

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOÛT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

**Potentiel antimicrobien des nanoparticules végétales
& bactériens :
Applications in vitro et in vivo.**

Présenté par :

AMRANE Rayene,, BOUDJENAH Souhila et MANSOURI Aya

Membre de Jury :

Mr. Boudjellab Zine Edine	(MCA) Président	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda.
Mme. Boucetta Sabine	(MCA) Promoteur	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda.
Melle. Boucetta Radja Nada	(Doct) Co-Promoteur	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda.
Mme. Agoun Asma	(MCB) Examineur	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda.

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Avant toutes choses, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la volonté et la santé pour la réalisation de ce travail que nous espérons bénéfique.

*D'abord nous tenons, Vivement à exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude au notre encadreur **Mme. Dr. BOUCETTA Sabrina.**, (Enseignante-chercheur MCA) pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ainsi que pour sa grande patience et sa gentillesse jusqu'à la fin de ce mémoire.*

*A notre chère Co-Encadrante **Melle BOUCETTA Radja Nada.(Doctorante)**, pour avoir Co-encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ainsi que pour sa grande patience et sa gentillesse jusqu'à la fin de ce mémoire.*

*Nous remercions également **Mr. Dr. Boudjellab Zine Dine** (Enseignant-chercheur, MCA) pour avoir accepté de présider le jury de ce travail.*

*Nos remerciements sont adressés également à **Melle. Dr.. Agoun Asma** , (Enseignante-chercheur , MCB) d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions **Mme. Nouné Chahrazed** (Chef de laboratoire- GNLK-Sonatrach-Skikda), pour ses aides, ses conseils scientifiques et ses encouragements.*

*Un merci très spécial à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de la Willaya de Skikda spécialement à **Mr ZAYED Nacer** qui était trop généreux avec nous, C'est un honneur de travailler avec telles personnes compétentes.*

Un merci spécial à tous l'équipe du laboratoire de Baterio-Parasitologie de l'hôpital cicel pour leurs aides.

Nous remercions aussi l'équipe de laboratoire de la microbiologie université Skikda.

*Nous remercions **club blue planet** pour nous apporter la plante.*

À tous les étudiants de master de la promotion 2025.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je remercie tout d'abord Allah, qui m'a accordé la patience, la force et la sagesse tout au long de ce parcours.

*À mon père bien-aimé **Abdelghani**, celui qui m'a inculqué l'amour de la connaissance et a nourri dans mon cœur le sens de l'ambition, je vous dédie ce succès en reconnaissance de vos efforts sincères.*

*À ma mère **Nabila daif**, source de tendresse et de chaleur, Tu es la lumière qui éclaire mon chemin, Cette réussite t'appartient autant qu'à moi.*

*À la source de ma force, mes sœurs bien-aimées : **Hadil, Ikram, Ratil et Soujoud**, votre présence guide mes pas dans l'obscurité.*

À mes grands-parents, que Dieu leur accorde sa miséricorde. Leur souvenir, leurs prières et leur amour m'accompagnent à chaque étape de ma vie.

À tous les membres de ma chère famille,

À ceux qui m'ont donné leurs attentions, leurs encouragements ou leur espoir, vous êtes les véritables partenaires de cette réussite.

*À mes amies et tout spécialement à **Aya et Souhila**, vous êtes les sœurs que la vie m'a offertes.*

À vous tous, je dédie le fruit de cet effort, en espérant qu'il soit le commencement d'un avenir prometteur, avec l'aide de Dieu.

Amrane Rayene

Je dédie ce modeste travail :

*À Dieu Tout-Puissant,
qui m'a accordé la force, la santé et la patience
nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*À mes chers parents
mon père, mon pilier, et ma mère, la lumière de
mes yeux,
aucune parole ne saurait exprimer toute ma
gratitude et mon amour.*

*Merci pour vos sacrifices, votre soutien
indéfectible et votre présence tout au long de ma
vie.*

*Maman, tu as toujours été une mère exceptionnelle,
la seule qui comprenne réellement ma vie. Merci
infiniment.*

*À ma petite famille,
pour leur compréhension, leur patience et leur
amour.*

*À toutes mes collègues du hall Technologie,
et plus particulièrement à **Houda et Sihem**,
pour leur soutien, leur aide précieuse et les beaux
moments partagés.*

Boudjenah Souhila

*Je remercie Tout d'abord, Allah pour le courage et la
puissance qui m'a offert,*

*À la mémoire de ma mère **Ouarda mouas** à laquelle
j'exprime toute ma gratitude et mon estime en espérant
qu'elle soit fière de ce que je suis aujourd'hui.*

*À ceux qui ont éveillé en moi l'amour du savoir, et qui
ont été ma première source d'inspiration tout au long de
ce parcours rempli de défis...*

*À mon père **Saïd** et à son épouse,*

*À ma chère grand-mère dont les prières sincères m'ont
accompagnée à chaque pas vers la réussite,*

*À ma sœur **Maroua**, mon soutien,*

*À mes frères **Rami, Moamen et Madjed**,*

*À mes chères tantes, un véritable appui dans les moments
difficiles : **Samira** et son mari, **Rokaia** et **Noura**, à mon
oncle **Djamal**, mon second père, et à son épouse que je
remercie pour sa générosité,*

*À mes cousins et mes cousines qui ont partagé avec moi
la joie et la réussite,*

*À mes collègues **Rayene** et **Souhila**, je leurs dédie ce
travail en reconnaissance à leur soutiens durant ce long
parcours.*

Aya mansouri



Table des matières:

Table des matières, liste des figures et liste des tableaux.

