

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

MATRICES HÔTES POLYMÉRIQUES POREUSES POUR DES SOUS-NANOPARTICULES MÉTALLIQUES
HAUTEMENT DISPERSÉES À ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE : ASPECTS MÉCANISTIQUES

THÈSE

PRÉSENTÉE

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DU DOCTORAT EN CHIMIE

PAR

FARZANEH NOORI

JANVIER 2023

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.04-2020). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je suis extrêmement reconnaissante envers mes superviseurs, Pr. Mircea A. Mateescu et Pr. Abdelkrim Azzouz, pour leur supervision inestimable, leur soutien, leurs conseils et leur patience tout au long de mon doctorat. Leur immense savoir et leur riche expérience m'ont encouragée tant dans ma recherche académique que dans ma vie quotidienne. Je ne pourrais pas non plus avoir entrepris ce parcours sans le comité de jury – Pr. Mohamed Sijaj et Pr. David Dewez – qui ont généreusement partagé leurs connaissances et leur expertise.

Ma gratitude s'étend au centre de recherche en infectiologie porcine et avicole (CRIPA) de l'Université de Montréal (UdeM) pour l'attribution, à trois reprises, de la bourse « ENSEMBLE POUR LA PROCHAINE GÉNÉRATION » qui m'a permis de mener mes études. De plus, cette entreprise n'aurait pas été possible sans le soutien financier généreux de l'Université du Québec à Montréal (UQAM, SOUTIEN UNIVERSEL AU DOCTORAT).

Je tiens à remercier le Dr Lihong Shang (Université McGill), le Dr Jean-Philippe Massé (Polytechnique Montréal) et le Dr G. Chamoulaud (Nanoqam) pour leur assistance technique. Ma reconnaissance va également au Pr. Younes Chorfi et au Dr Armelle Tchoumi Neree pour leur collaboration avec notre groupe de recherche dans le cadre d'un projet conjoint entre l'UQAM et l'UdeM.

Je suis également reconnaissante envers mes collègues – Marc-André Labelle et Meriem Megoura – pour leur collaboration, qui a influencé la conception de mes expériences et l'analyse de mes résultats. Je ne saurais oublier mes camarades de laboratoire des groupes de recherche des Pr. Mircea A. Mateescu, Pr. Abdelkrim Azzouz et Pr. René Roy, qui m'ont soutenue et inspirée tout au long de ce parcours.

Enfin, les mots ne sauraient exprimer toute ma gratitude envers ma mère et mon père, Lida et Rasoul Noori, qui m'ont mise sur la voie de ce doctorat depuis longtemps. Sans leur compréhension et leur encouragement indéfectibles ces dernières années, il m'aurait été impossible d'achever mes études.

Pour conclure, je ne peux oublier de remercier mon petit frère, Pooya Noori, qui a su me remonter le moral dans les moments difficiles grâce à son humour unique.

À mes parents et à mon frère – nous avons traversé ensemble des hauts et des bas ces trois dernières années. À chaque fois que j'étais sur le point d'abandonner, vous ne m'avez pas laissée faire, et je vous en serai éternellement reconnaissante. Cette thèse de doctorat est le témoignage de votre amour inconditionnel.

DÉDICACE

Je souhaite dédier cette thèse à mes parents, Rasoul et Lida Noori, dont les mots d'encouragement et l'incitation à la persévérance résonnent encore à mes oreilles. Vous avez été ma source d'inspiration, de soutien et de guidance. Vous m'avez appris à être unique, à croire en moi et à toujours persévérer. Je suis profondément reconnaissant(e) et honoré(e) de vous avoir comme parents.

Pour reprendre une citation d'Albert Schweitzer :

"Parfois, notre propre lumière s'éteint et est ravivée par une étincelle provenant d'une autre personne. Chacun de nous a des raisons de penser avec une profonde gratitude à ceux qui ont rallumé la flamme en nous."

