

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثلجي الأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme Master LMD

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Option : Microbiologie Appliquée

THÈME :

Évaluation des activités biologiques de matériaux fonctionnalisés à l'argent et zinc ou au cuivre

Présenté par :

M^{elle} ABIRAT Amel

M^{elle} AIMENE Yousra Sirine

Soutenu le 26/Juin / 2023 devant le jury composé de :

Présidente	Mme ALLAL Farida	MCA, Université Laghouat,
Examinatrice	Mme ABDESSELAM Amira	MAA, Université Laghouat,
Encadrante	Mme BENCHIKH Imen	MCA, Université Laghouat,
Co-encadrant	Mr KOUADRI Youcef	MCB, Université Laghouat,

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant d'avoir nous donner le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail

*Nous tenons à exprimer toute nos reconnaissance à nos encadrante de mémoire, **Dr.BENCHIKH Imen**. Nous la remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé ainsi nous remercions Co-encadrant **Dr.KOUADRI Youcef** pour votre précieuse collaboration et votre soutien tout au long de ce projet.*

*Nous tenons également à remercier chaleureusement la présidente **Dr.ALLAL Farida** pour votre investissement personnel dans l'évaluation de ce travail.*

*Nous remercions **Dr. ABDESSELAM Amira** d'avoir accepté d'examiné ce travail, nous sommes honorées d'avoir pu bénéficier de votre évaluation impartiale*

*Je remercie en particulier **Dr.BOUNOUALA Fatima Zohra**, Nous tenons à vous exprimer notre profonde gratitude pour avoir consacré votre temps précieux à nous guider, répondre à nos questions et nous offrir des conseils avisés.*

Je remercie également à tous membres de laboratoire, chercheurs, et ingénieurs pour leurs soutiens et leurs encouragements.

Dédicace:

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

A mes petites sœurs, que Dieu les protège

Je le dédie aussi à estimé mon professeur pour ses efforts qui ajoutent un bel éclat à mon travail

À mon ami dan.zo, qui était un bon compagnon et j'ai eu le plaisir de le connaître

A mes camarades de classe pour leur aide, et leurs encouragements.

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

Merci d'être toujours à mes côtés

Puisse ce travail être une réalisation de mon succès grâce à votre soutien continu.

YOUSRA

Dédicace :

Je dédie ce travail

A ma maman et mon papa qui m'ont soutenu et accompagné durant ces années scolaires.

J'espère qu'ils trouveront ici un témoignage de ma profonde gratitude.

A mes frères qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. .

A mon professeur pour ses efforts qui donnent une belle empreinte à mon travail

A tous mes amis et collègues qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès

AMEL

ملخص:

المادة هي مادة أساسية يتم اختيارها بسبب خصائصها المعينة ويتم تنفيذها لاستخدامات بيولوجية حسب الطبيعة الكيميائية والشكل الفيزيائي , يمكن ان تعمل الزيوليت والطين كعوامل مضادة للمكروبات بسبب العديد من الآليات مثل التبادل الأيوني والامتصاص الانتقائي للمركبات السامة وتغيير البيئة الميكروبية . توفر أسطحها المسامية مساحة كبيرة محددة , مما يعزز التفاعل مع الكائنات الحية الدقيقة وبالتالي يحسن من فعاليتها ضد الميكروبات .

احد الاستخدامات الرئيسية للزيوليت والطين في علم الاحياء الدقيقة هو تثبيط نمو البكتيريا المسببة للامراض , يمكن استخدامها لتنقية مياه الشرب عن طريق ازالة الملوثات او يمكن استخدامها كوسائط ترشيح للكائنات الدقيقة الأخرى ايضا . غالبًا ما تستخدم في شكل معاجين أو لصقات لعلاج الأمراض الجلدية مثل الالتهابات والحروق. تستخدم بشكل شائع في مستحضرات التجميل ومنتجات العناية بالبشرة نظرًا لخاصيتها في الامتصاص والتنقية ويمكن أيضًا استخدامها كوسيلة متنامية في الزراعة العضوية.

الكلمات المفتاحية :

طين ، نشاط مضاد للجراثيم ، مواد ، زيوليت

Résumé :

Matériaux est une substance de base choisie en raison de ses propriétés spécifiques et mise en œuvre pour des usages biologique en fonction de sa nature chimique et de sa forme physique.

Les zéolithes et les argiles peuvent agir comme agents antimicrobiens en raison de plusieurs mécanismes tels que l'échange d'ions, l'adsorption sélective de composés toxiques et l'altération de l'environnement microbien, leurs surfaces poreuses offrent une grande surface spécifique, ce qui améliore l'interaction avec les microorganismes et améliore ainsi leur efficacité contre les microbes.

L'une des principales utilisations des zéolithes et des argiles en microbiologie est d'inhiber la croissance des bactéries pathogènes, ils peuvent être utilisés pour purifier l'eau potable en éliminant les contaminants, ou ils peuvent également être utilisés comme média filtrant pour d'autres microorganismes, ils sont souvent utilisés sous forme de pâtes ou de pansements pour traiter les affections cutanées telles que les infections et les brûlures, ils sont couramment utilisés dans les cosmétiques et les produits de soin de la peau en raison de leurs propriétés absorbantes et purifiantes et peuvent également être utilisés comme support de culture dans l'agriculture biologique.

Les mots clés :

Argile , Activité antibactérienne , Matériaux , zéolite

Summary:

Materials are a basic substance chosen because of its specific properties and implemented for biological uses according to its chemical nature and its physical form.

Zeolites and clays can act as antimicrobial agents due to several mechanisms, such as ion exchange , selective adsorption of toxic compounds , and alteration of the microbial environment , their porous surfaces provide a large specific surface area , which improves the interaction with microorganisms and thus improves their effectiveness against germs ,One of the main uses of zeolites and clays in microbiology is to inhibit the growth of pathogenic bacteria , they can be used to purify drinking water by removing contaminants, or they can also be used as filter media for other microorganisms .

They are often used in the form of pastes or plasters to treat skin conditions such as infections and burns , it is commonly used in cosmetic and skin care products due to its absorbent and purifying properties and can also be used as a growing medium in organic farming .

Keywords:

Clay , Antibacterial activity, Materials , zeolite

Liste des abréviations

Ag₂SO₄ :Sulfate d' Argent

Al₂O₃ :Oxyde de aluminium

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CuSO₄ : Cuivre sulfate penta hydrate

DO : Densités optique

DRX :Diffraction des rayons X

ICDD : International Center for Diffraction Data

InVs :Institut de veille sanitaire

IR : Infra Rouge

IZA : International Zéolite Association

MEB :Microscopie électronique à balayage

MET :Microscopie électronique à transmission

MFI :Modernite Framework Inverted (Cadre modernité inversé)

Mg : Magnésium

MHA : Muller Hinton Agar

NaCl : chlorure de sodium

PVC : Polychlorure de vinyle

SHU : Syndrome hémolytique et urémique

Si : Silicium

SiO₂ : Oxyde de silicium

TO4 : Tétraèdres

UFC :Unités forment colonie

ZnSO₄: Zinc sulfate heptahydrate puriss

ZSM-5 : Zeolite Socony Mobil-5

Liste des figures

Titre	Page
Figure 1 : Exemple d'une structure bactérienne.....	3
Figure 2 : Différentes formes des bactéries.....	4
Figure 3 : Structures de la paroi chez les bactéries Gram négatif et Gram positif	5
Figure 4 : Courbe de la croissance bactérienne	6
Figure 5 : Cristaux et maille élémentaire de la zéolithe ZSM-5.....	9
Figure 6 : Éléments constructifs de la structure d'une zéolithe ZSM-5.....	11
Figure 7 : Canaux de la ZSM-5.....	12
Figure 8 : Diffractogramme de la ZSM-5 calciné (à droite) et non-calciné (à gauche).....	12
Figure 9 : Morphologie des cristaux ZSM-5.....	13
Figure 10 : Croissance de type « étoile » et « hérisson » pour la zéolithe ZSM-5.....	14
Figure 11 : Processus d'auto-assemblage des réactifs en solution menant au cristal.....	15
Figure 12 : Assemblage de cristaux de zéolithes sous la forme de « nanofrites ».....	16
Figure 13 : Dépôt de cristaux de la zéolithe MFI sur le monolithe. Visualisation MET des mésopores formés de 10 à 20 nm, au sein de la structure microporeuse.....	18
Figure 14 : Représentation de la structure minéralogique d'une particule d'argile.....	19
Figure 15 : Couche tétraédrique et octaédrique.....	20
Figure 16 : Purification de l'argile.....	25
Figure 17 : Protocole expérimental de la synthèse hydrothermale, utilisant TPABr comme agent structurant pour l'obtention de ZSM-5.....	26
Figure 18 : Diffractogrammes de la ZSM-5.....	28
Figure 19 : Spectres IR de la ZSM-5.....	28
Figure 20 : Milieux Hinton Agar (photo d'origine) ;2023.....	30
Figure 21 : Produits obtenus l'argile et zéolithes échangés (originale 2023).....	33
Figure 22 : Image de presse hydraulique manuelle(Originale 2023).....	33
Figure 23 : Four Pasteur.....	34
Figure 24 : protocoles de dilution	34
Figure 25 : protocole pour Mesure la densité optique des bactéries.....	35
Figure 26 : Ensemencement en masse dans la boîte de Pétri.....	35
Figure 27 : Image de l'appareil diffractomètre Brüker AXS D8.....	36

Figure28 : Image de l'appareil spectrophotomètre Bruker Vector 22.....	38
Figure29 : Test halo d'inhibition E. Coli, ZSM-5(original 2023).....	39
Figure 30 : Test halo d'inhibition E. Coli ,Zn ZSM-5(original 2023).....	40
Figure 31 : Test halo d'inhibition E. Coli ,Ag ZSM-5(original 2023).....	41
Figure 32 : Test halo d'inhibition E. Coli ,Cu ZSM-5(original 2023).....	41
Figure 33 : Test halo d'inhibition E. Coli, Cu Argile (original 2023).....	42
Figure 34 : Test halo d'inhibition E. Coli, Zn Argile (original 2023).....	43

Liste des tableaux

Titre	Page
<i>Tableau 1: Instruments utilisés pour les essais biologiques.....</i>	23
<i>Tableau 2 : Liste des produits utilisés.....</i>	24
<i>Tableau 3 Caractéristiques des différentes sources utilisées.....</i>	27
<i>Tableau 4: Composition chimique typique de ce milieu de culture.....</i>	29
<i>Tableau 5: Résultats des 2 souches de référence après coloration de Gram.....</i>	32
<i>Tableau 6 : Attribution et position des bandes de vibration des zéolithes MFI dans le domaine 4000-400 cm-1 en se référant à la classification de Flanigen.....</i>	37

SOMMAIRE

	Page
RESUME (en Arabe)	
RESUME (en Français)	
RESUME (en Anglais)	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

Chapitre I : Etude Bibliographique

1. Généralités sur les micro-organismes et les antimicrobiens	2
1.1. Bactéries, les infections bactériennes et la contamination	2
1.1.1. Structure des bactéries.....	2
1.1.2. Paroi.....	3
1.1.3. Flagelles et les pili.....	4
1.1.4. Différents modes de vie des bactéries.....	4
1.1.5. Croissance bactérienne.....	4
1.2. Infections bactériennes	6
1.2.1. Maladies causées par <i>E. Coli</i>	6
1.2.2. Maladies causée par <i>Staphylococcus aureus</i>	6
1.2.3. Facteurs influençant l'adhésion bactérienne.....	6
1.2.4. Facteurs liés à la surface du matériau.....	7
1.2.4.1. Nature chimique du matériau.....	7
1.2.4.2. Rugosité de la surface du matériau.....	7
1.2.4.3. Composition du milieu.....	7
1.3. Stratégies de lutte contre les contaminations bactériennes	8
2. Zéolithes	8
2.1. Zéolithe ZSM-5 " <i>Zeolite Socony Mobil-5</i> "	9
2.2. Morphologie des zéolithes de type <i>MFI</i>	12

2.3.Intérêts d'une élaboration maîtrisée du solide poreux (porosité hiérarchisée et taille de cristal appropriée).....	12
2.4.Synthèse contrôlée de zéolithes	13
2.4.1.Synthèse en milieu fluoré : design à l'échelle microscopique.....	13
2.5.L'auto-assemblage.....	14
2.6.Application des zéolithes dans le domaine biologique.....	15
2.6.1.Adsorption et séparation.....	15
2.6.2.Vecteurs de médicaments.....	16
2.6.3.Support de culture cellulaire.....	16
2.6.4.Biocatalyse.....	16
2.6.5.Filtration et purification.....	16
2.7.Croissance de zéolithes à la surface d'un monolithe et lits catalytiques structurés.....	16
3. Argile.....	17
3.1. Formation des argiles.....	18
3.2.Structure des argiles.....	19
3.2.1.Unité structurale tétraédrique.....	19
3.2.2.Unité structurale octaédrique.....	19
3.3 .Propriétés des argiles.....	20
3.4.Argile dans le domaine biologique.....	20
3.4.1. Usage médicinal.....	20
3.4.2.Soins de la peau.....	20
3.4.3.Adsorbant intestinal.....	20
3.4.4.Support de culture.....	20

ChapitreII : Matériel et Méthode

1 .Lieu de travail.....	22
2.Instruments.....	22
3.Produits utilisés.....	23
4.Microorganismes testés.....	23
5.Purification de l'argile de Maghnia.....	23
6.Protocole de synthèse pour l'obtention de ZSM-5.....	24
6.1.Bactéries à Gram positif.....	24
6.2. Bactéries à Gram négatif.....	25

6.3. Bactéries anaérobies.....	25
7. Protocole de la synthèse de ZSM-5.....	26
7.1. Diffraction des rayons X de la ZSM-5.....	26
7.2. Spectroscopie Infra Rouge (FT-IR) de la ZSM-5.....	27
8. Milieu de culture utilisé.....	28
9. Préparation de milieu de culture.....	29
10. Méthode de préparation.....	29
10.1. Conservation des souches.....	29
10.2. Méthode de conservation.....	29
10.2.1. Congélation (conservation à -70°C ou dans l'azote liquide à -196°C).....	30
10.2.2. Lyophilisation.....	30
10.3. Préparation de souches.....	30
10.4. Coloration de gram.....	30
10.4.1. Réactifs et colorants utilisés.....	30
10.4.2. Etapes de coloration.....	30
10.5. Ensemencement.....	31
10.5.1. L'ensemencement en surface.....	31
10.5.2. L'ensemencement de masse.....	31
11. Préparation l'argile échangée avec le cuivre et le zinc.....	31
12. Préparation la zéolithe échangée avec l'argent et le zinc.....	31
13. Pressage des matériaux obtenus.....	32
14. Stérilisation des disques.....	33
15. Préparation des suspensions bactériennes.....	33
16. Ensemencement en masse dans la boîte de Pétri.....	34
17. Méthode de caractérisation.....	34
17.1. Diffraction de rayons X.....	34
17.2. Spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier.....	36
<i>Chapitre III : Resultat et Discussion</i>	
1. Test de l'inhibition de croissance des bactéries par ZSM-5.....	38
2. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par ZSM-5 échangé par Zinc.....	39
3. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par ZSM-5 échangé par Argent.....	40
4. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par ZSM-5 échangé par cuivre.....	40

5 .Test de l'inhibition de croissance de bactérie par l'argile échangé par cuivre.....	41
6.Test de l'inhibition de croissance de bactérie par l'argile échangé par zinc.....	42
Conclusion	43
.....	44

Référence

Introduction

Les zéolithes et les argiles sont des matériaux naturels qui ont suscité un intérêt croissant dans le domaine de la microbiologie en raison de leurs propriétés uniques et de leurs applications diverses. Les zéolithes sont des minéraux aluminosilicates microporeux qui possèdent une structure cristalline régulière et une grande capacité d'échange d'ions. Les argiles, quant à elles, sont des minéraux en feuilles composés de silicates d'aluminium et d'autres éléments, présentant une structure en couches. Ces matériaux sont largement disponibles et ont été utilisés depuis longtemps dans divers domaines, notamment la catalyse, la purification de l'eau et l'adsorption de gaz [1]. Plus récemment, ils ont trouvé des applications prometteuses dans le domaine de la microbiologie. Dans le domaine de la microbiologie, les zéolithes et les argiles ont démontré des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens. Leurs propriétés physiques, chimiques et structurales uniques leur permettent d'interagir avec les microorganismes de différentes manières, inhibant leur croissance, et leur survie.[2-4].