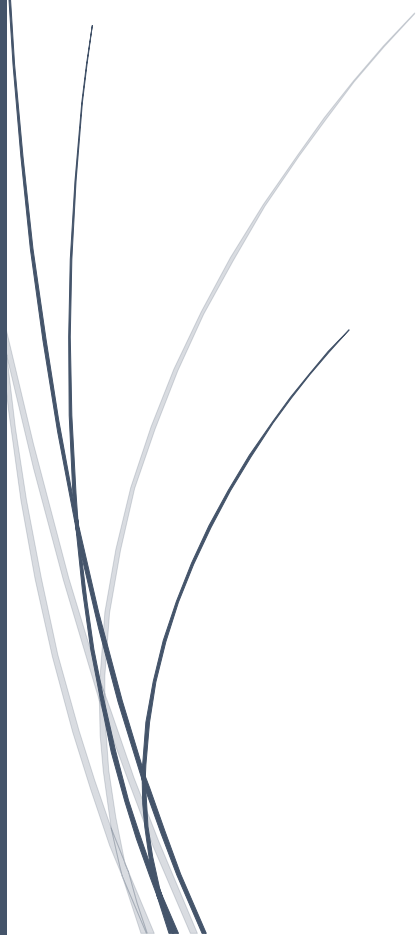


Table des matières

Résumés	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	01
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
1. Plan expérimental adopté et cadre de l'étude	07
Partie I : in vitro	
2. Préparation des extraits aqueux, et synthèse verte et eco-friendly des nanoparticules.....	09
a. Matériel végétal.....	09
b. Préparation des extraits aqueux	10
c. Synthèse verte des nanoparticules à base végétale.....	12
d. Synthèse microbienne des nanoparticules d'oxyde de zinc ZnO-NPs (Bact).....	14
3. Activité antibactérienne des nanoparticules bio synthétisées.....	16
3.1. Souches de référence (ATCC).....	16
3.2. Méthode de diffusion en puits.....	17
3.3. Test comparatif par antibiogramme.....	18
3.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	19
1. Préparation de l'inoculum	19
2. Ensemencement (méthode de Kirby-Bauer adaptée).....	19
3. Application des extraits / nanoparticules.....	19
3.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	20
1. Subculture.....	20
2. Incubation.....	20
3. Lecture.....	20
Partie II : In Vivo	
4. Contrôle de qualité microbiologique alimentaire de la chair d' <i>Oreochromis</i> sp. de l'eau d'aquariums expérimentaux.....	21
4.1. Contrôle de qualité microbiologique alimentaire de la chair d' <i>Oreochromis</i> sp.....	23
1. Méthode de préparation de la solution mère	23
2. Recherches et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile FTAM.....	25
3. Recherche et dénombrement de coliformes thermo tolérants (CTT).....	27
4. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	29
5. Recherche des <i>Salmonella</i> spp. Dans les tissus de poisson (<i>Oreochromis</i> sp.).....	34
4.2. Contrôle microbiologique de l'eau des aquariums expérimentaux (<i>Oreochromis</i> sp.)...	37
4.2.1. Échantillonnage et transport.....	37
4.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes par la méthode NPP	38
4.2.3. Contrôle microbiologique de l'eau : recherche et dénombrement des streptocoques (méthode NPP).....	41

Chapitre II : Résultats et discussion

1.Masse et rendement de biosynthèse des nanoparticules ZnONps (Mor et Bact)et AgNps (POV et POD)	44
2.Caractérisation macroscopique des souches étudiées.....	46
3.Caractérisation microscopique des souchesétudiées.....	47
4.Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes aux Nano particules.....	48
4.1.Résultats de l’antibiogramme des concentrations maximales de ZnO-NPs (MOR)...	48
4.2.Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes au Nanoparticules ZnO-NPs (MOR).....	50
4.3.Résultats de l’antibiogramme des concentrations maximales de ZnO-NPs (Bact).....	55
4.4.Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes à des nanoparticules ZnO-NPs (Bact).....	57
4.5.Résultats de l’antibiogramme à l’extrait Nanoparticule AgNPs (POV et POD) de <i>P.oceanica</i>	62
4.6. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes à l’extrait Nanoparticule AgNPs (POV et POD) de <i>P. oceanica</i>	66
5.Discussion comparative des formulations nanométriques : efficacité antimicrobienne et perspectives en biotechnologie bleue.....	73
6.Potentiel biotechnologique et application en aquaculture.....	74
7.Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Bactéricides (CMB) des nanoparticules	75
7.1. CMI Méthodologie appliquée.....	75
7.1.2.Méthode 1 : Repiquage systématique des zones d’inhibition.....	75
7.1.3.Méthode 2 : Repiquage ciblé (approche simplifiée).....	75
7.2.ésultats CMI/CMB de nanoparticules ZnO-NPs (MOR).....	76
7.3.Résultats CMI/CMB des ZnO-NPs (Bact).....	78
7.4. Résultats CMI/CMB des AgNPs (POV).....	80
7.5. Résultats CMI/CMB des AgN (POD).....	82
8. Résultats de Contrôle de qualité alimentaire d’ <i>Oreochromis</i> sp « supplémenté par l’extrait des nanoparticules» et de l’eau expérimentale.....	84
8.1. Résultats de Contrôle de qualité alimentaire d’ <i>Oreochromis</i> sp « supplémenté par l’extrait des nanoparticules ».....	84
8.1.1. Flore aérobie mésophile totale (FTAM).....	84
8.1.2.Coliforme thermo tolérants (CTT).....	86
8.1.3.Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> dans les tissus d’ <i>Oreochromis</i> sp.....	89
8.1.4. Recherche de <i>salmonella</i> sp dans les tissus d’ <i>Oreochromis</i> sp.....	91
8.2. Résultats des analyses microbiologiques de l’eau des aquariums.....	97
9. Discussion Générale	99
10.Conclusion et perspectives	113
11.Références Bibliographique	I

