% avec de l'argent colloïdale 20ppm dans le premier test et 15ppm dan le deuxième. La plaque inoculée uniquement avec l'agent pathogène a été utilisée comme témoin. L'activité antifongique a été détectée jusqu'à ce que le mycélium pathogène

Couvert toute la plaque dans le groupe témoin à 37 C. Les diamètres de croissance d *Aspergillus niger* ont été mesurés en utilisant une méthode croisée. La zone inhibitrice et le pourcentage d'inhibition de la croissance de champignons ont été calculés à l'aide de la formule suivante :

Le pourcentage inhibiteur de croissance = $[(C - T)/C] 100\%$ où C et T représentaient des diamètres de croissance moyens du champignon testé dans les boîtes de contrôle et traitées respectivement) [70], le champignon a été gracieusement identifié au niveau du laboratoire de microbiologie faculté de sciences département biologie Université MOULAY Tahar.



Figure 27 : Aspect macroscopique *Aspergillus niger* photo prise au laboratoire.

Chabane.f.2023

CHAPITRE III

Résultats et discussion

III. Résultat et discussion :

III.1- Résultat d'étude bactériologique :

L'aspect macroscopique des souches bactériennes utilisées dans cette étude est représenté dans les figures ci-dessous (figure 28-29). Le tableau résume les différents caractères macroscopiques observés directement sur gélose (tableau 12)



Figure 28 : Aspect macroscopique de *Pseudomonas aeruginosa* , *E.coli* et *Staphylococcus aureus* sur des milieux sélectifs photo prise au laboratoire. **Chabane.f.2023**

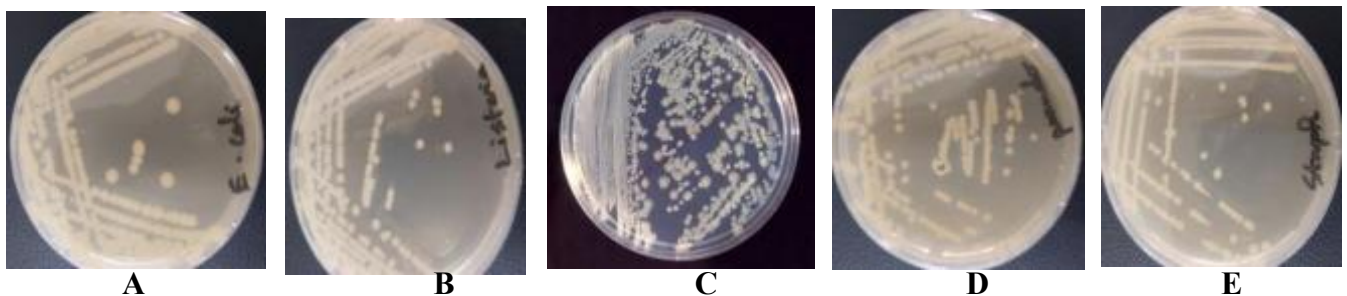


Figure 29 : Aspect macroscopique d *E.coli* (A) , *Listeria monocytogenes*(B) ,*Enterobacter cloacae* (C) , *Pseudomonas aeruginosa*,(D) , *Staphylococcus aureus*(E) sur gélose nutritive, photo prise au laboratoire. **Chabane.f.2023**

Tableau 12 : Caractères macroscopiques des colonies bactériennes sur gélose.

Souche bactérienne	Temps d'incubation	Observation sur les Milieu de cultures utilisés
<i>Escherichia coli</i>	24 h	-colonies de taille moyenne crémeuse marron , les colonies sont lisses et à bords réguliers sur GN -Grande taille, de couleur jaune à saumon du a la fermentation d'au moins un des sucres sur milieu Hektoen.
<i>Listeria monocytogenes</i>	24 h	Les colonies sont circulaires, d'environ 1 à 1,5 mm de diamètre
<i>Enterobacter cloacae</i>	24 h	des colonies lisses, brillantes, bombées et humides de structures homogènes
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24 h	-Les colonies sont plates, à bord irrégulier sur GN -Irrégulières, de couleur verte à marron indiquant l'absence de glucides fermentation .sur milieu Hektoen
<i>Staphylococcus aureus</i>	24 h	-Les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées -Des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol sur milieu Chapman

III.1.2- Etude microscopique :

• Coloration de Gram :

Après avoir effectué la coloration on a distingué 2 souches à Gram positif et 3 souches à Gram négatif (figure 30)

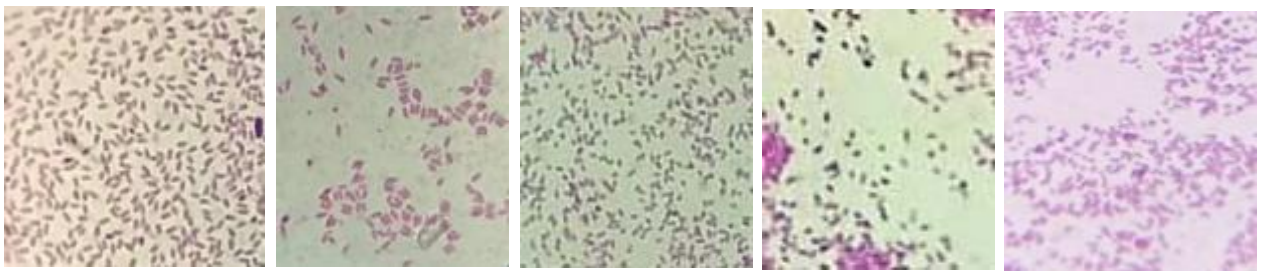


Figure30 : Aspect microscopique E.coli (Gram-), Listeria monocytogenes (Gram +), Enterobacter cloacae (Gram-), Pseudomonas aeruginosa, (Gram-), Staphylococcus aureus. (Gram+). Chabane.f.2023

Ces constatations à savoir macroscopiques et microscopiques correspondent à celle décrites dans l'étude bibliographique.