Dans le but de réaliser ce travail, une étude a été menée au laboratoire de chimie des matériaux de l'université d'Oran 1 pour évaluer l'impact des paramètres expérimentaux impliqués dans les principales étapes de la fabrication de ces matériaux, notamment la synthèse hydrothermale de la ZSM-5 et la purification de l'argile de Maghnia.

Le premier chapitre aborde les matériaux microporeux et macroporeux, en mettant l'accent sur les zéolithes et l'argile, avec un rappel historique sur ces matériaux et plus spécifiquement sur le type MFI, tel que le ZSM-5 et l'argile. Le mécanisme de formation de ce matériau de type MFI est ensuite présenté. De plus, l'utilisation de ces zéolithes et les argiles comme agents antimicrobiens est également discutée.

Le deuxième chapitre décrit les équipements utilisés pour l'analyse des matériaux, ainsi que les instruments biologiques employés. Les principes et les conditions expérimentales des différentes techniques de caractérisation utilisées dans cette étude sont également expliqués.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus après une revue bibliographique des principales méthodes utilisées en tant qu'agents antibactériens, dont certaines ont été testées et discutées dans le cadre de cette étude.

Enfin, une conclusion présente les principaux résultats ainsi que les perspectives de ce travail.

Chapitre I [Etude Bibliographique]

1. Généralités sur les micro-organismes et les antimicrobiens :

Le terme agent antibactérienne désigne toute substance utilisée pour détruire les bactéries ou empêcher leur croissance, Certains agents physiques ou chimiques sont les premiers capables d'assurer leur destruction et d'empêcher en même temps la transmission des maladies infectieuses. Les bactéries ne sont pas seulement nuisibles pour l'homme et l'animal ; de nombreuses substances et de nombreux matériaux - peuvent être détruits ou altérés sous l'effet de leur multiplication. [5].

1.1. Bactéries, les infections bactériennes et la contamination :

Pour faire face aux problèmes de bio contamination des surfaces et aux résistances bactériennes, l'élaboration de matériaux antibactériens s'est révélée être une stratégie intéressante .Avant de voir l'état de l'art de la conception de ces matériaux et les travaux réalisés au cours de cette thèse, une présentation est dédiée aux généralités sur les bactéries, les maladies infectieuses, et la contamination des surfaces.

1.1.1. Structure des bactéries :

Les bactéries sont parmi les plus anciens et les plus abondants êtres vivants sur terre. Ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Les cellules bactériennes sont entourées par une membrane plasmique doublée d'une paroi. A l'intérieur de la cellule, se trouve le matériel génétique, composé d'un chromosome bactérien circulaire (**Figure 1**).

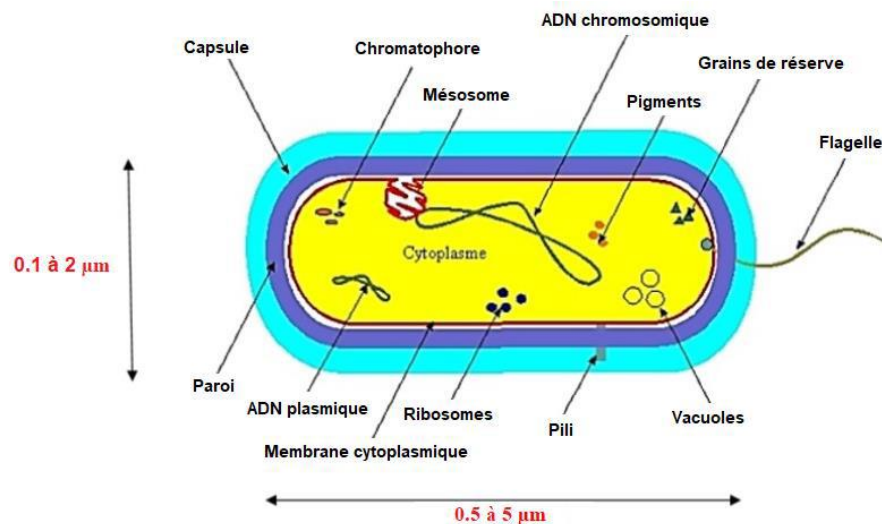


Figure 1 : Exemple d'une structure bactérienne [6]

La plupart des bactéries sont soit sphérique (en forme de coque, **Figure 2.a**), comme

Staphylococcus aureus, soit allongée (en forme de bacille, **Figure 2.b**), comme *Escherichia coli*. Il existe également des bactéries spiralées du genre tréponème (**Figure 2.c**).



Figure 2 : *Différentes formes des bactéries*

1.1.2. Paroi :

Un élément important de la structure des bactéries est leur paroi cellulaire. C'est une structure rigide qui est à l'origine de la forme de la cellule bactérienne et la protège des variations de pression osmotique. La coloration de Gram permet de les diviser en deux groupes bactériens, en se basant sur la différence de la structure et de la composition chimique de cette paroi On distingue (**Figure 3**) :

- Les bactéries Gram négatif (**Gram -**) : Leur paroi possède un peptidoglycane fin localisé en-dessous d'une bicouche phospholipidique. (Exemple : *Escherichia coli*).
- Les bactéries Gram positif (**Gram +**) : Leur paroi est composée essentiellement d'un peptidoglycane ou muréine épais. (Exemple : *Staphylococcus aureus*)

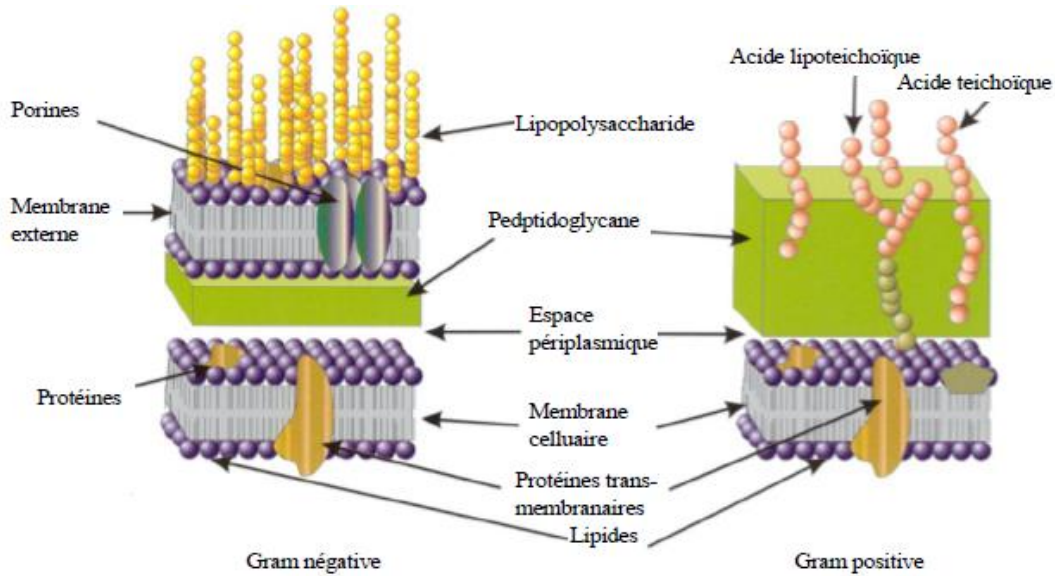


Figure 3 : Structures de la paroi chez les bactéries Gram négatif et Gram positif [7]

1.1.3. Flagelles et les pili :

Certaines bactéries sont mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles. Leur longueur est variable et peut atteindre jusqu'à dix fois le diamètre de la cellule bactérienne. Elles permettent à la bactérie de se déplacer vers des milieux où les conditions de croissance sont plus favorables.

Les pili sont des excroissances de la membrane de certains genres de bactéries, comme *P. aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae* et certaines souches d'*E. coli*, qui leur permettent de se mouvoir et d'adhérer à un substrat [8]. Il existe également des pili dont le rôle est le transfert d'information génétique au cours de la conjugaison.

1.1.4. Différents modes de vie des bactéries :

Selon les conditions environnementales, les bactéries peuvent être présentes dans deux états, soit à l'état végétatif, durant lequel la bactérie peut se multiplier, ou à l'état de repos, caractérisé par un minimum d'échanges avec le milieu extérieur assurant la survie bactérienne, sans multiplication.

1.1.5. Croissance bactérienne :

La croissance chez les bactéries peut se traduire par une augmentation du volume de la cellule bactérienne, mais elle conduit le plus souvent à une multiplication de cellules.

Les bactéries se multiplient par fusion binaire d'une cellule en phase de croissance

active, avec partage équivalent du matériel génétique. Ce qui donne naissance à deux cellules filles identiques à la cellule mère. Au cours de la croissance, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et, d'autre part, un enrichissement en sous-produits du métabolisme. Il existe cinq phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance [9] (Figure 4).

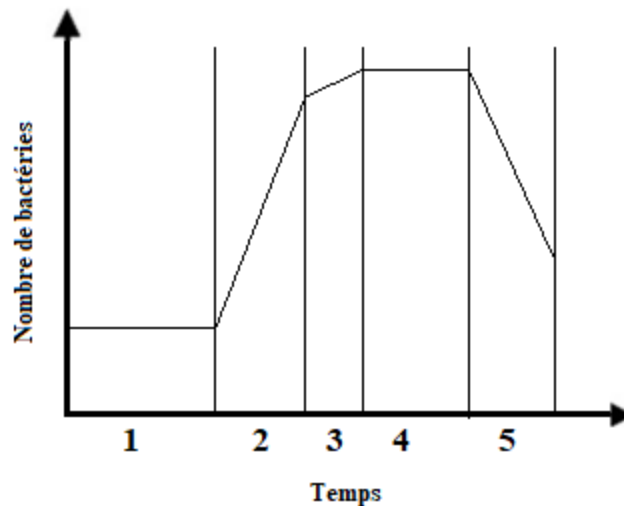


Figure 4 : Courbe de la croissance bactérienne [9]

1. **Phase de latence (1)** : La durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à la bactérie pour s'adapter au nouveau substrat. Durant cette phase, le taux de croissance correspondant au nombre de division par unité de temps, est nul.
2. **Phase exponentielle de croissance (2)** : Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante. Le taux de croissance atteint son maximum.
3. **Début de la phase stationnaire (3)** : Elle correspond au début de l'épuisement des nutriments du milieu et de l'accumulation des déchets. La vitesse de croissance diminue.
4. **Phase stationnaire (4)** : Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent, et synthétisent des protéines de manque qui rendent la cellule plus résistante aux dommages. Le taux de croissance devient nul.
5. **Phase de déclin (5)** : Les ressources nutritives sont épuisées, les métabolites toxiques s'accumulent et le nombre d'organismes viables diminue. Le taux de croissance est négatif. En situation de stress ou de carence, les bactéries

peuvent adopter deux types de stratégie, soit elles passent à une forme de résistance métaboliquement inactive. C'est le cas des bactéries du genre *Bacillus* qui forme des spores, soit elles développent des systèmes de régulation en adaptant leur métabolisme pour faire un maximum d'économie. C'est le cas d'*E. coli*.

1.2. Infections bactériennes :

Une infection nosocomiale fait partie des infections associées aux soins, contractée au cours d'une hospitalisation. D'après une étude de l'institut de veille sanitaire (InVs) datant de 2015, un patient hospitalisé sur dix contracte une infection dans l'établissement où il est soigné.

Trois bactéries représentent la moitié des germes isolés dans le cadre d'infections nosocomiales [10] :

- *Escherichia coli* (26%), qui vit naturellement dans le tractus intestinal
- *Staphylococcus aureus* (16%), présent dans la muqueuse du nez et de la gorge
- *Pseudomonas aeruginosa* (8,4%), qui se développe dans les sols et en milieu humide (robinets, tuyauteries...)

1.2.1. Maladies causées par *E. coli* :

Parmi les souches pathogènes, les *E. coli* entérohémorragiques sont responsables de troubles variés, allant d'une diarrhée bénigne à des formes plus graves comme des diarrhées hémorragiques pouvant évoluer vers des atteintes rénales sévères telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU).

1.2.2. Maladies causée par *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est l'espèce de staphylocoques la plus dangereuse. La plupart des maladies staphylococciques impliquent une invasion directe des tissus et causent des infections de la peau, des infections sur cathéter IV et des tissus mous, des pneumonies, des endocardites, ou des ostéomyélites.

1.2.3 Facteurs influençant l'adhésion bactérienne :

Le processus d'adhésion est un processus très complexe qui résulte de nombreux facteurs, comme les propriétés de surface bactérienne ou certaines caractéristiques de

surface du matériau cible. L'environnement influence également cette adhésion [11].

1. 2 .4. Facteurs liés à la surface du matériau:

Pour étudier l'adhésion bactérienne sur un matériau, il est important de prendre en compte sa nature chimique, sa géométrie, son hydrophobie, ainsi que la rugosité et la charge de sa surface.

1.2.4.1. Nature chimique du matériau :

Dans la littérature, des comportements bactériens différents ont été établis selon la nature chimique du matériau et donc de sa surface [12]. Almaguer-Flores et coll. [13] ont étudié l'adhésion de *S. aureus* et *E. coli* sur des surfaces à base de zinc sulfate heptahydrate puriss ($ZnSO_4$) et de sulfate d'argent (Ag_2SO_4). L'adhésion de ces bactéries sur le $ZnSO_4$ a été faible par rapport à l'adhésion sur l' Ag_2SO_4 . La plus grande quantité de bactéries adhérentes aux surfaces d' Ag_2SO_4 s'explique par la nature de cette surface. Cette dernière possède des sites de charge positive qui pourraient interagir avec la charge négative de la bactérie.

1.2.4.2. Rugosité de la surface du matériau :

Des études réalisées par Wilson-Nieuwenhuis et coll. [14] sur le polychlorure de vinyle (PVC) ont montré que, plus la surface est rugueuse plus l'adhésion bactérienne est favorisée. En effet, une surface rugueuse augmente la surface de contact entre le matériau et les cellules bactériennes. De plus, les irrégularités du matériau constituent des sites d'implantation bactérienne plus favorables, car moins soumis aux facteurs exogènes tels que les courants de surface (courant d'air, d'eau...) [15].

1.2.4.3. Composition du milieu :

La présence de molécules organiques comme les protéines, adsorbées au préalable sur une surface, influence l'adhésion des microorganismes. Ils peuvent favoriser ou non cette adhésion [16]. En effet, ces protéines peuvent servir de nutriments ou de récepteurs pour les bactéries, elles peuvent également limiter l'interaction entre la surface et les cellules bactériennes [17]. Elles peuvent modifier la charge, la rugosité ainsi que l'hydrophobie de la surface.

En concluant que l'adhésion bactérienne sur une surface est multifactorielle et les

mécanismes mis en jeu sont complexes. La compréhension des différents paramètres permet de mettre en place des stratégies pour résoudre les problèmes d'adhésion et de croissance bactérienne.