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Schéma général de la partie expérimentale.....	08
Figure 02	Les étapes de Préparation d'extraits aqueux.....	11
Figure 03	Synthèse verte des Nanoparticules d'origine végétale terrestre (ZnO-NPs (MOR)) et plante marine AgNPs (POV et POD).....	13
Figure 04	Synthèse verte des Nanoparticules d'origine bactérienne.....	15
Figure 05	Méthode de détermination des diamètres des zones d'inhibition des Nanoparticules (ZnO-NPs (MOR), (Bact) et AgNPs (POV et POD).....	18
Figure 06	Les solutions mères (Photo personnelle).....	24
Figure 07	Préparation de la solution mère et les dilutions décimales.....	25
Figure 08	Recherche des flores totales aérobies mésophiles.....	26
Figure 09	Recherche et dénombrement de coliformes thermo-tolérants.....	29
Figure 10	Protocole de recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Figure 11	Test catalase (photo personnelle).....	32
Figure 12	Pré-enrichissement de l'isolat bactérien.....	33
Figure 13	Test de coagulation (photo personnelle).....	33
Figure 14	Recherche des salmonelles.....	35
Figure 15	Identification présomptive par le test TSI.....	36
Figure 16	Identification des bactéries entériques par la méthode API 20E.....	37
Figure 17	Recherche et dénombrement des coliformes totaux (test présomptif).....	39
Figure 18	Recherche et dénombrement des coliformes thermo tolérants (test de confirmation).....	40
Figure 19	Recherche et dénombrement des Streptocoques totaux (test présomptif).....	42
Figure 20	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux (test confirmatif).....	43
Figure 21	Observations microscopiques (×100) des souches testées.....	47
Figure 22	Résultats l'antibiogramme réalisés par la méthode de diffusion sur gélose avec nanoparticules ZnO-NPs (MOR) <i>M. oleifera</i> vis-à-vis des cinq (05) souches bactériennes étudiées.....	49
Figure 23	Résultats Photographiques du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis Nanoparticules ZnO-NPs (MOR) de <i>M. oleifera</i>	50
Figure 24	Représentation graphique des résultats du test de sensibilité de souches bactériennes vis-à-vis Nanoparticules ZnO-NPs (MOR) de <i>M. oleifera</i>	54
Figure 25	Résultats l'antibiogramme réalisés par la méthode de diffusion sur gélose avec nanoparticules ZnO-NPs (Bact) vis-à-vis des cinq (05) souches bactériennes étudiées.....	55
Figure 26	Résultats Photographiques de ZnO-NPs (Bact) vis-à-vis des cinq (05) souches bactériennes étudiées.....	57
Figure 27	Représentation graphique des résultats du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis des nanoparticules ZnO-NPs (Bact).....	61
Figure 28	Résultats l'antibiogramme réalisés par la méthode de diffusion sur gélose avec nanoparticules AgNPs (POV et POD) vis-à-vis des cinq (05) souches bactériennes étudiées.	65

Figure 29	Effet de l'extrait Nanoparticule Silver de <i>P.oceanica</i> (POV et POD) vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.....	67
Figure 30	Représentation graphique des résultats du test de sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'extrait Nanoparticule Silver de <i>P.oceanica</i> (POV et POD).....	71
Figure 31	Histogramme des FTAM (UFC/g) chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	85
Figure 32	Résultats des FTAM chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	86
Figure 33	Histogramme des CTT (UFC/g) chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	87
Figure 34	Résultats des CTT (UFC/g) chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	89
Figure 35	Morphologie suspecte des colonies de type <i>Salmonella</i> sur milieu Hektoen chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	92
Figure 36	Histogramme des Résultats globales de contrôle de qualité des eaux d'élevage (NPP) <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	97
Figure 37	Rôle des plantes médicinales dans l'amélioration de la productivité aquacole grâce au renforcement de l'immunité et à la lutte contre les agents pathogènes face aux changements climatiques.....	100
Figure 38	Mécanismes de l'activité antibactérienne des NPs de ZnO.....	101

..

Liste des tableaux

N°	TITRE	Page
Tableau 01	Milieux de cultures utilisés dans l'activité antimicrobienne.....	17
Tableau 02	Antibiotiques utilisées pour les Nanoparticules (ZnO-NPs (MOR), (Bact) et AgNPs (POV et POD)).....	19
Tableau 03	Types de milieux de culture utilisés, leurs objectifs microbiologiques et références associées.....	22
Tableau 04	Dilutions de l'échantillon et protocole d'ensemencement sur milieu BCPL.....	38
Tableau 05	Préparation des dilutions pour le test NPP en bouillon Rothe.....	41
Tableau 06	Interprétation microbiologique du NPP/100 mL en contrôle de la qualité de l'eau.....	43
Tableau 07	Masse et rendement de biosynthèse des nanoparticules ZnONps (Mor et Bact) et AgNps (POV et POD).....	44
Tableau 08	La caractérisation macroscopique des souches étudiées.....	46
Tableau 09	Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne \pm l'écart type) des Nanoparticules ZnO-NPs (MOR) <i>M.oleifera</i> vis-à-vis des cinq (05) souches bactériennes étudiées.....	52
Tableau 10	Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne \pm l'écart type) des nanoparticules ZnO-NPs (Bact) vis-à-vis des cinq (05) souches bactériennes étudiées.....	59
Tableau 11	Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne \pm l'écart type) de l'extrait Nanoparticule Silver de <i>P.oceanica</i> (POV et POD) vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.....	69
Tableau 12	Dilutions des nanoparticules (mg/ml) pour la méthode des puits.....	76
Tableau 13	Détermination de la CMI et CMB des souches bactériennes vis-à-vis des nanoparticules de ZnO-NPs (MOR).....	77
Tableau 14	Détermination de la CMI et CMB des souches bactériennes vis-à-vis des nanoparticules de ZnO-NPs (Bact).....	79
Tableau 15	Détermination de la CMI et CMB des souches bactériennes vis-à-vis des nanoparticules de AgNPs (POV).....	81
Tableau 16	Détermination de la CMI et CMB des souches bactériennes vis-à-vis des nanoparticules de AgNPs (POD).....	83
Tableau 17	Démarche microbiologique suivie Conformément à la réglementation Algérienne et aux Normes Internationales pour la détection de <i>S. aureus</i> chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	90
Tableau 18	Démarche microbiologique suivie Conformément à la réglementation Algérienne et aux Normes Internationales pour la détection de <i>Salmonella</i> chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	94
Tableau 19	Identification des souches bactériennes par la galerie API E20 (logiciels API web et Application Mobile) chez <i>Oreochromis</i> sp nourris par les trois (03) régimes des nanoparticules (ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) y compris le témoin.....	96