III.1.3- Etude des caractères biochimiques :

III.1.3.1- Tests biochimiques classiques :

• Test de catalase :

Le test catalase a montré que les cinq souches bactériennes ne sont pas capables de produire cette enzyme « catalase négative » puisque il y'a pas eu un dégagement de bulles d'oxygène.[58]

• Test d'oxydase :

Les résultats ont montré que les quatre souches bactériennes *E.coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter cloacae* et *Staphylococcus aureus*. ne possèdent pas l'enzyme oxydase car elles restent incolores une fois mises en contact avec le réactif d'oxydase, par contre la souche

Pseudomonas aeruginosa possède l'enzyme oxydase car la couleur du réactif change en contact avec la bactérie (figure 31) [58].

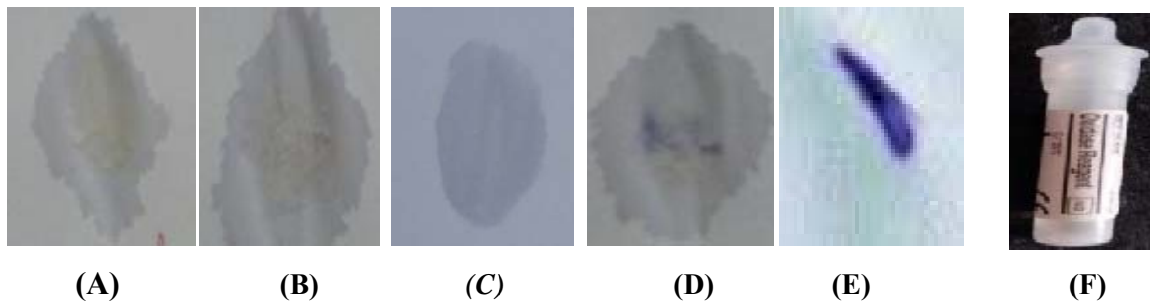


Figure 31 : Test d'oxydase(F) négatif : (A) *Escherichia coli* , (B) *Listeria monocytogenes* ,(C) *Enterobacter cloacae*,(D) *Streptococcus aureus* , positif pour (E) *Pseudomonas aeruginosa*
Chabane.f.2023

III.1.3.2. Galerie API 20^E 20 :

Les résultats de galerie Api 20^E obtenus après incubation, sont présentés sur les figures ci-dessous j'ai pu identifier une seule souche les 4 autres galeries ont tombé dans l'étuve faute de manipulation (Figure 32-33)



Figure 32: résultat de la Galerie API 20E d *Enterobacter cloacae* Chabane.f.2023

5 <i>Enterobacter cloacae</i>																	0.000	-0.74	0
ONPG	ADH	LDH	DOC	DT	HCN	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	ALUM	IND	SOP	PNA	SAC	HEP	AMY	
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	

Figure 33 : résultat d'ApiE20 web d *Enterobacter cloacae* Chabane.f.2023

III.2 .Résultats d'étude de l'activité antibactérienne de l'argent colloïdale :

Tableau 13: des résultats de la diffusion sur gélose pour *Escherichia coli* Chabane.f.2023

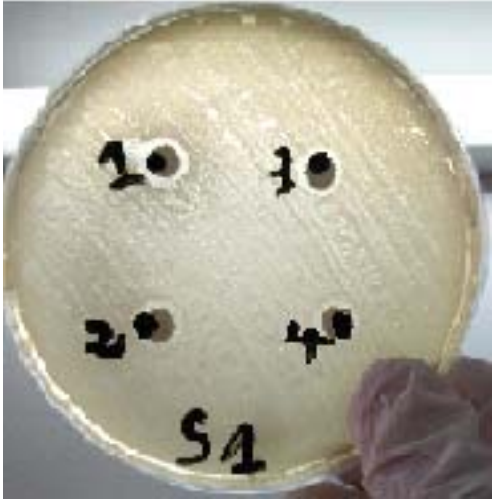
les différentes concentrations d'argent colloïdale	<i>Escherichia coli</i> S1	Diamètre de la zone d'inhibition mm	Photo
20 ppm	1	9	
15ppm	2	8	
10ppm	3	7	
5ppm	4	6	

Tableau 14: des résultats de la diffusion sur gélose pour *Listeria monocytogenes* Chabane.f.2023


les différentes concentrations d'argent colloïdale	<i>Listeria monocytogenes</i> S2	Diamètre de la zone d'inhibition mm	Photo
20 ppm	1	7	
15ppm	2	7	
10ppm	2	6.5	
5ppm	4	6.5	

Tableau 15: des résultats de la diffusion sur gélose pour *Enterobacter cloacae* Chabane.f.2023