1.3. Stratégies de lutte contre les contaminations bactériennes :

Malgré la fixation de consignes sanitaires et de règles d'hygiène dans les milieux publics (désinfection et stérilisation), les matériaux sont sujets à des contaminations conduisant à la formation de biofilm. De nombreux traitements existent déjà, mais l'apparition de résistances bactériennes à certains traitements, a orienté les travaux de recherche vers le développement de matériaux bioactifs comme traitement préventif. Dans cette optique, de nombreux chercheurs ont mis au point des supports antibactériens. L'objectif est de limiter l'adhésion ou la croissance microbienne par modification chimique ou physique des surfaces, grâce au dépôt ou au greffage de molécules biocides.

2. Zéolithes

Les zéolithes sont des tamis moléculaires qui possèdent des canaux et des cages interconnectés de 0,2 à 2 nm de diamètre formant de magnifiques structures cristallines (**figure 5**).

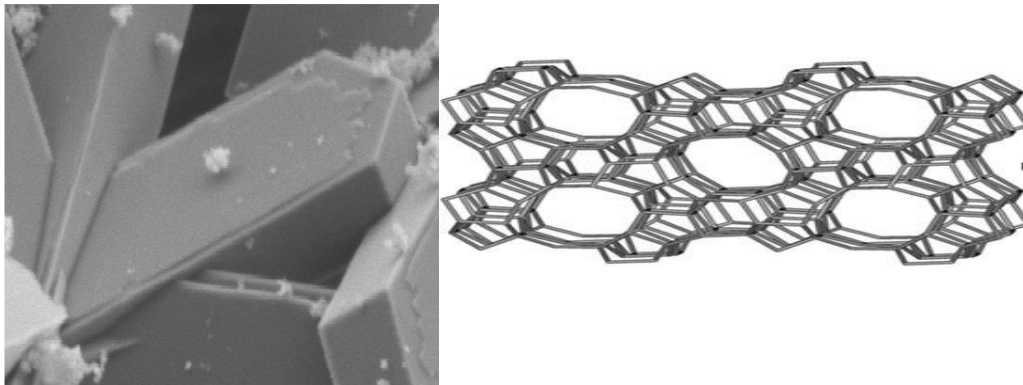


Figure 5 : *Cristaux et maille élémentaire de la zéolithe ZSM-5. [18]*

En vertu de leur structure microporeuse particulière, ces aluminosilicates cristallins sont utilisés dans différents secteurs de la vie courante. Les zéolithes peuvent effectivement être utilisées dans le domaine domestique comme adoucisseur d'eau dans les lessives, dans l'emballage d'aliments, dans la purification de l'eau (tamis moléculaire) ou dans les litières pour chat. Elles sont également présentes dans nos habitations sous la forme

d'additif dans les matériaux de construction [19][20].

Les zéolithes sont des minéraux poreux cristallins. Ce sont généralement des aluminosilicates que l'on trouve dans les bassins sédimentaires et dans des régions volcaniques. Elles furent découvertes pour la première fois par le minéralogiste suédois *Cronstedt* [21]. Observant que, chauffée, la stilbite (une roche ou pierre) semblait bouillir, il proposa alors l'appellation « zéolithe » qui provient du grec « *zéo*: bouillir » et « *lithos* : pierre ». Depuis, des dizaines de zéolithes naturelles ont été découvertes. Les zéolithes appartiennent à la famille des tectosilicates. Leur structure cristalline tridimensionnelle résulte de l'agencement de tétraèdres TO_4 («*T*» étant un atome à coordinence tétraédrique représentant généralement les éléments *Si* et *Al*) deux tétraèdres adjacents partageant un même atome d'oxygène.

Près de 70 % des applications des zéolithes reposent sur leur capacité d'échange de cations. Ces matériaux ont ainsi été utilisés lors de la catastrophe de Tchernobyl, afin de piéger l'isotope ^{137}Cs radioactif par échange d'ion avec le sodium présent au sein de la structure poreuse. Ces solides microporeux ont également servi d'absorbant de molécules gazeuses dans le télescope Hubble et de dioxyde de carbone au sein des stations spatiales. Il est à noter que seulement 15 % de la production totale de zéolithes est employée à des fins catalytiques. Grâce à leur structure poreuse extrêmement organisée, leur forte acidité (à la fois de Brønsted et de Lewis) et la possibilité d'introduire différents cations métalliques, ces matériaux peuvent être employés en catalyse acide (raffinage, réaction de Friedel-Crafts), dans des réactions d'oxydation (transformation du benzène en phénol), ou encore comme catalyseur bifonctionnel. Dans ce dernier cas, c'est à la fois le cation métallique et la fonction acide qui interviennent dans la réaction [22].

2. 1. Zéolithe ZSM-5 "Zeolite Socony Mobil-5":

Parmi les zéolithes, un type a retenu l'attention, en l'occurrence la ZSM-5, en raison de leurs propriétés particulières dans de nombreux procédés industriels, tels le déparaffinage des huiles lourdes [23].

Ces propriétés dues à la sélectivité de forme au niveau des réactifs, des complexes intermédiaires ou des produits de réaction [24], dépendent de la dimension, de la géométrie des canaux et de la morphologie des cristaux (taille et forme). Ces paramètres

ainsi que le degré de cristallinité et la pureté de la zéolithe obtenue dépendent d'un certain nombre de facteurs cités auparavant l'alcalinité[25], la température [26], le temps de cristallisation et nature des réactifs[27], le type et la teneur en cations alcalins[28], la composition chimique du mélange réactionnel [29] et la méthode de préparation [30]. La zéolithe ZSM-5 (MFI) "Zéolite Socony Mobil 5" a pour formule générale :

$$Na_n[Al_nSi_{96-n}O_{192}] \approx 16H_2O \text{ avec } n < 8.$$

Elle a été synthétisée pour la première fois en 1972 par Argauer et Landolt. La zéolithe brute de synthèse (zéolithe qui contient le structurant organique) cristallise dans le système orthorhombique (groupe d'espace $Pnma$) avec les coordonnées suivantes :

$$a = 20,022 \text{ \AA}, b = 19,899 \text{ \AA}, c = 13,383 \text{ \AA}, \text{ avec } \alpha = \beta = \gamma = 90^\circ.$$

Après calcination et lorsque le rapport Si/T est supérieur à 80, la symétrie devient monoclinique (groupe d'espace $P21/n$) :

$$a = 19,879 \text{ \AA}, b = 20,107 \text{ \AA}, c = 13,369 \text{ \AA}, \text{ avec } \alpha = \gamma = 90^\circ, \beta = 90,67^\circ.$$

La structure de type MFI est composée de deux types de canaux interconnectés dont les ouvertures sont constituées de cycles à 10 tétraèdres (**Figure 6**).

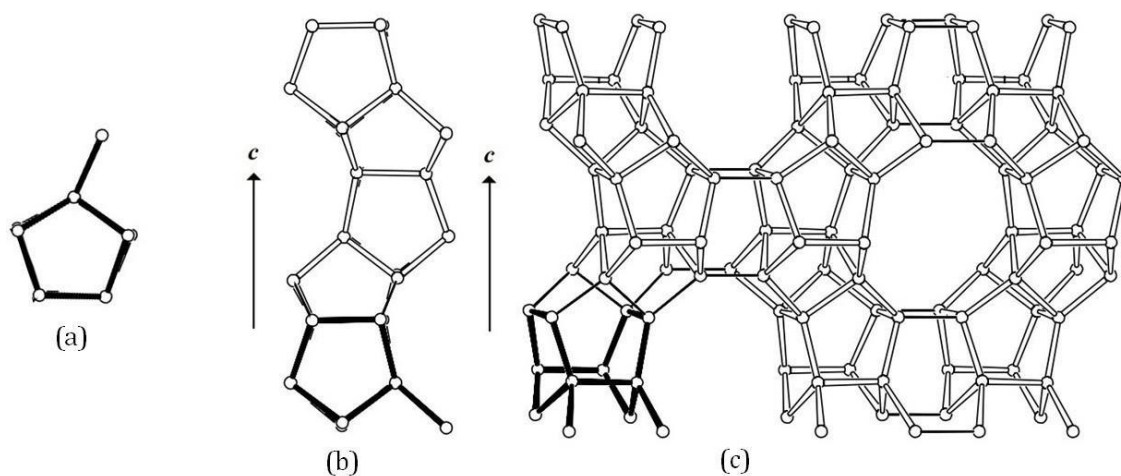


Figure 6 :Éléments constructifs de la structure d'une zéolithe ZSM-5.

Des canaux rectilignes orientés parallèlement à l'axe b , avec des ouvertures pratiquement circulaires, de diamètre compris entre 5,4 et 5,6 Å sont perpendiculaires à des canaux sinusoïdaux (ou en zigzag) disposés dans le plan (a,c) .

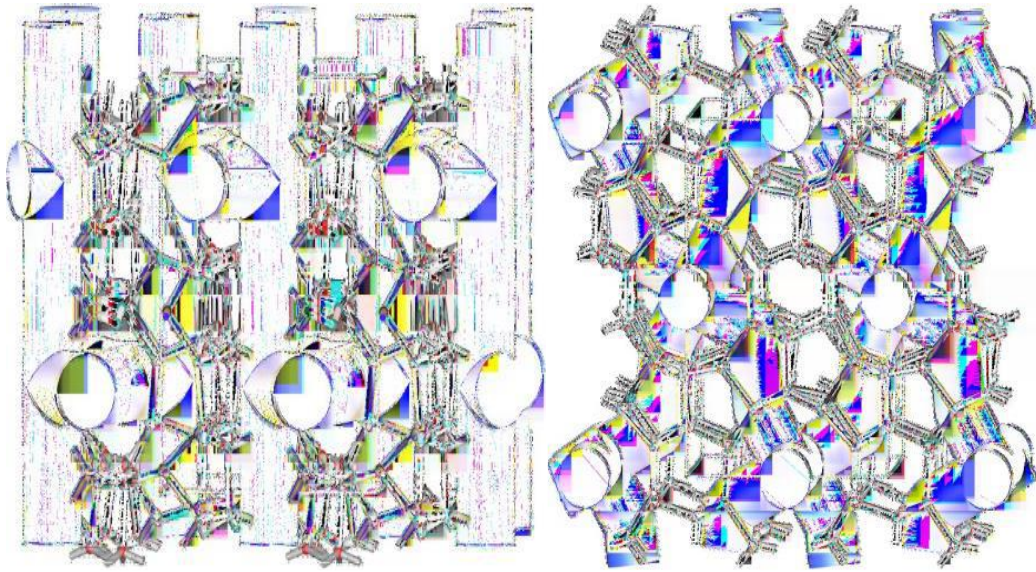


Figure 7: Les Canaux de la ZSM-5.

Ce matériau possède un diagramme de diffraction des rayons X bien spécifique, avec un agent structurant le "bromure de tétrapropylammonium" est représenté sur la (Figure 8).

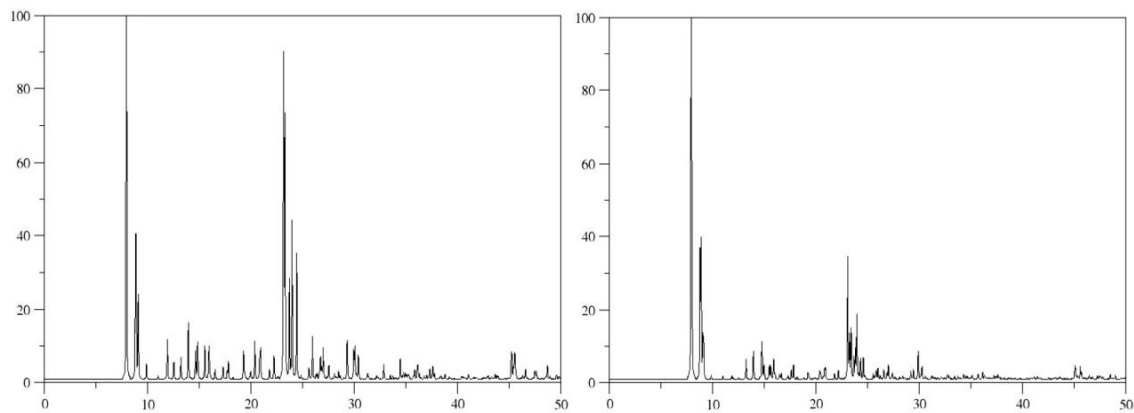


Figure8 : Diffractogramme de la ZSM-5 calciné (à droite) et non-calciné (à gauche)

[31].

L'analyse par diffraction des rayons X (DRX), montre que les pics caractéristiques de la zéolithe MFI de type ZSM-5 optimisée se situent dans les régions 2θ (6-10°) et 2θ (22-24°). Pour les produits synthétisés la région 2θ (22-24°) présente des intensités plus élevées par rapport à la région 2θ (6-10°), Après calcination (départ du structurant organique à 550 °C pour une durée de quelques heures, les pics de DRX de faible 2θ (6-10°) se trouvent plus exaltés, ceci est dû peut être au fait que le structurant organique est

occlus dans cette région à des distances inter réticulaires plus élevées, son départ de la structure de la zéolithe permet une meilleure diffraction des rayons X dans cette région. Le doublet et le triplet, situés respectivement entre 7-9° et 22-25°, sont caractéristiques de la zéolithe *ZSM-5*, Aucune autre phase cristalline n'est apparente. Cette caractérisation nous a permis d'identifier tous les plans de diffraction de la *ZSM-5*, à partir desquels nous allons déterminer les paramètres de maille.

2.2. Morphologie des zéolithes de type *MFI* :

Les zéolithes *MFI* se composent de cristallites de forme et de dimension très variables, selon les conditions de synthèse. Les cristallites peuvent être distinctes, agglomérées, sous forme d'agrégats plus ou moins arrondis... Il n'existe pas de morphologie type, même si l'une d'entre elles, présentée sur la **Figure 9** est souvent mentionnée dans la littérature [32].

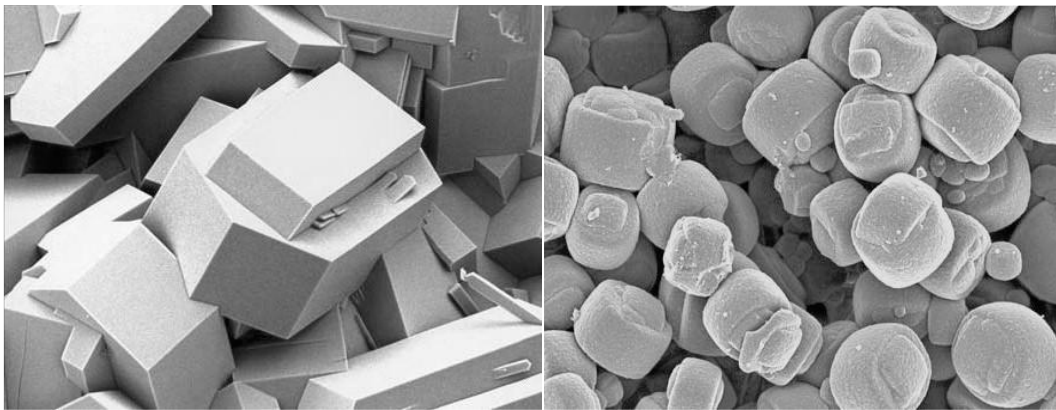


Figure 9 : Morphologie des cristaux *ZSM-5* [32].