Vous, maman et papa, avez été cette étincelle lorsque ma lumière vacillait. Merci pour votre amour inébranlable et votre soutien tout au long de ce parcours que j'ai entrepris. Je vous aime pour toujours.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	<i>ii</i>
DÉDICACE.....	<i>iii</i>
LISTE DES FIGURES.....	<i>vii</i>
LISTE DES SCHÉMAS.....	<i>ix</i>
LISTE DES TABLEAUX.....	<i>x</i>
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	<i>xi</i>
LISTE DES SYMBOLES ET UNITÉS.....	<i>xiii</i>
RÉSUMÉ.....	<i>xiv</i>
INTRODUCTION.....	1
CHAPTER 1 CHAPITRE 1 REVUE CRITIQUE DES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE.....	11
1.1 Défi de la résistance bactérienne.....	11
1.1.1 Mécanismes généraux de l'activité antibactérienne des antibiotiques conventionnels.....	11
1.1.2 Causes de la résistance bactérienne.....	13
1.1.3 Principaux mécanismes de résistance bactérienne.....	15
1.1.4 Tentatives pour aborder la résistance bactérienne.....	18
1.2 Espèces métalliques pour lutter contre la résistance bactérienne aux médicaments.....	20
1.3 Cations métalliques avec activité antibactérienne.....	21
1.3.1 Perturbation de la paroi cellulaire bactérienne.....	22
1.3.2 Génération des ROS et détériorations intracellulaires.....	25
1.3.3 Activité antibactérienne des cations de cuivre.....	25
1.3.3 Activité antibactérienne du cation argent.....	27
1.4 Métaux à valence zéro avec activité antibactérienne.....	29
1.4.1 Méthodes de préparation des MNP.....	29
1.4.2 Rôle de l'agent stabilisant.....	32
1.4.3 Mécanismes antibactériens des MNP.....	33

1.4.4	Rôle de la taille des particules de MNP	34
1.5	Approche pour la synthèse d'agents antibactériens chargés en métal	37
1.5.1	Matrices hôtes à base d'argile	37
1.5.2	Matrices hôtes à base de biopolymères	38
1.5.3	Concept du compromis optimal entre la libération et la rétention des métaux	43
CHAPTER 2 PARTIE EXPÉRIMENTALE		44
2.1	Liste des produits chimiques et matériaux employés dans les deux étapes de cette recherche	44
2.2	Protocoles de préparation des matériaux chargés en cations et en métaux	45
2.2.1	Dispersion des métaux sur les supports composites	46
2.3	Introduction aux techniques instrumentales et méthodes analytiques pour la caractérisation des matériaux synthétisés.....	48
2.4	Stratégie utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne en termes de diamètre de zone d'inhibition et de taux de viabilité	49
CHAPTER 3 APERÇUS SUR LE RÔLE DE LA RÉTENTION DES MÉTAUX DANS LE COMPORTEMENT ANTIBACTÉRIEN DES NANOPARTICULES DE CUIVRE ET D'ARGENT SUPPORTÉES PAR LA MONTMORILLONITE (NaMt) ET LES TISSUS CELLULOSIQUES		52
3.1	Introduction.....	54
3.2	Résultats et discussion	57
3.2.1	Dispersion des métaux sur des supports non modifiés.....	57
3.2.2	Effet de l'incorporation de polyol sur la dispersion des métaux.....	59
3.2.3	Changements de la basicité de surface de l'argile	62
3.2.4	Changements de la basicité de surface du CT.....	63
3.2.5	Changements du caractère hydrophile	64
3.2.6	Autre perte de masse et effet sur le caractère hydrophile	64
3.2.7	Mise en évidence de la rétention des métaux sur la surface de l'argile	65
3.2.8	Rôle de l'atome d'oxygène dans l'interaction métal-argile.....	66
3.2.9	Interaction des métaux dans les matrices organiques.....	67
3.2.10	Rôle de l'atome d'oxygène dans l'interaction métal-polymère	69
3.2.11	Activité antibactérienne de NaMt	70
3.2.12	Effet de la dispersion de l'argile et de la taille des particules.....	72
3.2.13	Effet de la quantité de métal dans les échantillons d'argile	74