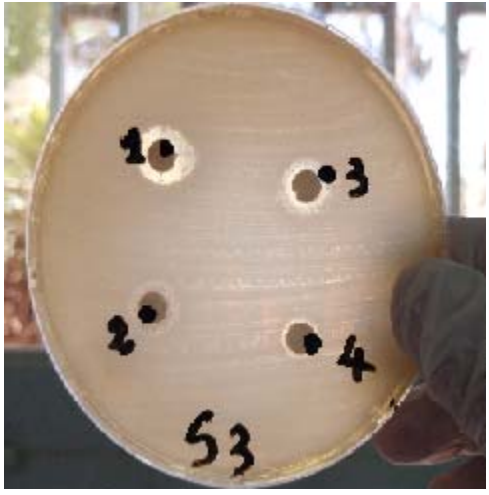
les différentes concentrations d'argent colloïdale	<i>Enterobacter cloacae</i> S3	Diamètre de la zone d'inhibition mm	Photo
20 ppm	1	15	
15ppm	2	11	
10ppm	3	8	
5ppm	4	7	

Tableau16: des résultats de la diffusion sur gélose pour *Pseudomonas aeruginosa*.
Chabane.f.2023

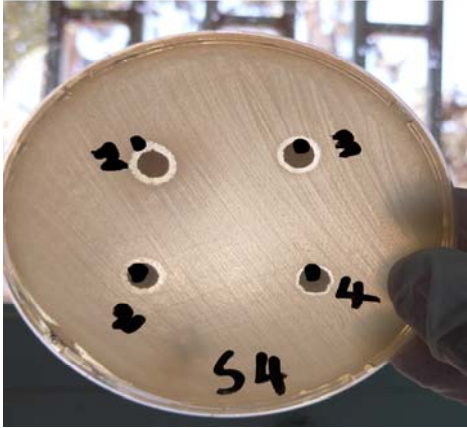
les différentes concentrations d'argent colloïdale	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> S4	Diamètre de la zone d'inhibition mm	Photo
20 ppm	1	10	
15ppm	2	9	
10ppm	3	8	
5ppm	4	8	

Tableau 17: des résultats de la diffusion sur gélose pour *Staphylococcus aureus* Chabane.f.2023

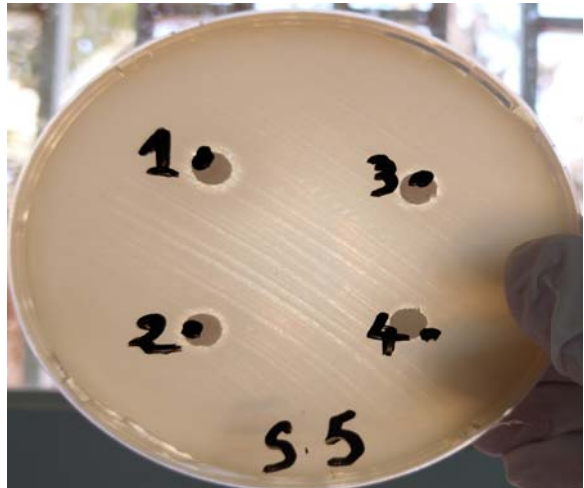
les différentes concentrations d'argent colloïdale	<i>Staphylococcus aureus</i> S5	Diamètre de la zone d'inhibition mm	Photo
20 ppm	1	9	
15ppm	2	9	
10ppm	3	8	
5ppm	4	7	

Tableau 18 : récapitulatif des résultats de l'activité antibactérienne des différentes concentrations d'argent colloïdale **Chabane.f.2023**.

Les souches testées	les différentes concentrations d'argent colloïdale			
	20ppm	15ppm	10ppm	5ppm
	Diamètre de la zone d'inhibition mm			
<i>E.coli</i>	9	8	7	6
<i>Listeria monocytogenes</i>	7	7	6.5	6.5
<i>Enterobacter cloacae</i>	15	11	8	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	9	8	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	8	7

Les résultats de la technique de la diffusion sur gélose ont montrés des diamètres des zones d'inhibition qui ne révèlent pas une activité antibactérienne nette des NPs d'argent sur toutes les souches testées (Tableau 13,14,15,16,17) . Ceci indique que les souches étudiées sont résistantes à l'argent colloïdale avec ses différentes concentrations à savoir 20ppm 15ppm ,10ppm et 5ppm.

Malgré l'hétérogénéité des bactéries et leur mécanismes de résistances à savoir Gram + et les bactéries Gram -, les zones d'inhibition sont proches entre elles. (Tableau 18)

Les résultats de ce présent travail peuvent être expliqués par l'insuffisance de la concentration des NPs d'argent dans notre solution colloïdale ou bien, par la mauvaise diffusion des NPs d'argent, ou encore par l'élévation de la charge bactérienneensemencée.

On peut suggérer une autre explication talque le diamètre des pores du papier filtre utilisé qui sont de l'ordre de microns alors que les NPs utilisés sont de taille inferieur à 100 nm.