2.3. Intérêts d'une élaboration maîtrisée du solide poreux (porosité hiérarchisée et taille de cristal appropriée) :

La synthèse et l'application des matériaux poreux cités précédemment symbolisent la quête du chercheur dans le contrôle du monde physique au niveau atomique. En effet, la maîtrise des conditions de synthèse et un choix judicieux de la nature des réactifs permettent de modifier la structure cristalline des zéolithes et des silices mésoporeuses. Ces modifications engendrent des variations importantes de leurs propriétés intrinsèques: taille des pores, teneur en ions, acidité. Ainsi par exemple, la conception à dessein de zéolithes comme catalyseurs façonnés à l'échelle de la molécule mais aussi à celle du cristal, voire même à celle du réacteur, devient possible pour satisfaire une

application particulière.

2.4. Synthèse contrôlée de zéolithes

2.4.1. Synthèse en milieu fluoré : design à l'échelle microscopique :

Développée à Mulhouse dans les années 80 par Guth et Kessler [33], la synthèse en milieu fluoré est basée sur le remplacement des ions hydroxyles dans la synthèse de matériaux microporeux par des anions fluorures. Cette voie atypique présente de nombreux avantages tels qu'une facilité d'obtention de la structure désirée, la formation de cristaux plus larges présentant moins de défauts, la possibilité de préparer de nouveaux matériaux, l'introduction d'éléments peu solubles en milieu basique et une obtention de la forme acide par simple calcination. La taille des cristaux de zéolithes peut ainsi être modulée en fonction des applications visées : petits cristaux (0,1 à 1 μm) pour une réaction affectée par les phénomènes de diffusion, ou cristaux plus larges (10 à 100 μm) mieux appropriés dans l'industrie des pigments par exemple.

L'étude de la formation des cristaux en milieu fluorure nous a récemment permis de développer des arrangements microscopiques originaux et spectaculaires de cristaux. En outre, l'élaboration sur mesure d'un cristal de taille définie, associée à un arrangement microscopique de ces cristaux en diverses morphologies, pourrait favoriser la diffusion des réactifs/produits, mais aussi induire des propriétés hydrophiles/hydrophobes particulières. La **figure 10** présente nos premiers résultats dans lesquels des modes de croissance de type « étoile » (ou rose des sables) et « hérisson » ont été observés [34].

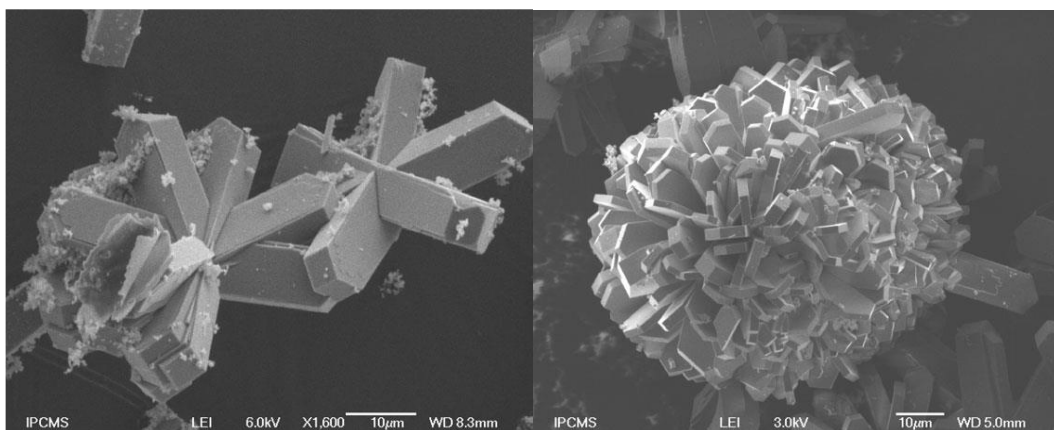


Figure 10 : Croissance de type « étoile » et « hérisson » pour la zéolithe ZSM-5,[34].

2.5.L'auto-assemblage :

Le design rationnel de nouveaux matériaux zéolithiques présentant des propriétés souhaitées commence par la compréhension du processus d'auto-assemblage supramoléculaire des briques de construction en solution (**figure 11**, [35]). Cette étape prépondérante permet le contrôle de la structure et de la texture du matériau.

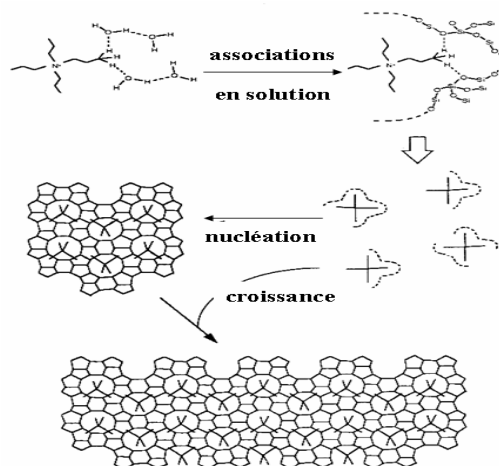


Figure 11 : Processus d'auto-assemblage des réactifs en solution menant au cristal [35].

Une partie de notre recherche vise à corrélérer l'architecture moléculaire d'une zéolithe, c'est-à-dire son assemblage microscopique, avec ses propriétés catalytiques. L'étude de la croissance de type « étoile » ou « rose des sables » de cristaux de la zéolithe ZSM-5 en milieu fluoré a permis de clarifier le rôle des différents éléments constitutifs de la zéolithe lors du processus d'auto-assemblage. Par ailleurs, nous avons développé une voie de synthèse originale basée sur la transformation et la recristallisation de la surface d'un support contenant du silicium, conduisant à la formation de nanocristaux de zéolithes qui s'auto-arrangent. Cette voie de synthèse atypique de cristaux auto-organisés sans ajout d'un agent extérieur de type surfactant, ou protéine, a fait l'objet de nombreuses publications par Louis *et coll.* [36][37]. Finalement, en s'inspirant de cette stratégie, mais aussi des brillants travaux de Svetlana Mintova et Valentin Valtchev[38][39], une nouvelle classe d'acides solides ayant des propriétés de transfert de masse améliorées a ainsi été conçue. L'obtention de ces nouveaux acides solides est donc basée sur la préparation d'un gel de synthèse produisant des nanocristaux, et impliquant un support amorphe ou peu cristallin contenant du silicium (verres, végétaux,

cordiérite) qui va se recristalliser en une structure zéolithique désirée. Cette nouvelle approche de synthèse de zéolithes est illustrée dans la **figure 12** qui représente un cliché de microscopie électronique à balayage (MEB) de cristaux ayant la forme de nanobâtonnets ou « nanofrites ». L'avantage et à la fois l'inconvénient de cette stratégie résident dans la difficulté de prévoir la structure obtenue, car les concentrations des divers précurseurs présents dans le gel de synthèse diffèrent au voisinage du substrat contenant du silicium. La concentration des silicates en solution peut notamment varier, ce qui entraîne la formation d'une autre structure métastable.

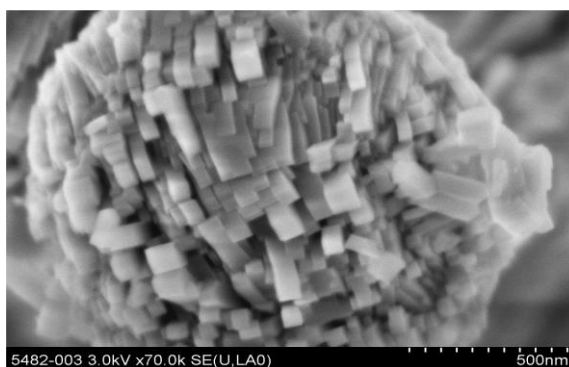


Figure 12 : Assemblage de cristaux de zéolithes sous la forme de « nanofrites ».

2.6. Application des zéolithes dans le domaine biologique :

Les zéolithes sont utilisées dans le domaine biologique pour l'adsorption et la séparation de molécules, la délivrance de médicaments, le support de culture cellulaire, la biocatalyse et la filtration/purification. Leurs propriétés uniques en font des matériaux polyvalents pour une large gamme d'applications biologiques. Dans le domaine biologique, les zéolithes sont utilisées de différentes manières :

2.6.1. Adsorption et séparation : Les zéolithes peuvent adsorber sélectivement certaines molécules biologiques. Elles sont utilisées pour séparer des mélanges complexes de molécules biologiques, tels que des protéines, des enzymes ou des acides nucléiques, en exploitant leurs propriétés de tamis moléculaire. Les zéolithes peuvent également être utilisées pour éliminer les métaux lourds et les contaminants organiques des solutions biologiques.

2.6.2. Vecteurs de médicaments : Les zéolithes peuvent être utilisées comme

vecteurs pour la délivrance de médicaments. Leurs propriétés d'adsorption leur permettent de piéger et de libérer des molécules médicamenteuses de manière contrôlée. Les zéolithes peuvent être encapsulées avec des médicaments et administrées pour une libération prolongée dans le corps, améliorant ainsi leur efficacité thérapeutique.

2.6.3. Support de culture cellulaire : Les zéolithes peuvent servir de support pour la culture cellulaire. Leurs propriétés de surface et leur structure poreuse offrent un environnement propice à la croissance cellulaire et à l'adhérence des cellules. Les zéolithes peuvent être utilisées pour la culture de divers types de cellules, y compris les cellules souches, les cellules cancéreuses et les cellules bactériennes.

2.6.4. Biocatalyse : Les zéolithes peuvent être utilisées comme support pour des enzymes et des catalyseurs biologiques. Elles permettent de stabiliser les enzymes et d'améliorer leur stabilité et leur activité catalytique. Les zéolithes sont utilisées dans des réactions biocatalytiques telles que la conversion de substrats chimiques en produits spécifiques.

2.6.5. Filtration et purification : Les zéolithes sont utilisées pour la filtration et la purification de l'eau, en éliminant les contaminants et les impuretés. Elles peuvent également être utilisées pour la filtration de l'air en capturant les polluants et les particules nocives.

2.7. Croissance de zéolithes à la surface d'un monolithe et lits catalytiques structurés :

Le principal challenge de notre étude consiste à coupler le contrôle de la taille et de l'assemblage des cristaux à l'échelle microscopique, à une porosité hiérarchisée au sein du cristal. Ainsi, la croissance de cristaux de zéolithes de différentes structures cristallines à la surface de monolithes en verre possédant déjà une méso porosité et une Macroporosité contrôlées a été effectuée. Image de microscopie électronique à transmission (MET) qui illustre la méso structure hexagonale.

La croissance de cristaux prismatiques de la zéolithe ZSM-5 à la surface du verre mésoporeux a engendré la présence de mésopores de 10-20 nm au sein du réseau microporeux de la zéolithe (**figure 13**).

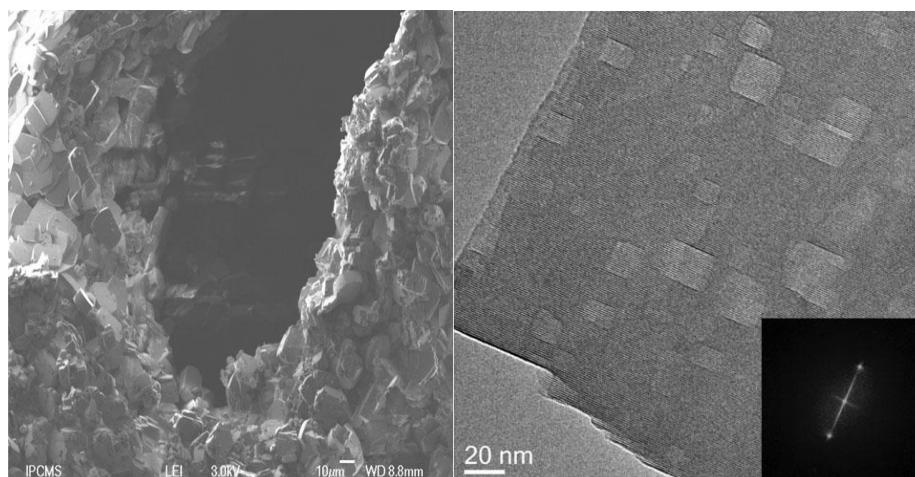


Figure 13 : *Dépôt de cristaux de la zéolithe MFI sur le monolithe.*

Visualisation MET des méso pores formés de 10 à 20 nm, au sein de la structure Microporeuse [37].

La maîtrise des conditions expérimentales au cours de la synthèse nous a ensuite permis de préserver (en partie du moins) la structure macroscopique du monolithe en verre et ainsi de combiner micro-, méso- et macroporosité au sein de ce composite zéolithe/verre. Notre approche permet donc de conserver l'usage de ce composite à l'échelle d'un réacteur dont la forme et la taille sont modifiables à souhait. Le développement de ces lits catalytiques structurés formés par des zéolithes mésoporeuses vise à favoriser la diffusion des réactifs et des produits [40]. Ainsi, les avantages hydrodynamiques conférés par la structure monolithique sont préservés : réduction des pertes de charge au travers du lit catalytique, distribution homogène du flux, amélioration des transferts de masse et de chaleur. De plus, cette méthode permet de combiner un design du matériau à l'échelle microscopique (taille, assemblage des cristaux, porosité hiérarchisée) avec une structuration au niveau macroscopique, celui du réacteur. Un solide poreux hiérarchisé à la fois aux niveaux moléculaire et microscopique, couplé à une conception sur mesure à l'échelle du réacteur, devrait engendrer des propriétés catalytiques optimales.

3. Argile

Les argiles sont des minéraux composés principalement de silicates d'aluminium hydratés, associés à d'autres éléments tels que le fer, le magnésium, le calcium, le sodium et le potassium. Elles sont caractérisées par leur texture fine et leur plasticité

lorsqu'elles sont humidifiées. Les argiles se forment généralement par l'altération des roches contenant des minéraux argileux, tels que les feldspaths, les micas et les roches volcaniques.

Les argiles possèdent plusieurs caractéristiques remarquables. Elles ont une grande capacité d'absorption d'eau, ce qui leur confère une plasticité qui permet de les façonner facilement. Elles présentent également une réactivité chimique, notamment en ce qui concerne les échanges d'ions et les réactions avec d'autres substances. De plus, les argiles peuvent former des structures cristallines complexes, telles que des feuillets empilés, qui leur confèrent des propriétés telles que la cohésion, la résistance à la compression et la capacité de rétention d'eau.[41].

Les argiles sont des minéraux silicatés hydratés, caractérisés par leur texture fine, leur plasticité, leur réactivité chimique et leurs propriétés physiques uniques. Ils jouent un rôle important dans de nombreux domaines de la vie quotidienne et de l'industrie en raison de leurs caractéristiques spécifiques.

3.1. Formation des argiles :

Les argiles ont une origine géologique secondaire [42], elles ont été formées par la dégradation des roches ignées (volcaniques) dues à des phénomènes d'érosion et d'altération chimique sous l'action des agents atmosphériques. La nature des produits argileux formés dépendra la nature de la roche mère et des conditions climatiques et du drainage. Le schéma ci-dessous montre la formation des matières argileuses

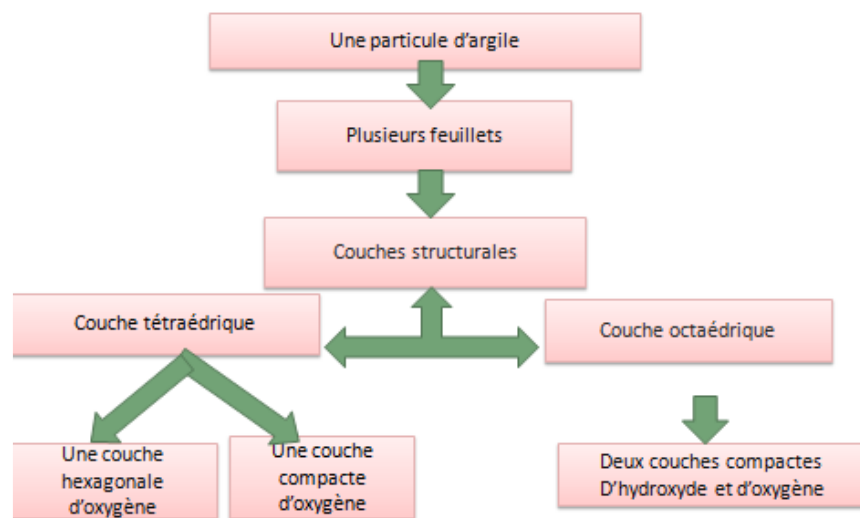


Figure 14 : Représentation de la structure minéralogique d'une particule d'argile. [42]

3.2. Structure des argiles :

Les particules d'argile sont formées d'un empilement de feuillets qui sont constitués par l'association de deux unités structurales de base, ces feuillets sont formés par la juxtaposition des couches structurales tétraédriques (silice) et octaédriques (aluminium). Les couches structurales sont à leur tour formées d'unités structurales de base par empilement d'ions ou d'hydroxydes en disposition hexagonale ou compacte.