3.2.14	Effet de la surface solide.....	75
3.3	Conclusion	77
CHAPTER 4 SYNTHÈSE DE BIOPOLYMÈRES CARBOXYLÉS CHARGÉS EN MÉTAUX AVEC UNE ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE PAR INCORPORATION DE SOUS-NANOPARTICULES MÉTALLIQUES		79
4.1	Introduction.....	81
4.2	Résultats et Discussion	83
4.2.1	Effets de la structure des biopolymères (CMC et CMS) et de l'ajout d'argile	83
4.2.2	Effet de l'incorporation de métaux	84
4.2.3	Interdépendance du potentiel Zêta - pH - taille des particules du matériau	85
4.2.4	Preuves XPS des interactions cation-matrice.....	86
4.2.5	Interaction du biopolymère avec les MNP et la montmorillonite.....	88
4.2.6	Dispersion des métaux zéro-valent.....	88
4.2.7	Effet de la structure du biopolymère et de l'incorporation des métaux sur l'activité	91
	antibactérienne	91
4.2.8	Effets de la quantité de cation et du pH sur l'activité antibactérienne.....	93
4.2.9	Effets de la dispersion des matériaux et des métaux sur l'activité antibactérienne.....	95
4.3	Conclusion	97
CHAPTER 5 CONCLUSION GÉNÉRALE		98
ANNEXE A Informations complémentaires pour l'article 1		104
ANNEXE B Informations complémentaires pour l'article 2		110
ANNEXE C Preprint		118
BIBLIOGRAPHIE.....		131

LISTE DES FIGURES

Figure 3.1. Images SEM de NaMt, CT et de leurs homologues chargés en métal.....	58
Figure 3.2. Images SEM de Cu ⁰ /H2O-CT	59
Figure 3.3. Images TEM des composites H2O-NaMt chargés en métal.	60
Figure 3.4. Diamètre moyen des particules de composites H2O-NaMt chargés en métal, évalué par le logiciel Image-J.	61
Figure 3.5. Signaux XPS pour les électrons O1s dans NaMt et leurs homologues chargés en métal.	67
Figure 3.6. Signaux XPS C1s pour CT sans métal, H2O et H2O-CT	68
Figure 3.7. Signaux XPS C1s pour CT chargé de Cu (a) et H2O-CT chargé de Cu (b).	68
Figure 3.8. Signaux XPS O1s après chargement du CT par le dendrimer H2O (a) et CuNP (b).	69
Figure 3.9. Signaux O1s pour les électrons O1s dans CT seul (a) et dendrimère H2O seul (b).	70
Figure 3.10. Zones d'inhibition de la prolifération des deux souches bactériennes en présence de NaMt et de leurs homologues chargés en métaux.	71
Figure 3.11. Effet du pH sur la taille moyenne des particules (a) et le potentiel Zeta (b), leur interdépendance (c) et l'influence de la taille des particules sur l'IZD pour les deux souches bactériennes (d).....	73
Figure 3.12. Effet de la quantité de matériau antibactérien sur le diamètre des zones d'inhibition dans des boîtes de Petriensemencées avec environ 74 x 10 ⁶ unités formatrices de colonies (UFC)/mL de chaque espèce bactérienne, avec une densité optique cellulaire de 0.5 à 600 nm.	74
Figure 3.13 montre clairement l'effet du potentiel Zêta sur le diamètre des zones d'inhibition (IZD) pour les deux souches bactériennes.	76
Figure 4.1 : Influence du pouvoir de polarisation du cation métallique incorporé sur le potentiel Zêta des CMC et CMS chargés en métal.	85
Figure 4.2. Relation entre le potentiel Zêta et le pH (A), la taille des particules du matériau et le potentiel Zêta (B) et la taille des particules du matériau et le pH (C) des milieux de dispersion.	86
Figure 4.3. Image TEM (A), spectre ED-XRF (B) et distribution de la taille des particules Cu ⁰ dans le CMC (C,D)	89
Figure 4.4. Images TEM (A, B) et distribution de la taille des particules Ag ⁰ dans le CMC (C, D) et le CMS (E).	90

Figure 4.5. Images TEM et distribution de la taille des particules d'Ag ⁰ dans CMC/NaMt (A, B) et CMS/NaMt (C, D).	91
Figure 4.6. Diamètre de la zone d'inhibition en fonction de la quantité d'Ag ⁺ chargée sur CMC (A) et CMS (B).	94
Figure 4.7. Dépendance du diamètre de la zone d'inhibition (IZD) en fonction du pH initial imposé (A) et du pH intrinsèque des biopolymères chargés en métal (B).....	95
Figure 4.8. Effet de la taille des particules du matériau (A) et du potentiel Zêta (B) sur le diamètre de la zone d'inhibition (IZD).	96
Figure 4.9. Évolution de la viabilité d'E. coli en présence des échantillons CMC.....	96