Par contre les résultats d'autres études réalisées par Lori L. Daane, Ph.D (2003-2004), sur l'effet d'argent colloïdale (20 ppm) en utilisant 2 concentrations (1 et 10 %) sur la survie bactérienne d'*Escherichia coli* à $\sim 10^6$ cellules ml^{-1} , *Pseudomonas aeruginosa* à $2,0 \times 10^6$ cellules ml^{-1} et *Staphylococcus aureus* à $1,2 \times 10^6$ cellules ml^{-1} montrent que celui-ci a un impact négatif sur la survie des trois souches lorsqu'ils sont utilisés à 1 et 10% ; Plus précisément, les deux concentrations ont réussi à réduire le nombre de cellules en dessous du niveau de détection dans les 24 heures. cela peut être expliqué par la probable efficacité du mécanisme d'inhibition des Nps d'argent mis en contact avec les bactéries dans le milieu liquide qui c'est avéré moins sur milieux solide sur lequel les Nps d'argent sont portés par des disques, ces derniers peuvent limiter leur action et leur liberté d'accès aux bactéries Vu leur taille inférieure à 100nm.

III.3. Résultats d'étude de l'activité insecticide de l'argent colloïdale:

Après 24 h j'ai trouvé tout les adultes de *Tribolium castaneum* mis en contact avec de l'argent colloïdale (20ppm) vivants c'est à dire ;il ya pas eu d'activité létale des Nps d'argent sur le parasite (figure34). Tandis que le teste répulsif a montré une activité de 80% avec 8 adultes répulsés vers le côté sec du papier absorbant, deux adultes seulement sont trouvés dans le côté humide (imbibé de solution d'argent colloïdale 20ppm) (figure 35).