3.2.1. Unité structurale tétraédrique :

L'unité structurale tétraédrique est formée d'un tétraèdre au sommet duquel quatre ions d'oxygène (O^{2-}) enserrent un ion de silicium (Si^{4+}), équidistant de chacun d'eux. Ce tétraèdre est matérialisé par la présence d'une cavité comprise entre trois sphères en contact, d'une couche hexagonale d'oxygène, et une sphère de la couche contiguë d'oxygène. (Figure 15.a).

3.2.2. Unité structurale octaédrique :

L'unité structurale octaédrique est formée d'un octaèdre au centre duquel un ion d'aluminium (Al^{3+}) ou de magnésium (Mg^{2+}) est équidistant aux six hydroxydes (OH^-) aux sommets. Ces octaèdres se combinent pour former des couches planes dites couches octaédriques et la liaison avec la couche tétraédrique se fait au niveau des oxygènes. (Figure 15 .b)

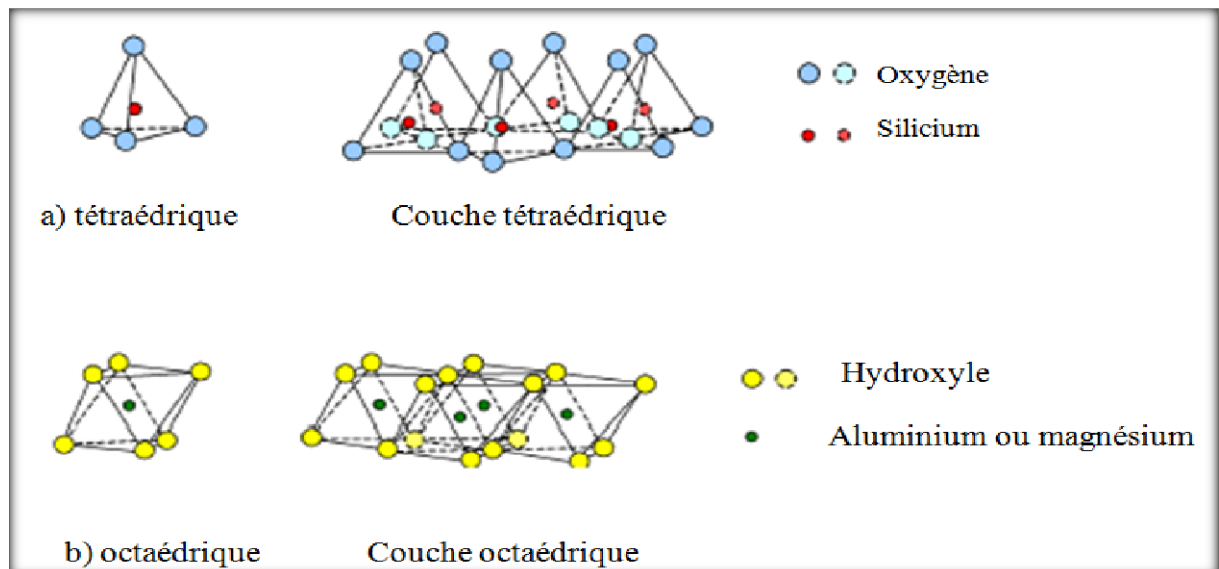


Figure15: Couche tétraédrique et octaédrique. [43]

3.3 .Propriétés des argiles :

Les minéraux argileux se caractérisent par quatre propriétés principales :

1. formes et surfaces spécifiques.
2. capacités d'adsorption d'eau et de gonflement.
3. multiples possibilités d'échanges cationiques.
4. activité des argiles

3.4. Argile dans le domaine biologique :

Les argiles jouent plusieurs rôles dans le domaine biologique on donne quelques exemples:

3.4.1. Usage médicinal : Les argiles sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés curatives. Elles sont souvent utilisées sous forme de pâte ou d'emplâtres pour traiter les affections cutanées telles que les infections, les inflammations et les brûlures. Les argiles peuvent aider à absorber les toxines, à apaiser les irritations et à favoriser la cicatrisation.

3.4.2. Soins de la peau : Les argiles sont couramment utilisées dans les produits cosmétiques et les soins de la peau en raison de leurs propriétés absorbantes et purifiantes. Elles peuvent aider à éliminer les impuretés, l'excès de sébum et les cellules mortes de la peau, laissant une peau plus nette et plus éclatante. Les masques d'argile sont populaires pour leur capacité à purifier les pores et à revitaliser la peau.

3.4.3. Adsorbant intestinal : Certaines argiles, telles que la bentonite et la montmorillonite, sont utilisées comme adsorbants intestinaux. Elles peuvent se lier aux toxines et aux substances indésirables présentes dans le tractus gastro-intestinal, aidant ainsi à leur élimination du corps. Ces argiles sont parfois utilisées en complément alimentaire pour favoriser la santé digestive et la détoxification.

3.4.4. Support de culture : Les argiles peuvent être utilisées comme support de culture dans l'agriculture biologique. Elles fournissent un environnement favorable à la croissance des plantes en maintenant une bonne rétention d'eau, en améliorant la structure du sol et en favorisant l'activité biologique bénéfique. De plus, les argiles peuvent également aider à retenir les éléments nutritifs et à les rendre disponibles aux plantes.

L'utilisation des argiles dans le domaine biologique peut varier en fonction du type d'argile et de son application spécifique. Il est important de consulter des sources fiables et de suivre les recommandations appropriées lors de l'utilisation des argiles à des fins médicales ou cosmétiques.

Chapitre II [Matériel et Méthode]

1. Lieu de travail :

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biologie ; du département de Biologie, faculté des sciences université de Laghouat ,et la partie de synthèse de zéolithe a été effectué au laboratoire de chimie des matériaux université d’Oran 1 Ahmed Benbella.

2. Instruments :

Le tableau ci-dessous répertorie les outils et techniques utilisés pour les essais biologiques :

Tableau 1 : Instruments utilisés pour les essais biologiques.

<i>Instrument</i>	<i>Equipements et appareils</i>
<i>✗ Tubes à essai</i>	
<i>✗ Portoir tube</i>	<i>✗ Bec benzène</i>
<i>✗ Flacons stériles</i>	<i>✗ Balance électronique</i>
<i>✗ Anse de platine</i>	<i>✗ Autoclave</i>
<i>✗ Micropipette</i>	<i>✗ Vortex</i>
<i>✗ Pipette Pasteur</i>	<i>✗ Bain-marie</i>
<i>✗ Verre de montre</i>	<i>✗ Incubateur</i>
<i>✗ Boîtes de pétri</i>	<i>✗ Agitateur</i>
<i>✗ Ecouvillon</i>	<i>✗ Spectrophotomètre</i>
<i>✗ Papier filtre</i>	<i>✗ Spectrophotomètre Infrarouge</i>
<i>✗ Para film</i>	<i>✗ Diffractomètre Rayon X</i>
<i>✗ Papier aluminium</i>	
<i>✗ Papier PH</i>	
<i>✗ Entonnoirs</i>	
<i>✗ Barrou magnétique</i>	
<i>✗ Béchers</i>	
<i>✗ Erlenmeyer</i>	
<i>✗ Tige</i>	
<i>✗ Etuve</i>	

3. Produits utilisés :

Le **tableau 2** regroupe l'ensemble des réactifs inorganiques utilisés dans la synthèse hydrothermale de matériaux ainsi que les milieux de culture utilisée dans les tests activités antibactérien.

Tableau 2 : Liste des produits utilisés

<i>Synthèse de ZSM-5</i>	<i>Produits consommable</i>	<i>Application biologiques</i>
<ul style="list-style-type: none"> ✎ Ludox AS40(40 % SiO₂, 60 % H₂O) ✎ Al₂O₃ 76,8% ✎ (TPABr)Tétrapropylammonium de bromure 	<ul style="list-style-type: none"> ✎ (ZnSO₄) zinc de sulfate heptahydratepuriss ✎ (Ag₂SO₄) Argent de sulfate ✎ (CuSO₄) Cuivre de sulfate 	<ul style="list-style-type: none"> ✎ Gélose Muller Hinton (MHA) ✎ Eau physiologie

4. Microorganismes testés :

La souche bactérienne utilisée est une souche référentielle de l'American Type Culture Collection (ATCC) et est largement reconnue comme un modèle de choix pour l'étude des effets antibactériens de différente substance. Il convient de noter que ces microorganismes sont pathogènes et est associé à des maladies infectieuses graves. Ils ont été obtenus à partir du laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) des hôpitaux. Le souche utilisée est:

- *Escherichia coli* ATCC 25922 G (-)

5. Purification de l'argile de Maghnia :

Argile brute : Les échantillons d'argile de Maghnia (couleur blanche) a été broyés en utilisant un mortier. Le procédé de purification a consisté un lavage de 60g de l'argile dans un litre de l'eau distillé avec agitation à hélice pendant 3 heures puis une décantation, l'opération se répète 3 fois pour l'élimination des sels résiduels [44],après le lavage un traitement chimique a été effectué selon le protocole suivant:

Le lavage de l'argile par 11 d'HCl 0.5 M avec un agitateur mécanique pendant 2 h, le pH de la solution au départ égale à 2. Après filtration en fait un lavage à l'eau distillée et on continue ce lavage jusqu'à pH=7. Ensuite, le séchage et la récupération de l'argile et ceci, pour la

destruction de carbonates, l'élimination du sulfure de fer. L'oxydation par H_2O_2 (30 v) pendant 24 h, sous l'effet de la température de $60^\circ C$ et l'agitation mécanique pour éliminer la matière organique.

Une quantité de l'argile est introduite dans un bécher contenant un litre de solution de NaCl (1M). La suspension est agitée à l'aide d'un agitateur mécanique pendant 4h. Cette opération a pour but de traiter la bentonite purifiée par sodification qui permet de remplacer les cations échangeables de natures diverses par des cations de sodium tous identique.

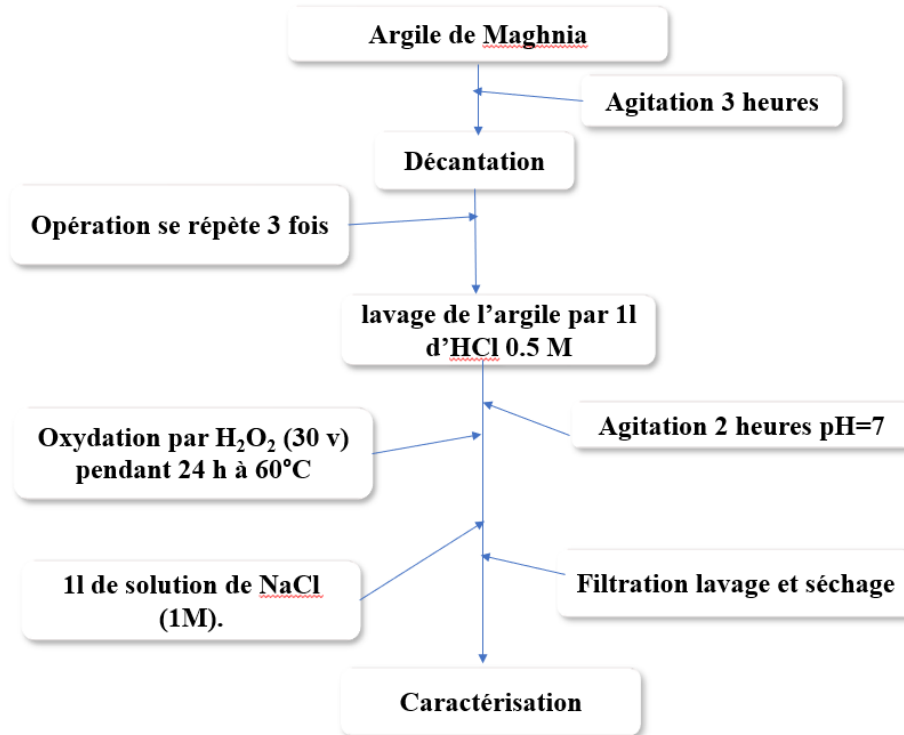


Figure 16: Purification de l'argile.

6. Protocole de synthèse pour l'obtention de ZSM-5 :

Dans le cadre de ce mémoire nous allons synthétiser des silicates type ZSM-5 (Figure17) ce choix de la zéolithe ZSM-5 comme agent antibactérien dépend de plusieurs facteurs, notamment de ses propriétés physico-chimiques et de sa capacité à inhiber la croissance bactérienne .On donne quels exemples de types de bactéries qui ont été étudiés en relation avec l'activité antibactérienne de la zéolithe ZSM-5 :

6.1.Bactéries à Gram positif : Certaines études ont montré que la zéolithe ZSM-5 pouvait présenter une activité antibactérienne contre des bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* et *Enterococcus faecalis*. Ces

bactéries sont souvent impliquées dans des infections nosocomiales, des infections cutanées et des infections dentaires.

6.2. Bactéries à Gram négatif : Certaines recherches ont également démontré une activité antibactérienne de la zéolithe ZSM-5 contre des bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. Ces bactéries sont souvent associées à des infections urinaires, respiratoires et gastro-intestinales.

6.3. Bactéries anaérobies : La zéolithe ZSM-5 a également montré une activité inhibitrice contre des bactéries anaérobies telles que *Clostridium perfringens* et *Prevotellaintermedia*, qui sont impliquées dans des infections de la cavité buccale et des infections intestinales.

Des études ont également évalué l'activité antibactérienne de la zéolithe ZSM-5 contre d'autres types de bactéries, notamment *Helicobacter pylori* (responsable des ulcères gastriques), *Mycobacterium tuberculosis* (responsable de la tuberculose) et *Salmonella spp.* (responsable d'infections alimentaires).