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 1.1. La transpeptidase fait partie des protéines liant la pénicilline (PBP) du microorganisme.....	12
Schéma 1.2. Stress oxydatif induit par l'exposition aux métaux lourds.....	27
Schéma 1.3. Structure chimique de la NaMt (a), dispersion des métaux dans les couches d'aluminosilicate de la NaMt (b).....	39
Schéma 1.4. Structures chimiques des biopolymères étudiés.....	40
Schéma 1.5. Incorporation de NaMt avec CMC ou CMS (a) et imprégnation de NaMt avec polyol et dispersion des métaux (b).	42

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Mode d'action des différentes classes d'antibiotiques	14
Tableau 1.2. Mécanisme de résistance des différentes souches bactériennes.....	16
Tableau 1.3. Approches pour lutter contre la résistance bactérienne.	19
Tableau 1.4. L'état de l'art sur les applications biomédicales des cations métalliques.....	23
Tableau 1.5 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de synthèse des nanoparticules magnétiques (MNP).....	31
Tableau 1.6. L'état de l'art sur les applications biomédicales des nanoparticules métalliques.	35
Tableau 3.1. Capacité de rétention du CO ₂ (μmol/g) et perte de poids des matériaux synthétisés.	62
Tableau 3.2. Déplacements de l'énergie de liaison (eV) pour les éléments clés dans les matériaux synthétisés.....	66
Tableau 3.3. Diamètre des zones d'inhibition (cm) pour les matériaux à base de cellulose chargés en métal.	75
Tableau 4.1. Quelques caractéristiques physico-chimiques des matériaux étudiés	83
Table 4.2. Déplacement de l'énergie de liaison (eV) pour les éléments clés dans les matériaux synthétisés	87
Tableau 4.3. Diamètre de la zone d'inhibition (IZD) pour les échantillons à base de biopolymères.....	93

LISTE DES ABRÉVIATIONS

MMI	Interaction Métal-Matrice
RT	Température Ambiante
CRC	Capacité de Rétention du CO ₂
FCC	Cubique à Face Centrée
WL	Perte de Poids
ROS	Espèces Réactives de l'Oxygène
H ₂ O	Boltorn™ H ₂ O
CFU	Unités Formant des Colonies
PS	Taille des Particules
CT	Tissu Cellulosique
CMS	Carboxyméthylamidon
CMC	Carboxyméthylcellulose
NaMt	Montmorillonite Sodique
MSNP	Subnanoparticule Métallique
MNP	Nanoparticule Métallique
IZD	Diamètre de la Zone d'Inhibition
LAB	Interaction Acide-Base de Lewis
TPD	Désorption Programmée Thermique
XPS	Spectroscopie de Photoélectrons X
TGA	Analyse Thermogravimétrique
SEM	Microscopie Électronique à Balayage
ZS	Zetasizer
ZP	Potentiel Zêta
TEM	Microscopie Électronique en Transmission
XRD	Diffraction des Rayons X
EX-XRF	Fluorescence X à Dispersion d'Énergie
EDAX	Analyse X à Dispersion d'Énergie
OD ₆₀₀	Densité Optique à 600 nm
LB	Bouillon de Lysogénie
ZVM	Métal à Valence Zéro

CM	Groupe Carboxyméthyle
Gu	Unité Glucose
CEC	Capacité d'Échange Cationique
GP	Gram-Positif
GN	Gram-Négatif
HSAB	Théorie Acide-Base Dur-Mou
DHP	Dihydropteroate Synthase
OM	Membrane Externe
AMR	Résistance Microbienne aux Antibiotiques
DS	Degré de Substitution
PP	Pouvoir Polarisant
BE	Énergie de Liaison
SPP	Plusieurs Espèces
SPC	Numération Standard sur Gélose
XANES	Spectroscopie de Structure d'Absorption des Rayons X au Voisinage du Bord