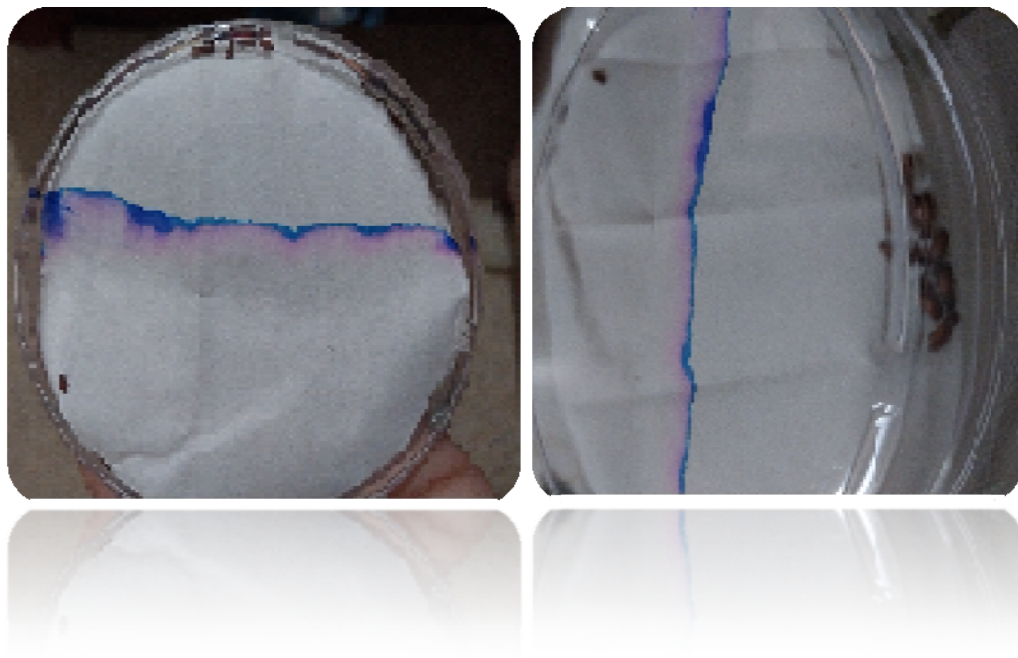


Figure 34: résultat du teste insecticide répulsif Chabane.f.2023

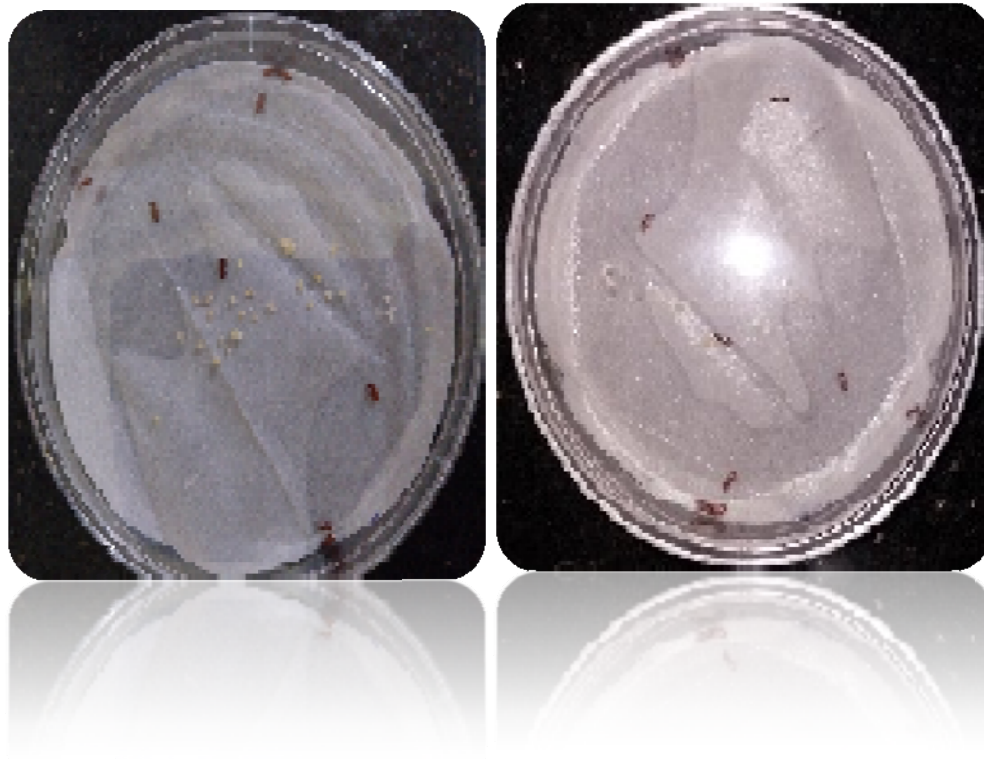


Figure 35: résultat du teste insecticide létal **Chabane.f.2023**

III.4. Résultats d'étude de l'activité antifongique de l'argent colloïdale :

La macro méthode de dilution en milieu gélosé à titre de 10% par la solution d AC 20ppm et 15ppm pour le test antifongique a montré une activité antifongique de l'argent colloïdale contre *Aspergillus niger* après cinq jours d'incubation. (Tableau 19) (figur 36)



A

B

C

Figure 36: gros plan de trois plaques représentatives. Notez que 20 ppm (B) ont inhibé 33% la croissance fongique tandis que 15 ppm (C) inhibaient environ 26 % de croissance par rapport au contrôle sans produit (A) **Chabane.f.2023**

Tableau 19: Résultats d'étude de l'activité anti fongique de l'argent colloïdale sur *Aspergillus niger* .**Chabane.f.2023**

	milieu Sabouraud dilué avec 10% d AC		milieu Sabouraud (témoin)
Concentration d AC	20ppm	15ppm	/
Les diamètres de croissance d <i>Aspergillus niger</i> mm	6	6.6	9
Les pourcentages d'inhibition	33%	26%	00%

Concernant l'activité antifongique, nos résultats ont montré que parmi les concentrations d AC testées, celle de 20ppm était la plus actives par rapport à la concentration de 15ppm .

Ces résultats sont intéressants car nous traitons avec une faible concentration par conséquent si on augmente la les concentrations d AC testées on aura de meilleures résultats d activités anti fongique comme celles réalisés par Lori L. Daane, Ph.D (2004) en testant l'AC (75ppm) avec une inhibition de croissance fongique dans la zone de pulvérisation concentrée (28 pulvérisations de 3,64 ml d'AC) (figure 37) , par contre on a eu des résultats similaires avec la concentration 20ppm d'AC.

CONCLUSION

Conclusion :

Les études menées, les résultats et constats obtenus placent l'argent comme une perspective d'avenir prometteuse en tant qu'agent antimicrobien de relais devant l'échec thérapeutique des agents de synthèse classique face à la résistance microbienne spécialement bactérienne. Les faits scientifiques sont indéniables et encourageants.[5]

L'activité antimicrobienne de l'argent colloïdale a été comparée avec d'autres études. Les solutions de NPs ont été utilisées à différentes concentrations (20ppm,15ppm,10ppm,5ppm), testée sur cinq souches bactériennes *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* par la méthode de diffusion sur gélose qui consiste à l'application directe des NPS sur les colonies de ces souches. Cette méthode nous a permis d'observer l'effet de chacune des concentrations testées par la présence ou l'absence de la zone d'inhibition, les résultats ont révélés une absence d'activités antibactérienne.

Le test antifongique avec la macro méthode de dilution a titre de 10% en milieu gélosé par la solution d'AC (20ppm et 15ppm) a montré son activité antifongique (33% et 26%) contre *Aspergillus niger*.

La concentration de 20ppm d'AC a donné un effet répulsif de l'ordre de 80% sur *Tribolium castaneum* mais pas d'effet létal.

Ce travail pourrait alors être un nouveau pas dans la découverte de nouvelles alternatives dans la lutte contre la résistance microbienne et contribuer ainsi à résoudre cette véritable menace universelle et encourager d'autres tests sur de nouvelles espèces et avec de nouvelles concentrations, et pourquoi pas des tests clinique sur l'homme qui seraient d'une grande importance scientifique pour le domaine de la recherche et de la vie humaine,

Cette dernier négligé par les laboratoires qui devraient normalement prendre le relais des études entamés car il ne semble pas convaincus ni intéressées d'investir sur un élément naturel qui ne serait pas économiquement rentable.