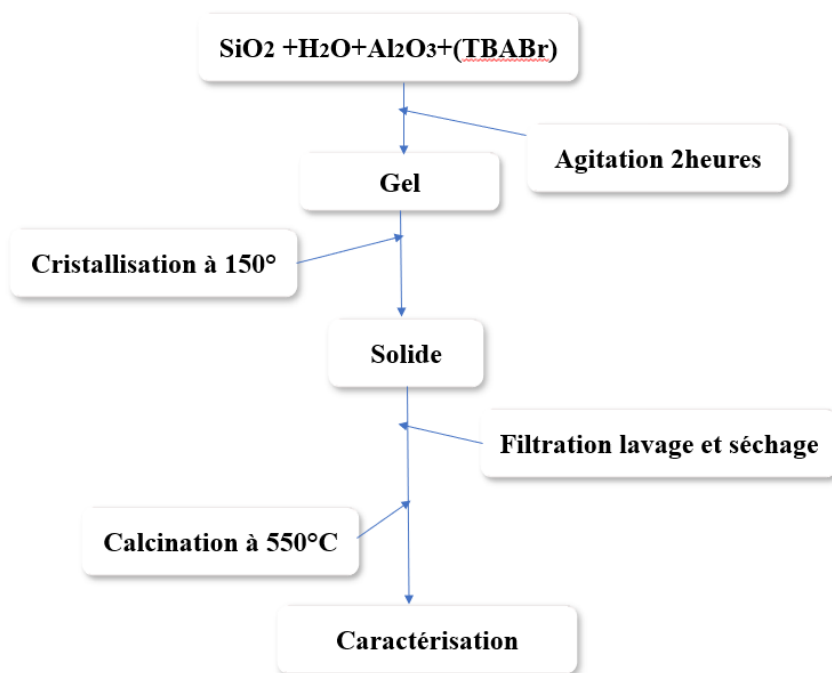


Figure 17 : Protocole expérimental de la synthèse hydrothermale, utilisant TPABr comme agent structurant pour l'obtention de ZSM-5.

Pour la synthèse de zéolithes ZSM-5, nous avons utilisé suivantes : **(Tableau 3)**

- **Sources de silicium :** Une solution colloïdale, commercialisée par Aldrich sous le nom de Ludox AS40, un alcoxy silane liquide, a été utilisé comme source de silicium au cours de ce travail.
- **Sources d'aluminium :** La source d'aluminium, à savoir oxyde d'aluminium Al_2O_3 a été utilisée.
 - **Agents structurants :**

L'intérêt d'utiliser d'agent structurant pour la synthèse de zéolithes a été souligné dans le chapitre I.

Tableau 3 : Caractéristiques des différentes sources utilisées

<i>Source</i>	<i>Réactif</i>	<i>Pureté (observations)</i>	<i>Fournisseur</i>
Silicium	Ludox AS40	40 % SiO_2 , 60 % H_2O	Aldrich
Aluminium	Al_2O_3	76,8%	Riedel de Haën
Structurants Organiques	Tétrapropylammonium de bromure (TPABr)		Merck

7. Protocole de la synthèse de ZSM-5 :

La ZSM-5 est synthétisée à partir de gel contenant des réactifs Ludox, TPABr ,et l'eau.

Nous introduisons dans un bécher successivement Ludox, d'eau, de TPABr , Al_2O_3 .Ce mélange a été mis sous agitation pendant 2heure à température ambiante (25°C) jusqu'à l'obtention d'un gel .Ce gel résultat de composition en molaire:0.125 TPABr-0,2 Al_2O_3 - SiO_2 - 25 H_2O est transféré dans un autoclave qui sera placé dans une étuve chauffée à 150°C .Après une durée de cristallisation de 3 Jours, l'autoclave est refroidi.

Le produit obtenu est filtré, lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée, séché à 80° C et calciné à 550°C pendant 6 heures.

7.1. Diffraction des rayons X de la ZSM-5 :

La **Figure18** présente le diagramme de diffraction des rayons X de l'échantillon de la ZSM-5. Lors de l'analyse du diffractogramme de l'échantillon, plusieurs pics sont observés aux angles 2θ de 22.94, 23.25, 23.61, 23.81 et 24.37° Ces valeurs correspondent aux données publiées par l'International Zéolite Association (IZA)[45].

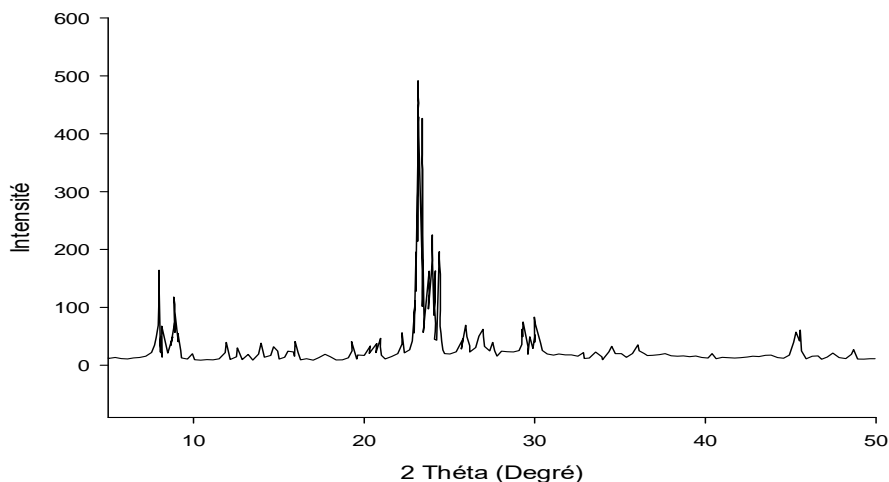


Figure 18 : Diffractogrammes de la ZSM-5

7.2.Spectroscopie Infra Rouge (FT-IR) de la ZSM-5 :

Le spectre FT-IR de l'échantillon synthétisé par voie hydrothermale, illustré dans la **Figure 19**, présente plusieurs bandes de vibration. Parmi ces bandes, on observe des pics à des nombres d'onde de 1230, 1100, 800, 550 et 450 cm^{-1} . La bande d'adsorption à 1100 et 1230 cm^{-1} est attribuée à l'élongation asymétrique de Si-O-Si.

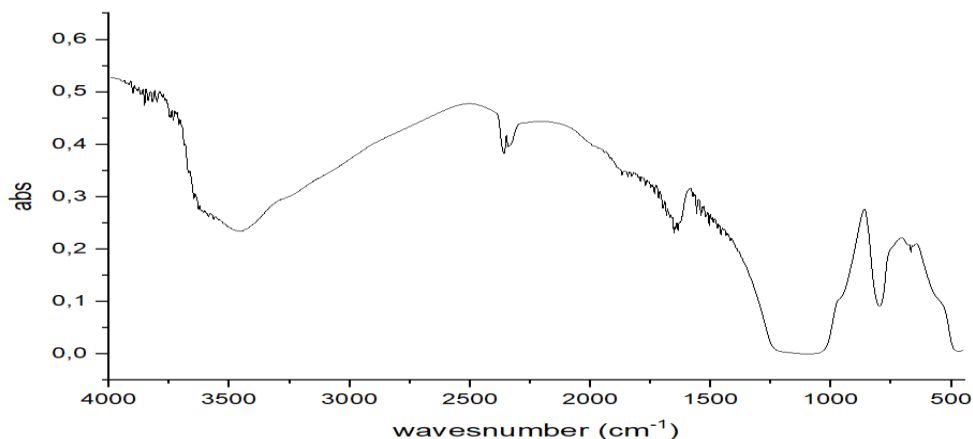


Figure19 : Spectres IR de la ZSM-5

La présence de la bande d'absorption autour de 552 et 457 cm^{-1} est attribuée à la vibration basculante de Si-O-Si, comme indiqué par les références [46]. De plus, les bandes d'absorption à 1230 et 547 cm^{-1} sont attribuées à la vibration caractéristique de la structure tétraédrique de la zéolithe de type MFI, comme décrit dans la référence [47].

8. Milieu de culture utilisé :

Le milieu de culture Hilton agar est utilisé pour l'isolement et l'identification des bactéries responsables des infections des voies urinaires. Voici la composition chimique typique de ce milieu de culture :

Tableau 4 : Composition chimique typique de ce milieu de culture

<i>Nom de composé</i>	Extrait de viande	Peptone	Lactose	Agar	Rouge de phénol	Cristal violet	Eau distillée
<i>Masse</i>	3,0 g	5,0 g	10,0 g	15,0 g	0,028 g	0,0016 g	1 litre

La composition précise peut varier légèrement en fonction du fournisseur ou des variations de protocole. Le milieu de culture Hilton agar peut être préparé en suivant les étapes suivantes :

- Dissoudre l'extrait de viande, la peptone, le lactose et l'agar dans de l'eau distillée dans un récipient approprié.
- Chauffer le mélange tout en agitant jusqu'à ce que tous les composants soient dissous.
- Ajouter le rouge de phénol et le cristal violet dans le mélange. Agiter pour homogénéiser. Si nécessaire, ajuster le pH du milieu à environ 7,3 à l'aide d'acide chlorhydrique. Ajouter quelques gouttes à la fois et vérifier le pH à l'aide d'un pH-mètre ou de papier pH.
- Transférer le mélange dans des flacons ou des boîtes de culture stériles.
- Stériliser le milieu de culture en autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Après stérilisation, refroidir le milieu à environ 45-50 °C.
- Verser le milieu de culture dans des boîtes de Pétri stériles ou des flacons de culture, en quantité appropriée.
- Laisser le milieu solidifier à température ambiante ou le mettre au réfrigérateur.

Le milieu de culture Hilton agar est prêt à être utilisé pour l'ensemencement des échantillons cliniques, en particulier pour l'isolement des bactéries impliquées dans les infections urinaires.

Au laboratoire, les bactéries sont cultivées en milieux de culture liquide ou solide. Le milieu de culture doit apporter les nutriments élémentaires à la bactérie. Les milieux de culture

gélifiés solides sont utilisés pour isoler des cultures pures de cellules bactériennes. Dans le cas des bactéries se divisant rapidement, une cellule bactérienne dispersée sur un milieu gélosé va se multiplier et, au bout de 24 à 48 heures, devenir un amas de bactéries, visible à l'œil nu et appelé une colonie bactérienne.

9. Préparation de milieu de culture :

Nous mettez 38 grammes de milieu de hydraté dans 1 litre d'eau fraîchement distillé et Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Porter dans des flacons stériles puis Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 30 minutes.



Figure 20 : Milieux Hinton Agar (photo d'origine) ;2023.

Au moment de l'emploi, faire fondre le milieu au bain-marie bouillant et répartir en boîtes de Pétri. L'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4 mm. Sécher les boîtes 30 min à 37°C. Le volume de Mueller Hinton permettant d'obtenir exactement une épaisseur de 4 mm.

10. Méthodes de préparation :

10.1. Conservation des souches

C'est une méthode utilisée au laboratoire pour conserver les cultures des différentes espèces microbiennes isolées. L'objectif de la conservation est de garder constant l'ensemble des propriétés morphologiques, métaboliques, génétiques et physiologiques [48]. Elles sont utilisées fréquemment soit pour l'enseignement, soit pour le contrôle, soit pour la recherche, soit pour la production industrielle [49].

10.2. Méthode de conservation :

10.2.1. Congélation (conservation à -70°C ou dans l'azote liquide à -196°C) :

On peut conserver les souches indéfiniment si elles sont gardées à une température inférieure ou égale à -70°C. La conservation à -20°C n'est pas recommandée pour une période supérieure à 12 ou 18 mois car certains microorganismes perdront leur viabilité à cette température.

10.2.2. Lyophilisation :

La plupart des organismes peuvent être conservés après lyophilisation. Pour cela, on retire l'eau des suspensions bactériennes congelées par voie de sublimation sous pression réduite. Il est préférable de conserver à 4°C les tubes lyophilisés.

10.3. Préparation de souches :

Afin d'examiner les bactéries que nous allons utiliser dans notre expérience, il est nécessaire de s'assurer de l'intégrité de cette souche et de sa capacité à interagir dans le milieu. Ce se fait en prélevant un échantillon de cette bactérie avec une anse de platine et en le plaçant dans un autre boîte de Pétri contenant du milieu de Hinton agar à travers le processus d'ensemencement, puis en le plaçant à une température de 37°C pendant une période de 24 heures, et c'est ce qu'on appelle la culture de jeune .

10.4. Coloration de gram :

10.4.1. Réactifs et colorants utilisés :

Les réactifs et colorants utilisés pour la réalisation de ce travail sont entre autres, le violet de gentiane, le Lugol, la Fuchsine de Ziehl.

10.4.2. Etapes de coloration :

- Ordonner les produits
- Disposer le frottis sur les portoirs à coloration
- Recouvrir le frottis de violet de gentiane
- Laisser agir une minute
- Rincer à l'eau de robinet et égoutter
- Recouvrir le frottis du Lugol
- Laisser agir une minute
- Rincer à l'eau de robinet
- Tenir le frottis incliné entre le pouce et l'index
- Couler l'alcool à la surface du frottis tout en suivant la couleur des gouttes

- Arrêter la décoloration dès l'apparition de la première goutte incolore
- Laver abondamment à l'eau et égoutter
- Recouvrir de fuchsine phéniquée diluée au 1/10
- Laisser agir 20s
- Laver à l'eau et égoutter
- Laisser sécher à l'air
- Observer à l'objectif à immersion.

Tableau 5: Résultats de souche de référence après coloration de Gram

Souches de référence	coloration de Gram
<i>E. coli ATCC25922</i>	B-

B- =Bacilles Gram négatif

10.5. Ensemencement :

L'ensemencement est le fait d'introduire des micro-organismes (microbes, germes, bactéries) dans un bouillon de la culture comme dans une boîte de Pétri en microbiologie ou un biotope endémique. Il conduit à une prolifération de ces organismes.

10.5. L'ensemencement en surface : l'inoculum est déposé en un point et repris ensuite pour un étalement qui s'effectue selon le cas de l'ose à la pipette Pasteur ou au râteau.

10.6. L'ensemencement de masse : la gélose est fondue, puis amenée et maintenue à 45°C (gélose en surfusion). Une température supérieure ne doit pas être utilisée pour ne pas détruire l'inoculum. On dépose l'inoculum liquide dans la boîte vide puis on ajoute la gélose et on homogénéise doucement le milieu par de lents mouvements de rotation sur un plan horizontal.

Un ensemencement en masse est le plus souvent réalisé afin de dénombrer des micro-organismes.

11. Préparation l'argile échangée avec le cuivre et le zinc :

L'argile a été échangée en immergeant 2 g de zéolithe sous sa forme sodique dans 400 ml de solution aqueuse 0,1M Cu (SO₄) et 0,1 M Zn (SO₄) pendant 2h30 sous agitation magnétique. Les produits solides obtenus par filtration ont été lavé 3 fois avec 500 ml d'eau déminéralisée et séché à 100 °C pendant 24 h.

12. Préparation la zéolithe échangée avec l'argent et le zinc et le cuivre:

La zéolithe de type ZSM-5 obtenue est été échangée en immergeant 2 g de zéolithe sous sa forme sodique dans 400 ml de solution aqueuse 0,1M Ag (SO₄) , 0,1M Cu (SO₄) et 0,1M Zn (SO₄) pendant 2h30 sous agitation magnétique. Les produits solides obtenus par filtration ont été lavé 3 fois avec 500 ml d'eau déminéralisée et séché à 100 °C pendant 24 h.

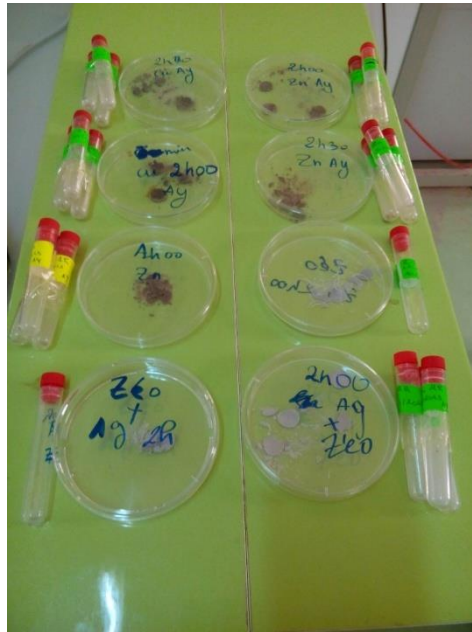


Figure 21 : Produits obtenus l'argile et zéolithes échangés (originale 2023).