LISTE DES SYMBOLES ET UNITÉS

mV	Microvolt
°C	Degré Celsius
mg	Milligramme
mL	Millilitre
cm	Centimètre
nm	Nanomètre
mol/g	Mole par gramme
eV	Électronvolt
h	Heure
mmol/g	Millimole par gramme
CFU.mL ⁻¹	Unités Formant Colonie par Millilitre
rpm	Révolutions ou rotations par Minute
W	Watt
kHz	Kilohertz
kDa	Kilodalton
MW	Microwatt
μmol/g	Micromole par gramme
Å	Angström
μm	Micromètre
°C.min ⁻¹	Degré Celsius par Minute
mL.min ⁻¹	Millilitre per Minute
mm ²	Millimètre carré
wt. %	Pourcentage en poids
w/v	Poids par volume
w/w	Poids par poids
M	Molaire

RÉSUMÉ

Cette recherche doctorale était dédiée à l'élaboration de nouveaux matériaux à base d'argile et de cellulose, chargés en métaux et ayant une activité antibactérienne, pour résoudre le problème de résistance bactérienne avec les antibiotiques conventionnels. Ce travail de recherche présente une nouvelle approche qui relie la capacité de rétention des métaux à leur activité antibactérienne sur deux microorganismes (*E. coli* and *B. subtilis*), et a été couronné de deux publications. La première publication traite des interactions entre la matrice hôte de montmorillonite ou des dendrimères de type polyols sur support de cellulose, avec des particules de métal comme CuNP, AgNP et leur forme cationique, ainsi que de leurs rôles dans l'activité antibactérienne. Des analyses approfondies du rôle de l'atome d'oxygène ont permis d'obtenir une deuxième publication en étendant le concept d'interaction Métal:Oxygène jusqu'aux fonctions carboxyméthyle de deux différents polymères, notamment la carboxyméthylcellulose (CMC) et le carboxyméthylamidon (CMS). Il fut observé que le CMS et la CMC étaient des bonnes matrices hôtes pour des particules métalliques sub-nanométriques dont le diamètre est plus petit que 1 nm. À ces fins, une combinaison de techniques instrumentales comme la spectroscopie photo électronique des rayons-X et la microscopie électronique à transmission était une stratégie judicieuse. Les résultats ont révélé que l'activité antibactérienne, exprimée en termes de diamètre de zone d'inhibition (IZD) dans la première publication et en termes de IZD et tests de viabilité dans le second article, augmente lorsque l'énergie de liaison (Binding energy, BE) des métaux avec les différents atomes diminue et lorsque la taille des particules de métal diminue. L'activité antibactérienne dépend du type de métal mais aussi de leur état d'oxydation. Les meilleures performances ont été enregistrées pour le cuivre cationique et métallique ainsi que pour Ag⁺. Il fut observé que l'activité antibactérienne des nanoparticules métalliques (MNPs) était plus grande quand la force de rétention était faible et quand la surface de contact avec les micro-organismes était élevée. Le potentiel zêta, la taille des particules et les mesures de pH permettent d'affirmer qu'une force de répulsion plus grande entre les grains chargés en métaux réduit la granulométrie, améliore la dispersion en solution moins acide, augmente la surface de contact avec les micro-organismes et donc, améliore l'activité antibactérienne. Un judicieux compromis entre la rétention des métaux, leur libération par la matrice hôte dans le milieu de culture et leur caractère hydrophile s'est avéré être une exigence essentielle pour obtenir un effet bactéricide prononcé. Des interactions acide-base de Lewis compétitives sont impliquées entre les MNPs et les atomes d'oxygène de la matrice hôte, et peuvent expliquer l'efficacité antibactérienne des métaux dispersés. Ces découvertes permettent de sélectionner des candidats prometteurs pour la conception de matrices chargées en MNPs, efficaces pour traiter les infections dermiques (cutanées) et gastro-intestinales.

Mots clés : Organoargiles; Montmorillonite; Carboxyméthylcellulose; Carboxyméthylamidon; Particules métalliques sous-nanométriques; Spectroscopie photoélectronique par rayons X; Activité antibactérienne.

INTRODUCTION

1. Considérations générales et contexte

Les antibiotiques sont naturellement présents dans de nombreuses sources végétales, en particulier dans les champignons. Toutefois, de nos jours, une grande partie de l'industrie pharmaceutique est dédiée à la fabrication de molécules ayant un effet biocide contre les bactéries pathogènes. Ces molécules ont contribué à d'importantes avancées en matière de santé humaine et animale.