Liste des abréviations

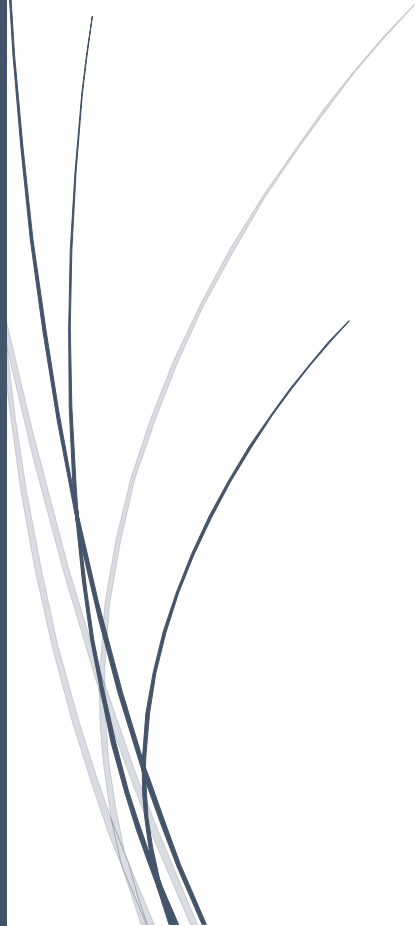
ATTC	American Type Culture
BCC	Bouillon cœur cerveau
DMSO	Diméthylsulfoxyde
ISO	Organisation internationale de normalisation
FAO	l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
GC	Giolitti Cantoni
ATB	Antibiotiques
BCPL	Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CTT	les coliformes thermo tolérants
ZOI	Zone d'inhibition
<i>P.oceanica</i>	<i>Posidonia oceanica</i>
<i>M. oleifera</i>	<i>Moringa oleifera</i>
MOR	<i>Moringa oleifera</i>
ZnO-NPs(Bact)	Nanoparticules d'oxyde de zinc bactérien
AgNPs-POV	Nanoparticules d'argent de <i>Posidonia oceanica</i> vert
AgNPs-POD	Nanoparticules d'argent de <i>Posidonia oceanica</i> déchets
FMAT	Flore mésophile aérobie totale
GN	Gélose nutritive
H	heure
M	Molarité (Mol/L)
CLSI	Clinical and laboratory Standards Institute
Min	Minute
MH	Mueller Hinton
NPP	Nombre le plus probable
PCA	Plate Count Agar
POD	Posidonie déchets
POV	Posidonie vert
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
SM	Solution mère
TSE	Tryptone sel eau
TSI	Triple Sugar Iron Agar
UFC	Unité Formant Colonie
mL	Millilitre
VRBL	Violet Red Bile Lactose
BMH	Bouillon Muller Hinton
C°	Degré Celsius
g	gramme
Kg	Kilogramme
mg	milligramme
nm	Nanomètre
mm	millimètre
%	Pour cent

Gram +	Gram positive
Gram -	Gram négative
NPs	Nanoparticules
mM	Milli mole
mg mL⁻¹	Milligramme par millilitre
RAM	Résistances antimicrobiennes
Rpm	Tours par minute
MNO	Minocycline
ETP	Ertapenem
OXC	Oxacillin (ou OX dans certaines références)
FEP	Cefepime
CZN	Cefazolin
H₂S	Sulfure d'hydrogène
ADN	Acide Désoxyribonucléique
Caq	Contrôle de qualité alimentaire
API 20E	Index de profil analytique 20 pour les entérobactéries
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
O₂	Oxygène
H₂O	Eau
NaOH	Hydroxyde de sodium
OMS	Organisation mondiale de la santé



Résumés :

Résumés : Français, Anglais et Arabe



Intitulée : "Potentiel antimicrobien des nanoparticules végétales & bactériens : applications in vitro et in vivo"

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Auteurs : AMRANE Rayene, BOUDJENAH Souhila et MANSOURI Aya

Année : 2024-2025

Résumé

Dans le cadre de préoccupations relevant de la **microbiologie appliquée**, cette étude s'inscrit dans une dynamique de recherche de **bio-alternatives efficaces aux antibiotiques classiques**, à travers la **synthèse verte de nanoparticules métalliques**. L'objectif principal est de proposer de nouvelles voies de **biosynthèse écologique des nanoparticules de zinc (ZnO-NPs)**, notamment les **ZnO-NPs (MOR)** issues de *Moringa oleifera* et les **ZnO-NPs (Bact)** dérivées de cultures bactériennes. Ces formulations ont été évaluées pour leur **activité antimicrobienne in vitro** contre cinq souches de référence (ATCC), incluant deux bactéries à **Gram positif** (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) et trois à **Gram négatif** (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027).

Parallèlement, l'efficacité de ces nanoparticules, ainsi que celle des **AgNPs issues de *Posidonia oceanica*** (feuilles vertes POV et feuilles déposées POD), a été évaluée **in vivo chez le tilapia (*Oreochromis sp.*)**, en tant que **compléments alimentaires antibactériens et immunostimulants**, à travers un suivi microbiologique de la chair et de l'eau d'élevage.

La **biosynthèse bactérienne des ZnO-NPs (Bact)** a montré un **rendement exceptionnel de 88 %**, surpassant les **ZnO-NPs (MOR)** (38,6 %) ainsi que les **AgNPs (POV : 78,66 % ; POD : 76,66 %)**. Ces résultats traduisent la robustesse et la viabilité de la voie bactérienne.

Sur le plan **in vitro**, les tests d'antibiogramme ont révélé des **zones d'inhibition (ZOI) notables** : [**ZnO-NPs (Bact)** : *S. aureus* (30 mm), *L. monocytogenes* (21 mm), *E. coli* (12 mm), *K. pneumoniae* (14 mm), *P. aeruginosa* (12 mm) ; **CMI = 0,0625 mg/mL pour toutes les souches testées**, avec effet homogène] ; [**ZnO-NPs (MOR)** : ZOI entre **3,33 ± 5,77 mm et 10,33 ± 10 mm**, **CMI = 0,0625 mg/mL** pour *L. monocytogenes* et *K. pneumoniae*, **CMI = 0,5 mg/mL** pour *S. aureus*] ; [**AgNPs (POD)** : *P. aeruginosa* (22 ± 2,82 mm), *K. pneumoniae* (20,5 ± 6,36 mm), *L. monocytogenes* (20 mm), **CMI uniforme = 0,0625 mg/mL**, malgré une réponse hétérogène selon les souches] et [**AgNPs (POV)** : ZOI de *S. aureus* (11 ± 1,41 mm) à *P. aeruginosa* (20,5 ± 0,70 mm), **CMI = 0,0625 mg/mL** pour l'ensemble des souches, mais avec une **activité plus sélective**, notamment sur les Gram⁻]. De manière générale, les **bactéries Gram⁻** (comme *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*) se sont révélées **plus sensibles** que les Gram⁺, ce qui corrobore les observations précédentes.

Sur le plan **in vivo**, l'administration de ces nanoparticules comme compléments alimentaires a permis : Une **réduction significative des germes mésophiles aérobies totaux (FMAT)**, Une **diminution des coliformes totaux et fécaux (CT et CF)** dans les tissus et l'eau, L'**absence totale de *Salmonella* et de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive**, confirmée par les tests biochimiques (Chapman, catalase, coagulase, API 20E), Une **meilleure survie des poissons traités** (taux de mortalité < 10 % sur 30 jours), Avec une **conformité microbiologique assurée uniquement avec ZnO-NPs (MOR)**, démontrant sa pertinence pour l'**aquaculture durable**.