13. Pressage des matériaux obtenus :

Les échantillons obtenus des argiles et zéolithes échangées ont été transformées en disques de 1cm (0,2 g chacun) par pressage uni axial pendant 30 s à 60 N à l'aide d'une presse hydraulique manuelle (Figure 22).

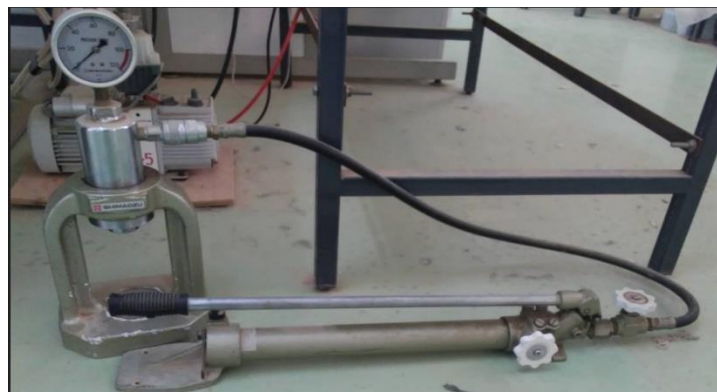


Figure 22 : Image de presse hydraulique manuelle(Originale 2023).

14. Stérilisation des disques :

Avant d'effectuer les tests bactériologiques, les disques ont été stérilisés dans un four Pasteur à 120 °C pendant 15 minutes avant la culture. (*Figure 23*)



Figure23 : Four Pasteur.

15. Préparation des suspensions bactériennes :

A partir d'une culture de 18h, la suspension est calibrée pour avoir un inoculum de 10^5 ou 10^4 UFC/ml, correspondant à une densité optique (DO) de 0,08 à 1 à une longueur d'onde de 630 nm, (*Figure24*)

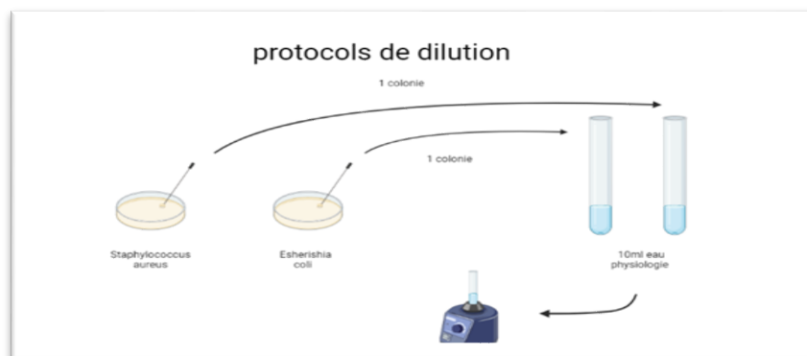


Figure24 : protocoles de dilution.

Une évaluation de DO de la suspension microbienne à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 630 nm a été faite dans le but de standardiser la suspension bactérienne à 10^5 UFC/ml. (*Figure25*)

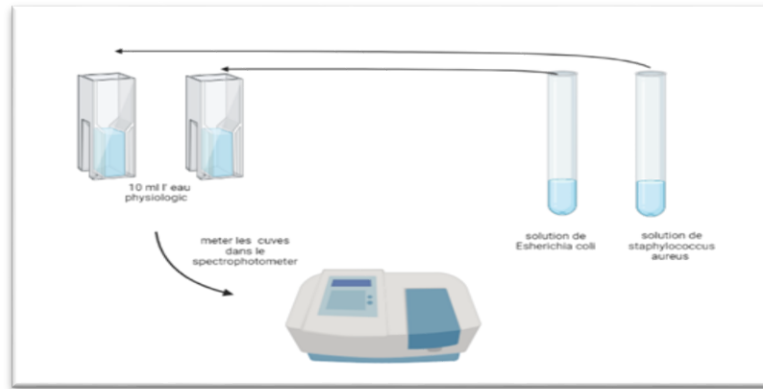


Figure 25: protocole pour Mesure la densité optique des bactéries.

16. Ensemencement en masse dans la boîte de Pétri

(Contient le milieu de culture solide) a) on a incorporer 1 ml de suspension microbienne dans la boîte de Pétri vide et homogénéiser les germes avec toute la masse du milieu et Laisser solidifier puis incuber.

Pour le test du halo d'inhibition, les échantillons ont été mis en contact avec une plaque de gélose uniformément recouverte de bactéries et incubées à 37°C pendant 24 h.



Figure 26: Ensemencement en masse dans la boîte de Pétri.

17. Méthode de caractérisation :

17.1. Diffraction de rayons X [50-51] :

Les matériaux synthétisés sont systématiquement analysés par diffraction de rayons X sur poudre, à température ambiante 25°C. Cette technique d'analyse permet l'identification des phases cristallines, l'estimation du taux de cristallisation des échantillons, la semi-quantification de certaines phases cristallines ainsi que l'évaluation du rapport molaire Si/Al

des charpentes zéolithiques. L'identification est réalisée à l'aide du logiciel EVA Solide, permettant la comparaison des diffractogrammes obtenus avec les diffractogrammes de matériaux de référence possédés au laboratoire ou contenus dans des bases de données (fiches de l'International Center for Diffraction Data, ICDD).

Les analyses de routine sont effectuées en diffraction par réflexion, sur un diffractomètre Brüker AXS D8 Ende a vor à fentes variables (*Figure 27*).



Figure 27 : Image de l'appareil diffractomètre Brüker AXS D8.

L'échantillon à analyser est broyé puis pressé sur un porte-échantillon en acier, dont une raie de diffraction caractéristique apparaît à 50 degrés. La surface de l'échantillon doit être plane. La source de rayons X est une anticathode au cuivre alimentée sous une tension de 40 kV et une intensité de 40 mA, fournissant une radiation K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Les données sont collectées à l'aide d'un détecteur à dispersion d'énergie "Sol-XE" sur un domaine angulaire en 2θ allant de 10 à 50 degrés par pas de 0,02 degrés.

La cristallinité des produits a été déterminée par la méthode de la somme d'intensité.

A cet effet, trois pics caractéristiques de MFI aux angles de Bragg de 23,0, 24,0 et 24,5° (I₀₁, I₀₂, I₀₃) ont été sélectionnés. Un produit ayant l'intensité la plus élevée la somme de ces trois pics caractéristiques a été considérée comme étant de 100% cristallin et pris comme référence. La cristallinité des autres produits était calculée par l'équation :

$$\% \text{ Cristallinité} = (I_{01} + I_{02} + I_{03}) \text{ échantillon} / (I_{01} + I_{02} + I_{03}) \text{ référence} * 100$$

Ce phénomène de diffraction des rayons X est soumis aux conditions relatives à l'existence d'interférences constructives, exprimées par la loi de Bragg qui relie l'angle de diffraction θ à la distance inter réticulaire d :

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

Avec n l'ordre de la diffraction et λ la longueur d'onde du rayonnement utilisé.

La ZSM-5 cristallise dans le système orthorhombique, groupe spatial de symétrie,

$$P nma ; a = 20.022 \text{ \AA} \quad b = 19.899 \text{ \AA} \quad c = 13.383 \text{ \AA} \quad \alpha = 90^\circ \quad \beta = 90^\circ \quad \gamma = 90^\circ \text{ [52].}$$

17.2. Spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier :

La spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier est une méthode d'analyse qui utilise un rayonnement dans la gamme Infrarouge des radiations électromagnétiques. C'est une des méthodes les plus couramment utilisées pour l'identification des molécules organiques et inorganiques à partir de leurs propriétés vibrationnelles. Classiquement l'étude d'un échantillon est réalisée entre 400 et 4000 cm^{-1} . On observe ainsi des bandes de transition, pouvant correspondre à plusieurs modes de vibration. On a ainsi :

- Les vibrations d'élongation (n), signature d'une vibration selon la liaison. On peut de plus distinguer les élongations symétriques des élongations antisymétriques.
- Les vibrations de déformation (d).

Dans le cas des matériaux qui nous intéressent, le suivi de certaines bandes est particulièrement pertinent pour qualifier l'évolution de la surface. Les nombres d'onde concernés sont regroupés dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Attribution et position des bandes de vibration des zéolithes MFI dans le domaine 4000-400 cm^{-1} en se référant à la classification de Flanigen .[53]

Vibrations internes aux tétraèdres			
950-1250 cm^{-1}	as-str. (O-T-O)	Elongation asymétrique	$\text{O} \leftarrow \text{OT} \rightarrow \text{O}$
650-950 cm^{-1}	s-str. (O-T-O)	Elongation symétrique	$\leftarrow \text{OTO} \rightarrow$
420-500 cm^{-1}	δ (O-T-O)	Déformation de l'angle (TOT)	
Vibrations externes aux tétraèdres			
1050-1150 cm^{-1}	as-str. (T-O-T)	Elongation asymétrique	$\leftarrow \text{TO} \leftarrow \text{T}$
750-820 cm^{-1}	s-str. (T-O-T)	Elongation symétrique	$\leftarrow \text{TOT} \rightarrow$
500-650 cm^{-1}		Vibration des doubles anneaux	
300-420 cm^{-1}		Ouverture des pores	

La caractérisation des bandes de vibration Si-O du réseau silicique a été effectuée par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier. Les spectres ont été enregistrés entre $4000-400\text{cm}^{-1}$ à l'aide d'un spectrophotomètre Bruker Vector 22(**Figure28**).



Figure 28 : Image de l'appareil spectrophotomètre Bruker Vector 22.

Les échantillons sont broyés et pressés sous forme de pastille de 100mg contenant en général 1 mg de produit, l'éluant utiliser KBr

Chapitre III (Résultat et Discussion)

Les zéolithes et les argiles peuvent agir comme des agents antimicrobiens en raison de plusieurs mécanismes, tels que l'échange d'ions, l'adsorption sélective de composés toxiques, l'altération de l'environnement microbien, ou encore la libération contrôlée de substances antimicrobiennes. Leurs surfaces poreuses offrent une grande surface spécifique, favorisant l'interaction avec les microorganismes et améliorant ainsi leur efficacité antimicrobienne.

L'une des utilisations principales des zéolithes et des argiles dans la microbiologie est l'inhibition de la croissance des bactéries pathogènes. Ils peuvent être utilisés pour purifier l'eau potable en éliminant les contaminants microbiens. Les zéolithes et l'argile peuvent être utilisées comme médias de filtration pour piéger et éliminer les bactéries, les virus et autres microorganismes présents dans l'eau. Ces matériaux (zéolithes, argile) ont la capacité d'adsorber les contaminants microbiens, c'est-à-dire de les attirer et de les retenir à leur surface. Leur structure poreuse offre une grande surface spécifique, ce qui augmente leur capacité d'adsorption des microorganismes présents dans l'eau.

Dans les environnements hospitaliers, les zéolithes et les argiles sont utilisées pour désinfecter les surfaces et prévenir la propagation des infections nosocomiales.

1. Test de l'inhibition de croissance des bactéries par ZSM-5 :

En comparant les résultats avec le témoin, il est possible de déterminer si le ZSM-5 présente un effet inhibiteur significatif sur la croissance bactérienne. Ces informations sont utiles pour évaluer le potentiel du ZSM-5 dans le développement de matériaux antimicrobiens et son application dans la prévention et le contrôle des infections bactériennes.

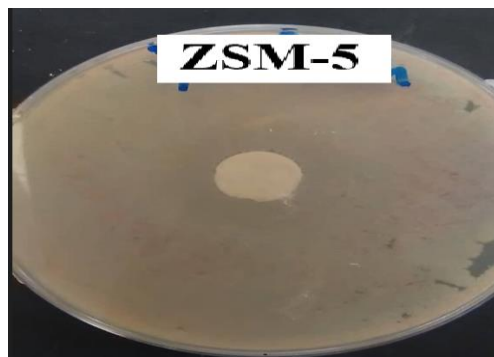


Figure29: Test halo d'inhibition *E.Coli* , ZSM-5(original 2023)

L'absence d'inhibition autour de la zéolithe ZSM-5 suggère que la structure non modifiée de la zéolithe ne présente pas d'effet significatif sur la croissance bactérienne.

2. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par ZSM-5 échangé par Zinc :

Le test d'inhibition de croissance des bactéries *Escherichia coli* par le ZSM-5 échangé avec du zinc (Zn) est une méthode spécifique pour évaluer l'effet antimicrobien de ce matériau sur cette souche bactérienne. Pour préparer l'échantillon de ZSM-5 échangé avec du zinc, une technique d'échange cationique a été utilisée pour incorporer des ions de zinc dans la structure de la zéolithe.

L'échantillon de ZSM-5 échangé avec du zinc de agitation de 2h a été préparé sous forme de disques en poudre. Ces disques ont ensuite été placés dans une boîte de Pétri contenant la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 G (-) et l'ensemble a été incubé à une température de 37°C. Après une période d'incubation de 24 heures, les résultats de l'expérience ont été obtenus.

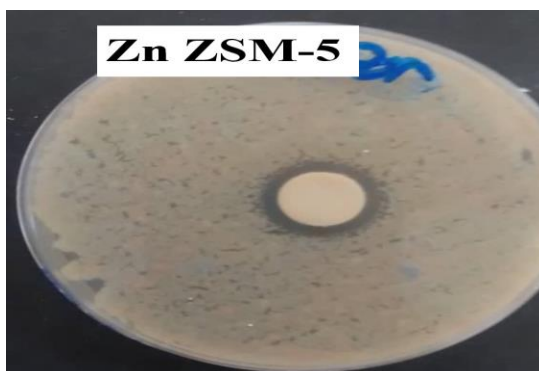


Figure 30: Test halo d'inhibition *E. Coli* , Zn ZSM-5(original 2023)

On observe un halo d'inhibition significatif d'environ 14.97mm de diamètre autour de la zéolithe Zn ZSM-5

3. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par ZSM-5 échangé par Argent

Le test d'inhibition de croissance des bactéries par le ZSM-5 échangé avec de l'argent à agitation de 2h est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de ce matériau. Une période d'incubation de 24 heures a été utilisée dans cette expérience pour permettre la croissance bactérienne. Les résultats obtenus à

l'issue de cette période permettent d'évaluer spécifiquement l'efficacité antimicrobienne du ZSM-5 échangé avec de l'argent contre la souche bactérienne *Escherichia coli*.

Le diamètre d'inhibition d'environ 15.98mm indique une activité significative de la zéolithe Ag ZSM-5 dans l'inhibition de la croissance bactérienne.

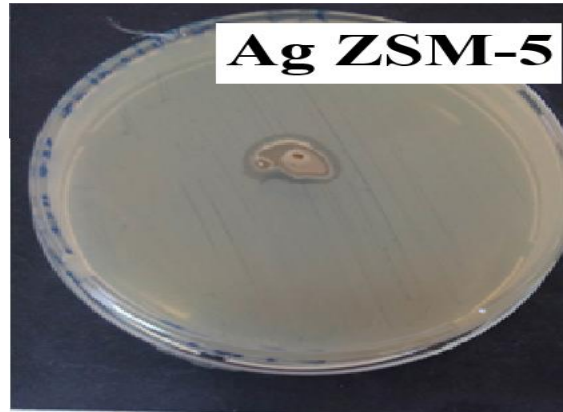


Figure 31: Test halo d'inhibition E. Coli ,Ag ZSM-5(original 2023)

4. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par ZSM-5 échangé par cuivre :

Le test d'inhibition de croissance des bactéries par le ZSM-5 échangé avec du cuivre est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'effet antimicrobien spécifique de ce matériau sur les bactéries. En effectuant un échange d'ions entre certains cations présents dans la structure du ZSM-5 et des ions cuivre. Lors du test d'inhibition de croissance bactérienne, une observation notable a été faite : un halo d'inhibition significatif d'environ 17 mm de diamètre s'est formé autour de la zéolithe Cu ZSM-5. Ce résultat indique que la zéolithe échangée avec du cuivre a démontré une activité antimicrobienne contre la souche bactérienne testée.