Cependant, l'utilisation excessive des antibiotiques en médecine clinique, en agriculture, en aquaculture, en pratique vétérinaire, en aviculture, et même dans la composition de certains produits ménagers, a soulevé de nombreuses problématiques environnementales. Parmi celles-ci, le rejet inévitable d'antibiotiques dans la nature constitue une source de pollution ayant des effets négatifs sur la biodiversité et la santé humaine. Dans l'environnement ainsi que dans le corps des animaux, les antibiotiques agissent non seulement comme des polluants organiques lorsqu'ils sont présents à des concentrations inappropriées, mais ils favorisent également l'émergence de bactéries pathogènes résistantes aux médicaments. (Allen *et al.*, 2010; Courvalin, 1994; Karkman *et al.*, 2018). Les gènes responsables de cette résistance proviennent du propre mécanisme de défense des bactéries hôtes contre les antibiotiques. Étant donné que les bactéries participent à presque tous les processus biologiques dans la nature, les gènes de résistance persistent dans l'environnement et sont continuellement produits par les bactéries présentes dans les sols. (Knapp *et al.*, 2010; Van Goethem *et al.*, 2018). Ces gènes se propagent rapidement dans la nature, affectant inévitablement d'autres espèces de bactéries normales.

Il existe trois principales catégories de mécanismes généraux de résistance des bactéries aux antibiotiques :

1. limiter l'absorption du médicament, 2. modifier la cible du médicament, 3. inactiver le médicament et l'efflux actif du médicament. (Lima *et al.*, 2013; Mcmanus, 1997). Chacun de ces mécanismes sera profondément analysé dans le chapitre théorique de la présente thèse de doctorat. Les mécanismes de résistance utilisés par les bactéries Gram-négatives et Gram-positives devraient être différents en fonction de la structure de la paroi cellulaire des bactéries. Les quatre mécanismes mentionnés ci-dessus sont supposés être impliqués par les souches Gram-négatives. L'absence de la membrane externe de lipopolysaccharide (LPS) dans la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives les amène à agir moins via les mécanismes 1 et 4. (Reygaert, 2018).

Les mécanismes de défense des bactéries incluent également une résistance aux métaux lourds, bien que la plupart des métaux, à l'exception des « métaux xenobiotiques », puissent être métabolisés à des concentrations appropriées là où et quand cela est nécessaire. Ici aussi, quatre mécanismes possibles peuvent être impliqués : 1. l'efflux extracellulaire par des pompes ; 2. la formation de complexes avec d'autres composants ; 3. les réactions redox ; 4. la séquestration intra et extracellulaire. Les bactéries expulsent activement ces éléments toxiques des cellules bactériennes en développant des mécanismes d'efflux pour empêcher l'accumulation et la concentration des métaux lourds. Un autre mécanisme de défense des bactéries est la réduction enzymatique des cations en états d'oxydation moins toxiques. Pour éviter la ré-oxydation des métaux, le cation métallique réduit doit être expulsé hors de la cellule. (Ji et Silver, 1995; Nanda *et al.*, 2019). Cependant, une telle propriété défensive des bactéries présente des limitations majeures, dans la mesure où l'injection continue de métaux à l'intérieur de la cellule bactérienne devient toxique et nuisible pour le micro-organisme en raison de leur accumulation et concentration. (Seiler et Berendonk, 2012; Sharma et Agrawal, 2005).

2. Problématiques et enjeux à aborder

L'augmentation drastique des bactéries résistantes aux antibiotiques a entraîné une hausse des taux de mortalité et de morbidité, tout en créant d'importants problèmes économiques tant pour les pays en développement que pour les pays développés (Amabile-Cuevas, 2010; Byarugaba, 2004; Gandra *et al.*, 2014; Groot et Van't Hooft, 2016; Hart et Kariuki, 1998; Iszatt *et al.*, 2021). Il existe une vaste littérature concernant les cas particuliers des bactéries Gram-négatives telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter spp* et *Pseudomonas aeruginosa*, qui ont développé une résistance contre tous les antibiotiques disponibles. Ces souches peuvent actuellement être trouvées dans certains pays d'Asie et du bassin méditerranéen, et leur nombre a augmenté à un taux critique au cours des dernières décennies. (Ash *et al.*, 2002; Hsu *et al.*, 2010; McGowan Jr, 2006). Cela est devenu un problème majeur pour l'environnement et la santé, qui a stimulé la recherche pour développer de nouvelles alternatives aux antibiotiques moléculaires conventionnels, capables d'empêcher les micro-organismes d'acquérir une résistance aux médicaments.