À l'issue de cette étude, un **livret vétérinaire en microbiologie clinique et santé animale** a été élaboré, synthétisant les données biologiques et sanitaires issues de nos **quatre formulations nanoparticulaires**, en vue d'une **valorisation thérapeutique intégrée** dans les systèmes d'aquaculture innovants.

Mots-clés : *Moringa oleifera*, ZnO-NPs (Bact), ZnO-NPs (MOR), AgNPs (POV/POD), antibiogramme, **zones d'inhibition**, **CMI**, **CMB**, sécurité alimentaire, *Oreochromis sp.*, **biotechnologie bleue**.

Title : Antimicrobial Potential of Plant- and Bacteria-Based Nanoparticles: In Vitro and In Vivo Applications.

Specialty : Applied Microbiology-Master2

Authors : AMRANE Rayene, BOUDJENAH Souhila et MANSOURI Aya

Year : 2024-2025

Summary

In the context of applied microbiology, this study is part of a broader effort to develop effective bio-alternatives to conventional antibiotics through the green synthesis of metal-based nanoparticles. The main objective is to propose novel eco-friendly biosynthesis routes for zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs), particularly **ZnO-NPs (MOR)** derived from *Moringa oleifera* and **ZnO-NPs (Bact)** obtained from bacterial cultures. These formulations were assessed for their **in vitro antimicrobial activity** against five standard ATCC strains, including two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Listeria monocytogenes* ATCC 7644) and three Gram-negative strains (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027). In parallel, the **in vivo efficacy** of these nanoparticles, along with silver nanoparticles (AgNPs) synthesized from *Posidonia oceanica* (green leaves : POV; deposited leaves: POD), was evaluated in tilapia (*Oreochromis* sp.) as antibacterial and immunostimulant dietary supplements, through microbiological monitoring of fish flesh and rearing water.

Biosynthesis yield of ZnO-NPs (Bact) reached an outstanding **88 %**, outperforming ZnO-NPs (MOR) (**38.6 %**) and both AgNPs (POV: **78.66 %**, POD: **76.66 %**), highlighting the efficiency and viability of the bacterial pathway.

In vitro, the antibiogram tests showed the following **zones of inhibition (ZOI)** and **minimum inhibitory concentrations (MICs)**: [**ZnO-NPs (Bact)**: *S. aureus* (30 mm), *L. monocytogenes* (21 mm), *E. coli* (12 mm), *K. pneumoniae* (14 mm), *P. aeruginosa* (12 mm); **MIC = 0.0625 mg/mL** across all strains, with uniform efficacy] ; [**ZnO-NPs (MOR)** : ZOI ranged from **3.33 ± 5.77 mm to 10.33 ± 10 mm**; **MIC = 0.0625 mg/mL** for *L. monocytogenes* and *K. pneumoniae*, **0.5 mg/mL** for *S. aureus*].

AgNPs (POD) : *P. aeruginosa* (22 ± 2.82 mm), *K. pneumoniae* (20.5 ± 6.36 mm), *L. monocytogenes* (20 mm) ; consistent **MIC = 0.0625 mg/mL**, despite heterogeneous responses and **AgNPs (POV)** : ZOI from *S. aureus* (11 ± 1.41 mm) to *P. aeruginosa* (20.5 ± 0.70 mm); **MIC = 0.0625 mg/mL** for all tested strains, with more selective activity, particularly against Gram-negative bacteria]. Overall, **Gram-negative bacteria** (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*) appeared **more sensitive** than Gram-positive ones, supporting previous observations.

In vivo, dietary administration of these nanoparticles resulted in : A significant **reduction in total mesophilic aerobic bacteria (TMAB)** ; A marked **decrease in total and fecal coliforms** in both tissue and water samples; **Complete absence** of *Salmonella* and coagulase-positive *S. aureus*, confirmed by biochemical tests (Chapman, catalase, coagulase, API 20E); **Improved fish survival rates** (mortality < 10% over 30 days); **Full microbiological compliance** only observed with **ZnO-NPs (MOR)**, highlighting its relevance for **sustainable aquaculture**.

At the conclusion of this study, a **veterinary handbook** in clinical microbiology and animal health was developed, summarizing the biological and sanitary outcomes of the four nanoparticle formulations, aiming for integrated therapeutic use in **innovative aquaculture systems**.

Keywords: *Moringa oleifera*, ZnO-NPs (Bact), ZnO-NPs (MOR), AgNPs (POV/POD), antibiogram, inhibition zones, MIC, MBC, food safety, *Oreochromis* sp., blue biotechnology.

ملخص

في إطار الميكروبيولوجيا التطبيقية، تندرج هذه الدراسة ضمن الجهود الرامية إلى تطوير بدائل بيولوجية فعالة للمضادات الحيوية التقليدية، من خلال التركيب الأخضر لجسيمات النانو المعدنية. يتمثل الهدف الرئيسي في اقتراح مسارات جديدة وصديقة للبيئة لتخليق جسيمات نانو أكسيد الزنك (ZnO-NPs)، لاسيما (MOR) ZnO-NPs المشتقة من *Moringa oleifera* و (Bact) ZnO-NPs المشتقة من سلالات بكتيرية. تم تقييم هذه التركيبات من حيث نشاطها المضاد للميكروبات مخبرياً ضد خمس سلالات مرجعية قياسية (ATCC)، تشمل نوعين من البكتيريا إيجابية الغرام (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) و (*Listeria monocytogenes* ATCC 7644) وثلاث سلالات سالبة الغرام (*Escherichia coli* ATCC 8739)، (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) و (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027).

بالتوازي، تم تقييم الفعالية الحيوية لهذه الجسيمات النانوية، بالإضافة إلى جسيمات الفضة AgNPs المستخلصة من (*Posidonia oceanica*) الأوراق الخضراء (POV)، والأوراق المترسبة (POD)، على سمك البلطي (*Oreochromis sp.*) كمكملات غذائية مضادة للبكتيريا ومحفزة للمناعة، من خلال تتبع ميكروبيولوجي للعضلات ومياه التربية.