Bibliographies et webographies

Bibliographies et webographies

- [1] l'Institut Katharos, les secrets de l'argent colloïda, <https://www.institut-katharos.com/>
- [2] J. Wesley Alexander 2009 History of the Medical Use of Silver, SURGICAL INFECTIONS Volume 10 Number 3, 2009 a Mary Ann Liebert ,289-290-191, Inc. DOI 10.1089/sur.2008.9941
- [3] *Raïssa Blankoff* L'argent colloïdal, une alternative naturelle aux antibiotiques <https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Nouvelles/Fiche.aspx?doc=argent-colloidal-antibiotiques>
- [4] Franck Goldman 2004 Une Arme Secrète Contre la Maladie, éditions Le Lotus d'Or : p3, 30-33
- [5] Rim Bouhlal 2018 L'argent colloïdale un antibiotique promoteur UNVERCITE MOHAMMED V-Rabat. Thèse doctorat d'état:p 1.34.67.
- [6] GUELLIL Chahrazed, BOUHAYA Meriem, Les différentes synthèses d'argent colloïdal et leurs applications. Université De Blida :Thèse master:p43 . <https://di.univblida.dz/jspui/bitstream/123456789/10503/1/l'argent%20colloidal.pdf>
- [7] Perros Jeanne ,2011, L'argent colloïdal un remède en or, éditions Guy Trédaniel: p29-34
- [8] AIT HAMOUDA amina GUECHI kelthoum .2020 . Effet antibactérien des nanoparticules « cuivre, argent ». Université Frères Mentouri Constantine:Thèse master:p 14
- [9] MIMOUNI Assala NOUICER Cheima,2020, Etude théorique de l'utilisation des nanoparticules comme alternatives à l'antibiothérapie, Université des Frères Mentouri Constantine, thèse master:p22
- [10] Laboratoire Fenioux ,Argent colloïdale .
- [11] Aroma-zen, L'Argent colloïdal : Guide complet .<https://blog.aroma-zen.com/argent-colloidal-guide-complet/>
- [12] Pure colloïdal, Le processus de fabrication de l'argent colloïdal.<https://www.argentcolloidal.fr/le-processus-de-fabrication-de-largent-colloidal/>
- [13] Argent colloïdal, Tour d'horizon sur l'argent colloïdal .<https://argent-colloidal.fr/comment/argent-colloidal-comment-fabriquer/>
- [14] ELHOCINE Kadri NOUR ELISLAM Salmi OTHMANE Merabet ,2022 .Synthèse des nanoparticules d'Ag pour des réactions catalytiques, Université Echahid Hamma Lakhdar El ourd, Thèse master :p 6-7

- [15] Jean-Patrick BONNARDEL 2020 L'ARGENT COLLOÏDAL Alternative naturelle aux antibiotiques, éditions Dangles : p17
- [16] MATALLAH Ikram YOUSFI Mohamed Mahdi 2021, Biosynthèse et applications des nanoparticules d'argent. Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib :Thèse master :p25. https://pmb-int.univ-temouchent.edu.dz/opac_css/doc_num.php?explnum_id=3737
- [17] Principes-de-sante, Argent colloïdal : comment choisir le meilleur. <https://www.principes-de-sante.com/traitements/argent-colloidal-comment-choisir-le-m>
- [18] Pure colloïdale, Les critères pour une solution d'argent colloïdal de qualité. <https://www.argentcolloidal.fr/les-criteres-pour-une-solution-dargent-colloidal-de-qualite/>
- [19] Olivier Lecarme .2012 Propriétés optiques de colloïdes assemblés : plasmonique et confinement diélectrique, Université de Grenoble, France, Thèse doctorat
- [20] phyto-veto, argent colloïdal – un remède en or ?. <https://phyto-veto.fr/nos-articles-recents/argent-colloidal-un-remede-en->
- [21] Keat, C. L., Aziz, A., Eid, A. M., & Elmarzugi, N. A. (2015). Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. *Bioresources and Bioprocessing*, 2(1), 1-11.
- [22] Colloids الغرويات pdf. <https://uomustansiriyah.edu.iq.p.2>
- [23] inc.cnrs, Vers des nouvelles générations de catalyseurs pour électrolyseurs et piles à combustible <https://www.inc.cnrs.fr/fr/cnrsinfo/vers-des-nouvelles-generations-de-catalyseurs-pour-electrolyseurs-et-piles-combustible>,
- [24] Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 6(1 (20)), 35-44
- [25] Vie Vie et Terre, Bacteria – Définition. <https://www.techno-science.net/definition/987.html>
- [26] Ramzi, C. H. A. N. T. I. Contribution à l'étude de l'effet des nanomatériaux sur les bactéries.p14
- [27] canada.ca fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Escherichia coli, <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/escherichia-coli-enterotoxinogene.html>
- [28] Balière, C. (2016). Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral: cas des STEC et des EPEC (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale).p:23
- [29] futura-sciences, Colibacille, <https://www.futura-sciences.com /sante/definitions/medecine-colibacille-5138/>

[30] who.int, Escherichia coli (E. coli),<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

[31]antibio-responsable ,Escherichia coli (Colibacille).
<https://www.antibioreponsable.fr/bacteries/colibacille/>

[32] André PICOT, 2011. LE NANOARGENT, UNE NOUVELLE CARRIERE POUR L'ARGENT ?.
https://www.atctoxicologie.fr/images/Dossier/NANOPARTICULES/Dossier_N4_Les_nanoargent_une_nouvelle_carri%C3%A8re_pour_largent.pdf

[33] ANSES, Listeria monocytogenes.
<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0081Fi.pdf>

[34]unspf,,Listeria monocytogenes
http://untori2.crihan.fr/unspf/2009_Angers_Cottin_ListeriaMonocytogenes/co/I/%20-%20Historique.htm

[35] Ribet, D., & Cossart, P. (2010). Listeria en lutte avec SUMO. médecine/sciences, 26(5), 545-547.