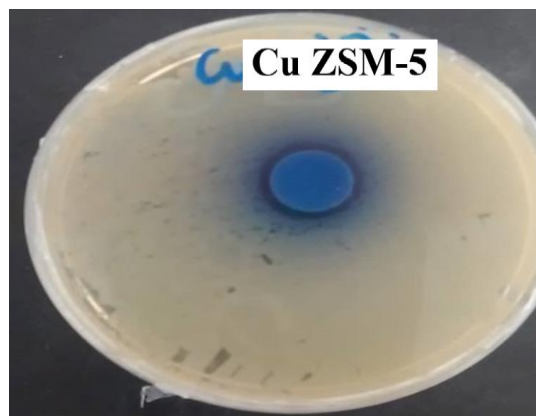


Figure 32 : Test halo d'inhibition E. Coli, Cu ZSM-5(original 2023)

Les résultats de test d'inhibition de croissance de bactérie utilisant le ZSM-5 échangé avec du cuivre, du zinc et de l'argent permet d'évaluer l'activité antimicrobienne spécifique de ce matériau contre la souche bactérienne *Escherichia coli*. En comparaison, le ZSM-5 témoin, c'est-à-dire non échangé avec ces métaux, n'a pas montré d'effet inhibiteur sur la croissance bactérienne. Ce test permet donc de déterminer l'efficacité des différentes formes modifiées du ZSM-5 dans l'inhibition de la souche bactérienne *Escherichia coli*.

5. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par l'argile échangé par cuivre :

Lorsque l'argile échangée avec du cuivre de agitation pendant 2h est exposée à des bactéries, le cuivre présent dans la structure de l'argile interfère avec les processus vitaux des bactéries, tels que la respiration cellulaire et la division cellulaire. Cela entraîne une inhibition de la croissance bactérienne et peut éventuellement provoquer la mort des bactéries. L'observation d'un halo d'inhibition d'environ 2 mm de diamètre indique une activité antimicrobienne significative du matériau Cu Argile.

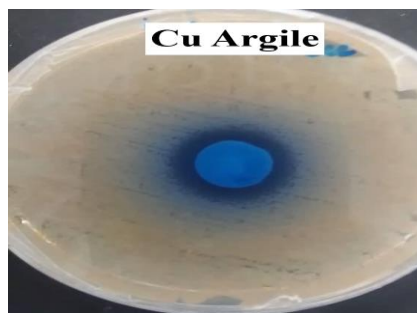


Figure 33 : Test halo d'inhibition *E. Coli*, Cu Argile (original 2023)

6. Test de l'inhibition de croissance de bactérie par l'argile échangé par zinc :

Les résultats du test d'inhibition de croissance des bactéries par l'argile échangée avec du zinc de agitation de 2h indiquent que cette modification de l'argile permet de restreindre la croissance des bactéries, mais avec une efficacité modérée. Cette observation peut être influencée par plusieurs facteurs, notamment la concentration de zinc incorporée dans l'argile

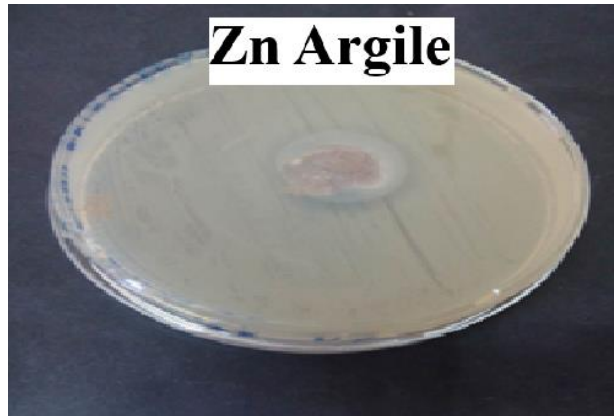


Figure 34 : Test halo d'inhibition *E. Coli*, Zn Argile (original 2023)

Dans le but de comparer l'efficacité antimicrobienne de l'argile échangée avec du cuivre et du zinc, des expériences ont été réalisées pour observer les différences dans l'inhibition de la croissance bactérienne entre les deux matériaux. Les résultats ont révélé que l'argile échangée avec du cuivre était plus efficace que celle échangée avec du zinc pour inhiber la croissance de la souche bactérienne *Escherichia coli*. La présence d'un halo d'inhibition d'environ 18.55 mm de diamètre cette observation suggère que la présence d'argent échangé dans la structure de l'argile a joué un rôle dans l'inhibition de la croissance bactérienne.

Les zéolithes et les argiles peuvent agir comme des agents antimicrobiens en raison de plusieurs mécanismes, tels que l'échange d'ions, l'adsorption sélective de composés toxiques, l'altération de l'environnement microbien, ou encore la libération contrôlée de substances antimicrobiennes. Leurs surfaces poreuses offrent une grande surface spécifique, favorisant l'interaction avec les microorganismes et améliorant ainsi leur efficacité antimicrobienne.

Conclusion

Les principales réalisations de notre travail concernant l'étude de purification de l'argile et la zéolithe de type (MFI) ZSM-5 a été synthétisé par voie hydrothermale au laboratoire de chimie des matériaux de l'université d'Oran1

La zéolithe a été analysé par a spectroscopie infrarouge (IR), la diffraction des rayons X (DRX), Ces analyses nous ont permis d'obtenir des informations détaillées sur la structure de ZSM-5. Ces deux matériaux(argile et zéolithe) ont été échangés par des métaux Zn, Ag, Cu. Nous avons également pour évaluer l'efficacité de ces matériaux en tant qu'agents antimicrobiens en réalisant des tests d'inhibition de croissance des bactéries.

Les zéolithes et les argiles présentent des propriétés antimicrobiennes intéressantes en raison de leur capacité d'adsorption, de libération d'ions métalliques et d'échange d'ionstels que le cuivre, l'argent ou le zinc, qui ont des propriétés antimicrobiennes bien connues.

L'activité antibactérienne des matériaux échangés a été évaluée en les mettant en contact avec la bactérie *E. coli*. Les résultats obtenus ont révélé que la ZSM-5 non modifiée n'a montré aucune activité antibactérienne. Cependant, les zéolithes CuZSM-5>ZnZSM-5>AgZSM-5 ont tous présenté un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne. Plus spécifiquement, la zéolithe CuZSM-5 échangée avec du cuivre a démontré une activité antibactérienne significative. Les résultats indiquent que la présence du cuivre dans la structure de la zéolithe confère à ce matériau des propriétés antimicrobiennes efficaces contre *E. coli*.

En ce qui concerne l'argile échangée, les résultats ont montré que les argiles Cu argile et Zn argile ont également présenté une activité antibactérienne. Cette observation suggère que l'échange d'ions de cuivre et de zinc dans la structure de l'argile confère à ces matériaux la capacité d'inhiber la croissance des bactéries. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de ces matériaux modifiés pour être utilisés dans des applications visant à lutter contre les infections microbiennes

Conclusion

Ces matériaux offrent donc des perspectives prometteuses dans le développement de nouveaux agents antimicrobiens et dans la purification de l'eau potable en éliminant les contaminants microbiens. Cependant, il est important de poursuivre les recherches pour mieux comprendre les mécanismes d'action et pour optimiser l'utilisation de ces matériaux dans des applications antimicrobiennes spécifiques.

Reference:

- [1]. Corma, A., & Rey, F. **2008**. "Zeolites as Catalysts in Oil Refining." *Chemical Reviews*, 108(3), 846-910.
- [2-4]. Zhang, Y., & Wang, Y. **2019**. "Antimicrobial Applications of Zeolites: Current Status and Future Perspectives." *Microporous and Mesoporous Materials*, 275, 265-277. Li, Z., et al. **2018**. "Antimicrobial Activity and Mechanism of Action of Clay Minerals." *FEMS Microbiology Reviews*, 42(6), 728-741. Akin-Ibukun, E. T., et al. **2020**. "Clay Minerals and Their Antibacterial Activity: A Review." *Applied Clay Science*, 192, 105640.
- [5]. A.F. Crönstedt. **1756**, Svenska Ventenskaps Akademiens Handlingar Stockholm 18, 120.
- [6]. <http://www.microbiologie-medicale.fr/microbiologie-generale/structure-bacterienne.html>.
- [7]. R. M. Maier, I. I. Pepper, I. L. Pepper, et al. **1999**. *Environmental Microbiology*. 2nd edition chapter Academic Press.
- [8]. T. Proft and E. N. Baker. **2009**. Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria-structure, assembly and their role in disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 66 , 613-35.
- [9]. Université Médicale Virtuelle Francophone, Croissance des bactéries, Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène. **2014**. <http://campus.cerimes.fr/microbiologie/poly-microbiologie.pdf>.
- [10]. [https://www.inserm.fr/thematiques/immunologie – inflammation – infectiologie – et-microbiologie / dossiers – d'information / infections - nosocomiales](https://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-dinformation/infections-nosocomiales)
- [11]. G. Pavon-Djavid, G. Hélyary, V. Migonney. **2005**. Biomaterials inhibiting bacterial adhesion and proliferation: a challenge to prevent infection of prosthetic materials. *IRBM*. 26, 183-191
- [12]. G. Speranza, G. Gottardi, C. Pederzoli, et al. **2004**. Role of chemical interactions in bacterial adhesion to polymer surfaces. *Biomaterials*. 25, 2029-37.
- [13]. A. Almaguer-Flores, P. Silva-Bermudez, R. Galicia, et al. **2015**. Bacterial adhesion on amorphous and crystalline metal oxide coatings. *Mat. Sci. Eng: C*, 57, , 88-99.
- [14]. J. S. T. Wilson-Nieuwenhuis, N. D. Hibbert, C. M. Liauw, et al **2017**. Surface modification of platelet concentrate bags to reduce biofilm formation and transfusion sepsis. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 160, 126-135.

- [15].S. Baillif, D. Hartmann, J. Freney, et al.**2010**. Intraocular lens and bacterial adhesion: Influence of the environmental factors, the characteristics of the bacteria, and the target material surface. *J. Fr. Ophtalmol.* 33 , 210-21 .
- [16]. H. Tang, A. Wang, X. Liang, et al.**2006**. Effect of surface proteins on Staphylococcus Epidermidis adhesion and colonization on silicone. *Colloids Surf. B : Biointerfaces.* 51, 16-24.
- [17].Thèse Emilie Bulard soutenue le **19/10/2012**. L'adhésion bactérienne sondée à l'échelle moléculaire, Université de sud paris.
- [18]. Dr benchikh imene thèse de doctorat.**2017**. Universite oran 1 ahmed ben bella.
- [19]. Dyer A. **1988**, *An Introduction to Zeolite Molecular Sieves*, John Wiley & Sons.
- [20]. Ghobarkar H., Schäf O., Guth U. **1999**, *Prog. Solid State Chem.*, , 27, p. 29.
- [21] .G.MC Donnell,and A.Denver Russell(2001)**1999**.antiseptics and disinfectant: action, and resistance. *Clinical microbiology reviews* 12 N01. P 147.179.
- [22]. Kuhn P., Pale P., Sommer J., Louis B., J.**2009**. *Phys. Chem. C* , 113.
- [23]..A.Totya,N.Guessennd Et C.Bahi .(**2013**).Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de Harungana madagascariensis sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 82, p12-21
- [24] .L.oulmi .**2017**.cours de microbiologie clinique, polycopier support de cours.
- [25].<https://www.kaptitude.com/agents-biologiques-definition/>
- [26] .M.M.J.Treacy,J.B.Higgins.**2001**., Elsevier,Amsterdam, 367.
- [27] . S. N. AlHokbany, I. AlJammaz. **2011**, *Open Journal of Inorganic Chemistry* ,1, 23-32.
- [28].M. Hronec, M. Stolcova,.**1994**. Liptay.*Studies in Surface Science and Catalysis*, ,82,667–673.
- [29]. C. Cristiani,P.Forzatti., *J.Chem.Soc., FaradayTrans*,**1989**. 85, 895.
- [30].S.Bordiga,C.Lamberti,G.Ricchiardi,L.Regli,F.Bonino,et al. **2004**. *Chem.Commun*,2300
- [31]. S.J.jong,S.Cheng.**1995**, *Applied catalysis A general*.,126,51-66.

- [32]. Guth J.L., Kessler H., Hiegel J.M., Lamblin J.M., Patarin J., Seive A. et al **1989**, Zeolite synthesis in the presence of fluoride ions, *Zeolite Synthesis, ACS Symposium Series 398*, Washington DC, , p. 176.
- [33]. Arichi J., Louis B., *Cryst. Growth & Des.*, **2008**, 8, p. 3999.
- [34]. Burkett S.L., Davis M.E., *Chem. Mater.*, **1995**, 7, p. 920.
- [35]. Ocampo F., Yun H., Pereira M.M., Tessonnier J.P., Louis B., *Cryst. Growth & Des.*, **2009**, 9, p. 3721.
- [36]. Ivanova S., Louis B., Madani B., Tessonnier J.P., Ledoux M.J., Pham- Huu C., *J. Phys. Chem. C*, **2007**, 111, p. 4368.
- [37]. Valtchev V., Smaïhi M., Faust A.C., Vidal L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, 42, p. 2782.
- [38]. Mintova S., Olson N.H., Valtchev V., Bein T. **1999**, *Science*, , 283, p. 958.
- [39]. Louis B., Ocampo F., Yun H.S., Tessonnier J.P., Pereira M.M., *Chem. Eng. J.*, **2010**, 161, p. 397.
- [40]. M. Hilmi, Métallurgie, Ed .**1977**. Angelot, Egypte ,P :100- 300 .
- [41]. A. Vatan .**1967**, Manuel de Sédimentologie, Ed. Thecni.
- [42]. Holtz, W. G et Gibbs, H.J. **1991**. Introduction à la géotechnique; Traduit par La fleur, J, édition de l'école de polytechnique de Montréal, Canada, p :794.
- [43]. Cuisinier, O. "**2002**.; Comportement hydromécanique des sols gonflants
- [44]. Li, Z., et al. **2018**. "Antimicrobial Activity and Mechanism of Action of Clay Minerals." *FEMS Microbiology Reviews*, 42(6), 728-741. Akin-Ibukun, E. T., et al. **2020**. "Clay Minerals and Their Antibacterial Activity: A Review." *Applied Clay Science*, 192, 105640.
- [45]. Z.Gabelica, N.Blom, E.G.**1983**. Derouane, *Appl.Catal.*5;227.
- [46]. R.Mostowicz.**1982**, L.B.Sand, *Zeolites*2;143.
- [47]. R.VonBallmoos, W.M.Meier.**1981**, *Nature*289;782.
- [48]. N'DIAYATA NDOUR. **2013**, Etude de la viabilité des souches de référence utilisées dans le contrôle microbiologique des antimicrobiens (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ET *Enterococcus faecalis* ATCC 29812). Thèse pharm. Dakar, , N°44, 82p.
- [49]. NIANG O.**2003**. Souches de références et procédures de contrôle in vitro de la sensibilité au antimicrobiens. Thèse Pharm, Dakar, , N° 58, 56p.

[50-51]. Aronica C., Jeanneau E. **2009.** ENS Lyon Guinebretière R. **2002.** Hermès Science Publications, Paris.

[52]. Van Koningsveld H., van Bekkum H. and Jansen J. C. **1987.** Acta Cryst. B, 43 : 127–132.

[53]. E.M. **1974.** Flanigen. Zeolite Chemistry and Catalysis. Advances in Chemistry Series, New York, page 80.