بلغ مردود التخليق الحيوي لـ ZnO-NPs (Bact) نسبة مبهرة قدرها 88 %، متفوقة على ZnO-NPs (MOR) (38.6% و 78.66% POV)؛ AgNPs (POV: % 76.66)؛ POD، مما يبرز كفاءة وجدوى المسار البكتيري.

في الاختبارات المخبرية (*in vitro*)، أظهرت اختبارات التحسس بالمضادات (الأنثيبوغرام) النتائج التالية فيما يخص مناطق التثبيط (ZOI) وتركيزات التثبيط الدنيا (30) *S. aureus* (MIC): ZnO-NPs (Bact)؛ *L. monocytogenes* (21) *E. coli* (12) مم، (14) *K. pneumoniae* مم، (12) *P. aeruginosa* (12 مم)؛ MIC موحد = 0.0625 ملغ/مل لكل السلالات مع فعالية متجانسة: ZnO-NPs (MOR). مناطق تثبيط تتراوح بين 0.5 ملغ/مل و 5.77 مم ± 10.33 مم؛ MIC = 0.0625 ملغ/مل لـ *L. monocytogenes* و *K. pneumoniae*، و 0.5 ملغ/مل لـ *S. aureus*.

L. monocytogenes (22 ± 2.82) *P. aeruginosa* (POD) AgNPs (20.5 ± 6.36) مم، *K. pneumoniae* (20) مم؛ MIC موحد = 0.0625 ملغ/مل رغم الاستجابات غير المتجانسة AgNPs. (POV) مناطق تثبيط تتراوح بين *S. aureus* (11 ± 1.41) مم و *P. aeruginosa* (0.70 ± 20.5) مم؛ MIC = 0.0625 ملغ/مل لكل السلالات، مع نشاط انتقائي أكبر خاصة تجاه البكتيريا سالبة الغرام.

بشكل عام، أظهرت البكتيريا سالبة الغرام *K. Pneumoniae*، *P. aeruginosa*، *E. coli* حساسية أعلى مقارنة بالبكتيريا إيجابية الغرام، وهو ما يتماشى مع النتائج السابقة.

في الاختبارات الحيوية (*in vivo*)، أدى استخدام هذه الجسيمات كمكملات غذائية إلى: انخفاض ملحوظ في عدد الجراثيم الهوائية الوسطية الكلية (TMAB)؛ تناقص واضح في عدد الكوليفورم الكلي والبرازي (CT) و (CF) في الأنسجة والماء؛ غياب تام لبكتيريا *Salmonella* و *S. Aureus* المخثرة، كما أكدته الاختبارات البيوكيميائية) تشابمان، الكاتالاز، الكواجولاز، (API 20E)؛ تحسن في معدلات البقاء على قيد الحياة لدى الأسماك المعالجة (معدل وفيات أقل من 10% خلال 30 يوماً)؛ تحقق كامل للمعايير الميكروبيولوجية فقط مع ZnO-NPs (MOR)، مما يعزز أهميته في الاستزراع المائي المستدام.

في ختام هذه الدراسة، تم إعداد كتيب بيطري في الميكروبيولوجيا السريرية وصحة الحيوان، يلخص النتائج البيولوجية والصحية لأربع تركيبات نانوية، بغرض إدماجها في الاستخدامات العلاجية ضمن أنظمة الاستزراع المائي المبتكرة.

الكلمات المفتاحية *Moringa oleifera*؛ ZnO-NPs (Bact)، ZnO-NPs (MOR)، AgNPs (POV/POD)، اختبار التحسس، مناطق التثبيط، MIC، MBC، سلامة غذائية، *Oreochromis sp.*، التكنولوجيا الزرقاء.



Introduction Générale

Introduction :

En raison de l'utilisation croissante et parfois inappropriée des antibiotiques, de nombreuses souches bactériennes ont atteint un niveau alarmant de résistance. La résistance aux antibiotiques est la principale cause des infections nosocomiales et elle constitue actuellement un problème de santé publique grave, qui entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et surtout une augmentation de la morbidité et de la mortalité dans le monde (Samuel *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2015).

L'aquaculture représente l'un des secteurs agro-industriels les plus en pleine expansion. Au cours de la dernière décennie, elle a largement contribué au développement économique mondial, en réponse à une demande croissante en protéines animales destinées à la consommation humaine, ainsi qu'à l'approvisionnement continu en matières premières pour les industries agroalimentaire et pharmaceutique (FAO, 2022).

Le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) constitue une espèce d'eau douce d'importance majeure dans les zones tropicales et subtropicales, reconnue pour son taux de croissance élevé et sa bonne acceptabilité par les consommateurs (Ibrahim *et al.*, 2021 ; Ibrahim *et al.*, 2019a).

Cependant, les pratiques intensives de l'aquaculture, devenues indispensables pour satisfaire la demande alimentaire mondiale croissante, ont favorisé l'émergence de diverses pathologies (Araujo *et al.*, 2022).

La principale cause des pertes massives enregistrées chaque année dans l'industrie aquacole, estimées à plusieurs milliards de dollars, est liée aux **infections bactériennes** (Abdelrahman *et al.*, 2023). Les **maladies bactériennes** représentent aujourd'hui le principal obstacle au développement durable de l'aquaculture (Rajme-Manzur *et al.*, 2021).

Le **Tilapia** est particulièrement vulnérable à plusieurs **pathologies bactériennes**, notamment dans les environnements stressants liés à l'élevage intensif (Medina *et al.*, 2020 ; Mugwanya *et al.*, 2021). Parmi les agents pathogènes les plus fréquemment rencontrés dans les fermes piscicoles figurent les **aéromonades mobiles** (Haenen *et al.*, 2023). En effet, en raison de la présence d'espèces du genre *Aeromonas*, les élevages de *Oreochromis niloticus* subissent des **pertes économiques importantes** et une **mortalité élevée** (Raj *et al.*, 2019).

Au sein de ce genre, *Aeromonas veronii* est une espèce particulièrement préoccupante, responsable d'une **mortalité significative** chez de nombreuses espèces de

poissons, y compris *O. niloticus* (Smyrli et al., 2022). *A. veronii* est un **pathogène à Gram négatif**, dont la virulence a été démontrée aussi bien chez l'homme que chez le poisson, avec des conséquences économiques graves pour l'industrie piscicole (Sun et al., 2016).