[36] francois.dar , Les caractéristiques de Listeria,
<http://francois.dart.pagespersorange.fr/pagbac/listeria/listcar.htm>

[37] Guérin, F. (2015). Infections à Enterobacter cloacae complex: résistance aux antibiotiques et traitement. Journal des Anti-infectieux, 17(3), 79-89.

[38] Danielle CLAVE,2011 ; FICHE TECHNIQUE : Enterobacter cloacae,
[https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Enterobacter%20cloacae%20\(Edition%202011\).pdf](https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Enterobacter%20cloacae%20(Edition%202011).pdf)

[39] Rayane, BENABDERRAHMANE & Elhouda, B. N. Isolement et Identification d'Enterobacter sp. et l'étude de la résistance aux antibiotiques.

[40] wikipedia, Enterobacteriaceae, <https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterobacteriaceae>

[41] Katy Jeannot, Thomas Guillard ;2019,Pseudomonas aeruginosa.https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Pseudomonas.pdf

[42] Danielle CLAVE, 2011,FICHE TECHNIQUE : Pseudomonas aeruginosa.[https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Pseudomonas%20aeruginosa%20\(Edition%202011\).pdf](https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Pseudomonas%20aeruginosa%20(Edition%202011).pdf)

[43] Institut pasteur Staphylocoque <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/staphylocoque>

[44] wikipedia,Staphylocoque doré.
https://fr.wikipedia.org/wiki/Staphylocoque_dor%C3%A9

- [45] anses ,Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococciques
<https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0117Fi.pdf>
- [46] Anne Tristan, Jean Philippe Rasigade.2019Staphylococcus spp, https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Staphylococcus.pdf
- [47] Dr. Danielle CLAVEFICHE 2013 TECHNIQUE : Staphylococcus aureus,
https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Staphylococcus.pdf
- [48] Bisognano, C. (2001). Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de " Staphylococcus aureus": étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires (Doctoral dissertation, University of Geneva).p 9
- [49] Gautier, M. (2010). Staphylococcus aureus.p1
- [50] antibio-responsable, staphylococcus aureus (staphylocoque doré).<https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/staphylocoque-dore/>
- [51] BOUMEDIQU, K. Etude de l'activité antibactérienne des matériaux nanostructurés à base d'argent (Doctoral dissertation, 18-09-2019).p 2
- [52] Parte, A., Krieg, N. R., Ludwig, W., Whitman, W. B., Hedlund, B. P., Paster, B. J., ... & Brown, D. (Eds.). (2011). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 4: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes (Vol. 4)*. Springer Science & Business Media.
- [53] https://www.researchgate.net/figure/mages-de-P-aeruginosa-fixees-sur-du-verre-par-microscopie-a-balayage-electronique_fig1_349051621
- [54] Cnrs, Prise de vue au microscope électronique à balayage d'un biofilm de "Staphylococcus aureus". développé,https://images.cnrs.fr/photo/20020001_1430
- [55] BENZEMARI Ouassila HAMLAOUI KENZA,2022, Utilisation de quelques nanoparticules comme moyen de lutte contre les infections microbiennes Université frères Mentouri Constantine,these
Master p22 25
- [56] Fiche-technique-API-20E.pdf <https://microbiologiemedicale.fr/wp-content/uploads/2019/02/API-20-NE.pdf>
- [57] Haddouchi, F., Zerhouni, K., Sidi-Yekhelef, A., & Chaouche, T. M. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 152-159.
- [58] Reiner, K. (2010). Catalase test protocol. American society for microbiology, 1-6.p.1
- [59] Lecellier, A. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Reims: Université de Reims Champagne-Ardenne, 195, 9-27.p.15

- [60] Zenati, R., & Derouiche, K. (2018). Fermentation d'Aspergillus niger cultivé sur milieu à base de lactosérum..p.7
- [61] Jacquet, J., & Boutibonnes, P. (1967). Recherches sur les caractères des Aspergillus pathogènes. Les espèces mineures. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 120(10), 489-500.p.493..494
- [62] De, P. L. D. D. E. (1984). Aspergillose Humaine. Epidemiologie, Diagnostic Biologique, Contrôle (Doctoral Dissertation, Université De Limoges).P.75
- [63] DJILALI, S., & IHDENE, T. Effets des extraits de l'Asphodèle sur Tribolium castaneum p6.7.8.
- [64] Dia, C. A. K. M., Sarr, A. G. R. J., Kafom, A., Diome, T., Ngom, D., Thiaw, C., ... & Sembene, M. (2017). Identification morphométrique des populations de Tribolium castaneum Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodées à trois céréales à Widou Thiengoli. Journal of Applied Biosciences, 119, 11929-11942.
- [65] Didier Pol ,planet-vie ,Le petit ver de farine Tribolium castaneum : élevage et utilisations. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-svt/le-petit-ver-de-farine-tribolium-castaneum-elevage-et-utilisations>
- [66] Lori L. Daane, Ph.D .2003.Certificate of Analysis, Escherichia coli, EMSL Reference: 030317990. <https://www.silver-colloids.com/Pubs/EMSL/Ecoli2-B.pdf>
- [67] Lori L. Daane, Ph.D .2003.Certificate of Analysis Pseudomonas aeruginosa EMSL Reference: 030318532. <https://www.silver-colloids.com/Pubs/EMSL/Paerug-B.pdf>
- [68] Lori L. Daane, Ph.D .2003.Certificate of Analysis, Staphylococcus aureus EMSL Reference: 030319513. <https://www.silver-colloids.com/Pubs/EMSL/Saureus3.pdf>
- [69] Senhaji, O., Faid, M., Elyachioui, M., & Dehhaoui, M. (2005). Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. Journal de Mycologie Médicale, 15(4), 220-229.
- [70] Qi, D., Zou, L., Zhou, D., Zhang, M., Wei, Y., Zhang, L., ... & Wang, W. (2021). Identification and Antifungal Mechanism of a Novel Actinobacterium Streptomyces huiliensis sp. nov. Against Fusarium oxysporum f. sp. cubense Tropical Race 4 of Banana. Frontiers in Microbiology, 12, 722661.p 2.3
- [71] Lori L. Daane, Ph.D.2004. Certificate of Analysis. Aspergillus niger EMSL Reference: 030321850 <https://www.silver-colloids.com/Pubs/EMSL/Aniger.pdf>
- [72] Woods, G. L. (1995). Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. Manual of clinical microbiology.
- [73] Listeria monocytogenes infectionn, <https://m.blog.naver.com/mara24968/221329457098>
- [74] LISTÉRIOSE Pouvoir pathogène et virulence, <https://www.universalis.fr/encyclopedie/listeriose/3-pouvoir-pathogene-et-virulence/>

Bibliographies et webographies

[75] Enterobacter cloacae bacteria, SEM .<https://www.sciencephoto.fr/image/13244891-Enterobacter-cloacae-bacteria-SEM>

[76]Aspergillus niger .https://fr.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_niger

[77]<https://www.actasdermo.org/en-proximal-subungual-onychomycosis-due-aspergillus-articulo-S1578219017300859>

[78] History Of Silver And Colloidal Silver

<https://www.naturesgreatestsecret.co.uk/introduction-to-colloidal-silver/>

ANNEXES

Annexe

1. Milieu Muller Hinton (MH):

La gélose Mueller-Hinton est un milieu standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries peu exigeantes. Pour les bactéries exigeantes, comme, par exemple, les *Streptococcus*, les *Haemophilus*, *Neisseria meningitidis*, on utilise une gélose MH-F. La gélose MH-F est une gélose MH enrichie avec du sang défibriné de cheval et du β -NAD (facteur V des *Haemophilus*).

Hydrolysate acide de caséine (peptone) :	17 g
Extrait de viande :	2.0 g
Amidon :	1.5 g
Calcium :	20 mg a 25 mg
Agar :	15.0 g
pH = :	7,5 + / -0,2
Eau distillée :	1L

2.1. Gélose Sabouraud :

La gélose Sabouraud est un milieu recommandé pour la culture des champignons. La composition chimique théorique de ce milieu en g/L d'eau purifiée est :

Peptone de viande (bovin ou porcin) :	3
Peptone de caséine (bovin) :	3
Peptone de soja :	3
Extrait de levure :	2
Extrait de malt :	1
Glucose :	19
Phosphate monopotassique :	0.5
Phosphate disodique :	0.5
Agar :	13

Annexe

La présence de trois peptones et du glucose, ainsi que le pH acide du milieu favorisent la croissance des levures et des moisissures (Delarras, 2007).

Gélose Nutritive :	60 g/L
---------------------------	--------

Gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO) ou encore gélose ordinaire, est un milieu d'isolement non-sélectif dont la composition chimique théorique en g/L d'eau purifiée est : 10

Peptone	10
Extrait de viande :	5
Chlorure de sodium :	5
Gélose :	15
PH autoclaver 20min à 120°C (Guiraud) :	7.2

La préparation du bouillon nutritif est la même, sauf qu'il n'ya pas l'ajout de l'agar

2.2. Gélose Hektoen :

Protéose-peptone :	12.0 g
Extrait de levure : facteur de croissance :	3.0 g
Lactose : critère de différenciation :	12 g
Saccharose : critère de différenciation :	12 g
Salicine : critère de différenciation :	2.0 g
Citrate de ferIII et d'ammonium révélateur d'H2S :	1.5 g
Sels biliaires : inhibiteur :	9.0 g
Fuchsine acide : inhibiteur :	0.1 g
Bleu de bromothymol : indicateur de pH :	0.065 g
Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique:	5.0 g
Thiosulfate de sodium : précurseur d'H2S :	5.0 g
agar :	14 g

pH = :	7,5 ± 0,2
---------------	------------------

3. Colorants :

3.1. Violet de Gentiane :

Colorant utilisé pour la coloration de Gram, sa composition chimique par 100ml d'eau distillée est la suivante :

Violet de Gentiane :	1 g
Ethanol à 90% :	10 mg
Phénol (Guiraud, 1998) :	2 g

3.1. Lugol :

Iode :	1.0 g
Iodure de potassium :	2.0 g
Eau distillée (Guiraud, 1998) :	300 mg

3.1. Fuchsine :

Fuchsine basique :	1.0 g
Alcool éthylique à 90° :	10 ml
Phénol :	5 g
Eau distillée (Guiraud, 1998) :	100 ml



Photos de PPM mètre et de la prise de mesure de la concentration de l AC .**Chabane f.2023**