Cette bactérie est associée à plusieurs affections telles que le **syndrome ulcératif épizootique (EUS)**, la **septicémie à *Aeromonas mobile***, la **septicémie hémorragique** et d'autres **maladies infectieuses graves** (Abdel Rahman et al., 2022). Chez *O. niloticus* infectés par *A. veronii*, des signes cliniques tels que des **troubles oculaires**, une **exophtalmie bilatérale**, une **septicémie hémorragique** et des **ulcérations cutanées** ont été fréquemment observés (Bispo dos Santos et al., 2023).

La recherche de **solutions écologiques et efficaces** pour traiter les infections bactériennes constitue une nécessité absolue afin de réduire l'utilisation des antibiotiques en aquaculture (Abdel Rahman et al., 2023a, b ; Ibrahim et al., 2024). De nombreuses **fonctions biologiques** telles que les **activités antioxydantes, anti-inflammatoires** et surtout **antibactériennes** ont été mises en évidence dans les **plantes médicinales** (Ahmed et al., 2022 ; Ibrahim et al., 2019b).

L'**activité antimicrobienne des plantes médicinales** représente une piste innovante face aux risques croissants liés à la résistance aux antibiotiques. Ainsi, l'**identification** et l'**isolement de nouveaux composés bioactifs** issus de ces plantes, encore largement sous-explorées, s'avèrent d'une urgence capitale.

La grande **diversité chimique** de ces substances végétales témoigne de leur **potentiel thérapeutique**, tant comme **agents antimicrobiens directs** que comme **modulateurs de la résistance antimicrobienne** (Odongo et al., 2023 ; Vaou et al., 2021).

La **nanotechnologie** est un domaine multidisciplinaire qui se consacre à la **création, au développement** et à l'**utilisation de matériaux à l'échelle nanométrique** (entre 1 et 100 nm) (Ibrahim et al., 2022). Le secteur de l'**aquaculture** bénéficie considérablement des avancées nanotechnologiques, notamment dans la **purification de l'eau**, la **gestion des maladies aquatiques**, la **distribution ciblée de vaccins** ainsi que l'**amélioration de l'utilisation des aliments** (Abdel Rahman et al., 2022a ; Ibrahim et al., 2021 ; Mahboub et al., 2022).

En tant qu'**alternative aux traitements antimicrobiens conventionnels**, les **nanoparticules métalliques (NPs)** ont démontré une **efficacité antimicrobienne remarquable** (Ibrahim et al., 2022 ; Abdel Rahman et al., 2023).

L'**utilisation excessive des antibiotiques** en aquaculture a engendré de **nombreux défis**, notamment l'**émergence de la résistance aux antimicrobiens (RAM)**, la **contamination de l'environnement** et des **effets néfastes sur la santé des poissons** (Abdel-Tawwab et al., 2021). En réponse à ces préoccupations, les **plantes médicinales** sont apparues comme des **alternatives écologiques prometteuses** pour la gestion des **épidémies infectieuses**, en raison de leurs **propriétés antimicrobiennes à large spectre**, de leurs **effets immunomodulateurs** et de leur richesse en **phytoconstitués bioactifs** (Abdelkhalek et al., 2020).

Ces plantes offrent une **solution durable** pour lutter contre les **infections bactériennes et fongiques** en aquaculture, réduisant ainsi le recours aux **antibiotiques de synthèse**. Leur **activité antimicrobienne** repose sur divers **mécanismes d'action**, notamment la **désintégration des parois et des membranes cellulaires bactériennes** par des composés bioactifs tels que les **tanins**, les **alcaloïdes** et les **saponines**, conduisant à la **lyse cellulaire** (Abdelkhalek et al., 2020).

Les **produits d'origine végétale** suscitent récemment un **intérêt croissant** dans de nombreuses applications, notamment dans la **production alimentaire**, les **produits de santé** et les **procédés de bioremédiation**, en raison de leur **durabilité**, de leur **faible coût** et de leurs **effets secondaires moindres sur la santé humaine** (Devkota et al., 2021 ; Nunes et al., 2020).

Parmi ces produits, les **nanoparticules (NPs) synthétisées à partir de plantes** occupent une place de plus en plus importante par rapport à leurs homologues issues de la synthèse chimique, grâce à leur **empreinte environnementale réduite** (Srikanth et al., 2016).

De nombreuses études rapportent l'utilisation d'**extraits de plantes** pour la **synthèse de nanoparticules d'argent (AgNPs)** présentant une **activité antimicrobienne significative**. Parmi ces plantes figurent les extraits foliaires de *Acalypha indica* (Krishnaraj et al., 2010), *Solidago altissima* (Kumar et al., 2016), *Xanthium strumarium* L. (Mittal et al., 2017), *Murraya koenigii* (feuille de curry) (Christensen et al., 2011), *Ocimum sanctum* (feuille de Tulsi) (Ahmad N et al., 2010 ; Malapermal et al., 2017), les extraits de graines de *Acacia farnesiana* (Yallappa et al., 2013), de *Macrotyloma uniflorum* (Vidhu et al., 2011),

les extraits racinaires de *Trianthema decandra* (Geethalakshmi et Sarada 2012), les extraits de tiges de *Ocimum sanctum* (Ahmad et al., 2010), ainsi que les extraits de fruits de *Musa paradisiaca* (peaux de banane) (Bankar et al., 2010) et de *Carica papaya* (Jain et al., 2009).

Moringa oleifera est l'une des plantes les plus largement exploitées pour la **synthèse verte** d'une grande variété de **nanoparticules**, notamment celles à base d'**argent (AgNPs)**, **or (AuNPs)**, **bismuth (BiNPs)**, **fer (FeNPs)**, **oxyde de zinc (ZnO NPs)**, **oxyde de magnésium (MgO NPs)**, **oxyde de nickel (NiO NPs)**, **oxyde de cuivre (CuO NPs)**, ainsi que le **nanométal rare**, l'**oxyde de cérium (CeO NPs)** (Bindhu et al., 2020 ; Mittal J et al., 2017).

M. oleifera est une espèce bien connue du genre *Moringa*, reconnue pour sa **croissance rapide** et sa **capacité d'adaptation à des conditions environnementales extrêmes** (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011 ; Rivas et al., 2013). L'arbre *Moringa oleifera* pousse naturellement dans une large gamme de pays asiatiques et africains, notamment en **Inde, Sri Lanka, Pakistan, Bangladesh, Afghanistan, Madagascar** et dans la **péninsule arabe** (Anwar F et al., 2007). *M. oleifera* était déjà utilisée par les **anciens Égyptiens** dans des produits **cosmétiques** et pour le **traitement de la peau**. Elle était également connue et exploitée par les **Romains** et les **Grecs** (Leone A et al., 2015).

Actuellement, différentes parties de cette plante sont largement utilisées dans de nombreux domaines : **environnement, industrie, compléments alimentaires, et applications médicales** (Paikra BK et al., 2017 ; Bankar A et al., 2010). Par exemple, la **poudre de graines** est utilisée dans les procédés dits de **coagulation-floculation** pour la purification de l'eau potable, en éliminant des contaminants environnementaux tels que les **pesticides, colorants et produits pharmaceutiques** (Jain D et al., 2009 ; Siddhuraju P & Becker K 2003).

En outre, diverses parties de la plante, notamment les **graines, fleurs et feuilles**, sont d'excellentes sources nutritionnelles de **protéines, lipides, vitamines, bêta-carotène, minéraux** et autres nutriments, ce qui en fait un ingrédient recherché dans la **technologie alimentaire** (Geethalakshmi R & Sarada D, 2012 ; Fahey, 2005 ; Makkar H & Becker K, 1997).

Les **feuilles**, au-delà de leur valeur nutritionnelle, contiennent une large diversité de **métabolites secondaires** aux activités **antimicrobiennes**, **antioxydantes**, **stimulantes de la croissance** et **immunostimulantes**. Ces propriétés font de la plante une **alternative naturelle prometteuse** pour l'alimentation animale, notamment en **aviculture** et **élevage biologique**, dans le cadre de la production de **viande et d'œufs biologiques**, dont la demande publique a fortement augmenté ces dernières années (**Rahman et al., 2009**).

Les **feuilles**, en particulier, sont reconnues pour leurs **propriétés curatives naturelles** et sont largement consommées sous **différentes formes** (**Kumari P et al., 2006 ; Makkar H & Becker K, 1977**). Les recherches menées jusqu'à présent ont montré que les **extraits de feuilles** possèdent une **forte activité antioxydante naturelle** ainsi qu'une certaine **activité antibactérienne** contre les **bactéries Gram-positives** et **Gram-négatives** (**Siddhuraju P & Becker K, 2003 ; Rahman et al., 2009**).

L'oxyde de zinc (ZnO) est un semi-conducteur important de type n, possédant une large bande interdite (3.37 eV) (**Jiang et al., 2018 ; Rad et al., 2019**) et des propriétés très spécifiques, telles qu'une énergie d'excitation élevée (**Umamaheswari et al., 2018**), une meilleure transparence et une grande mobilité électronique (**Çolak et al., 2017**).

Le zinc (Zn) est essentiel aux processus physiologiques et aux performances globales des poissons. La plupart des métallo-enzymes, impliquées dans le métabolisme des protéines, des acides nucléiques et de l'énergie, contiennent du zinc (**Dawood et al., 2021**). Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnONP), issues d'études antérieures, ont démontré leurs effets bénéfiques sur la croissance des poissons, la biochimie sanguine, l'immunité et les enzymes antioxydantes (**Kumar et al., 2023**). En raison de leurs propriétés antibactériennes distinctes, les ZnONPs peuvent être utilisés beaucoup plus largement que le ZnO en vrac (**Mohd Yusof et al., 2019**). In vitro, les ZnO-NPs ont inhibé la croissance de diverses bactéries (Gram-positives et Gram-négatives) (**Alotaibi et al., 2022**).

Plusieurs méthodes chimiques de production des NPs de ZnO ont été rapportées dans la littérature, telle que la technique sol-gel (**Al Abdullah et al., 2017**), la coprécipitation (**Devi et Velu, 2016**) et l'hydrothermie (**Bharti et Bharati, 2016**). Mais ces techniques sont en général coûteuses et nécessitent des produits chimiques toxiques parfois nocifs pour l'environnement et les organismes vivants (**Gour et Jain, 2019**).

Pour cette raison, les recherches se sont concentrées pour développer des voies biologiques simples, rentables, biocompatibles et respectueuses de l'environnement en exploitant les ressources naturelles, principalement les extraits de plantes pour minimiser l'utilisation des réactifs toxiques (**Rajan et al., 2015 ; Lee et al., 2020**).

Dans ce contexte, il est essentiel de concevoir des stratégies innovantes capables de surmonter la résistance bactérienne et d'éradiquer ou de prévenir les infections du cheptel aquatique associées aux ces dernières.

Nous inscrivons dans des préoccupations Microbiologiques, il nous a semblé pertinent de proposer des nouvelles voies de synthèse biologique des NPs métalliques de **ZnO-NPs (MOR)** en utilisant l'extrait aqueux de *M. olifera* et **ZnO-NPs (Bact)** d'évaluer leur activité antimicrobienne vis-à-vis cinq (05) souches ATCC (deux (02) Gram- « *Staphylococcus aureus* (ATTC 29213) ; *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) » et trois (03) Gram- « *Escherichia coli* (ATCC 8739) ; *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 9027) »), ainsi que l'efficacité de nos Formulations ZnO-NPs (MOR) et AgNPs (POV et POD) vis-à-vis le contrôle de qualité alimentaire d'*Oreochromis* sp (tissus et eau).

La première partie de ce manuscrit regroupera une introduction générale dédiée au monde nanométrique, comportera une présentation du matériel végétal et bactérien utilisé. Les caractéristiques des modèles biologiques *Oreochromis* sp et la nano-bioencapsulation avec les protocoles expérimentaux (in vitro et in vivo) mis en place régis par la réglementation Algérienne sur le profil microbiologique nutritionnel chez l'espèce et l'eau d'élevage seront regroupées dans le chapitre Matériel et Méthodes.

La deuxième partie comportera. Les chapitres "Résultats" et "Discussion" sont ensuite exposés avant de dresser un bilan-comparative qu'est une suite des travaux de **Boucetta et al., 2025** sur la **biotechnologie Blue- phase I** et ce par les AgNPs (POD et POV) respectivement, les feuilles de *Posidonia Oceanica* détachées et verte. L'ensemble de ces constats est compilé au travers d'une conclusion générale et de présenter les perspectives d'études sur lesquelles ces travaux seraient susceptibles de déboucher.



Chapitre 01 :

Matériels et Méthodes