3. Approche et stratégies

Les métaux sont connus pour présenter une toxicité envers les organismes vivants, qui sont sensibles même à de faibles concentrations de métaux en raison de leur capacité à être chélatés par des groupes basés sur le soufre, en particulier ceux des protéines. C'était l'hypothèse de départ de la présente

recherche doctorale, qui a incité à se concentrer sur la capacité des métaux à se lier aux groupes thiol ou amine des protéines cellulaires, entraînant leur inactivation. La concentration de métaux à l'intérieur de la cellule bactérienne augmente, induisant la mort cellulaire avec la tendance croissante des protéines à attirer les ions métalliques. Des métaux tels que l'argent et le cuivre sont capables de rompre les barrières de défense bactériennes par interaction avec les groupes sulfhydryles. Cela désactive les fonctions des protéines et des enzymes, induisant la mort cellulaire. (Mittapally *et al.*, 2018). Les ions cuivre ont été trouvés pour déformer la paroi cellulaire en se liant aux groupes chargés négativement avant d'accéder à l'intérieur de la cellule et de causer des dommages.

L'utilisation de ces propriétés biocides des métaux constitue une approche judicieuse pour synthétiser des substituts aux antibiotiques conventionnels et résoudre le problème de la résistance bactérienne. (Pang *et al.*, 2019). L'argent et le cuivre suscitent plus d'intérêt que d'autres métaux principalement en raison de leurs activités antibactériennes efficaces. (Johanson, 2006; Khodakarami et Bagheri, 2021). Il serait intéressant d'étudier l'effet de la valence des métaux sur leurs propriétés biocides. Les cations métalliques chargés positivement sont supposés pénétrer facilement dans la paroi cellulaire bactérienne par divers mécanismes, parmi lesquels deux semblent prévaloir dans les milieux aqueux : (i) l'interaction électrostatique forte qui modifie l'équilibre de la membrane bactérienne, et (ii) l'interaction acide-base de Lewis avec les molécules d'eau, générant ainsi une acidité de Brønsted ($M^{n+} + xH_2O \rightarrow [M(H_2O)_{(x-1)}OH]^{(n-1)+} + H^+$) avec un impact négatif potentiel sur les processus métaboliques des cellules bactériennes. En revanche, les métaux à valence zéro peuvent modifier l'équilibre de la paroi cellulaire via des interactions acide-base de Lewis (ABL) avec des atomes portant des paires d'électrons disponibles (O, S et N) qui agissent en tant que bases de Lewis. (Alavi et Rai, 2020; Feng *et al.*, 2000; Harun *et al.*, 2020; Khorsandi *et al.*, 2021; Phan *et al.*, 2020). De telles interactions sont supposées affecter les échanges cellulaires normaux à travers la membrane bactérienne (Greiner *et al.*, 2012; Turel et Kljun, 2011).

Cette caractéristique particulière des métaux ouvre des perspectives prometteuses pour le développement d'antibiotiques à base de métaux avec des applications pharmacologiques (Jarosz *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2019; Zhang et Lippard, 2003). Cela nécessite des agents antibactériens à base de métaux hautement efficaces et impose des stratégies spécifiques à cet effet. Contrairement aux cations métalliques, les métaux à valence zéro sont des agrégats volumineux qui n'interagissent avec les espèces environnantes que par leur surface extérieure limitée. L'une de ces stratégies réside dans l'obtention d'une dispersion élevée des métaux, même à l'échelle subnanométrique, afin d'améliorer la surface de contact

entre les particules métalliques et les bactéries. Les matrices métalliques chargées de métaux, hautement poreuses et présentant des rapports surface/volume élevés, devraient offrir un grand nombre de sites actifs par unité de surface accessibles aux micro-organismes, par rapport à leurs homologues massifs (Alavi et Rai, 2019; Gallo et Schillaci, 2021). Cette première stratégie impose une autre, qui consiste à surmonter la grande tendance des nanoparticules métalliques à s'agréger en amas volumineux et inactifs (Ravindran *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2022). L'utilisation de matrices hôtes adéquates, portant un grand nombre de groupes chélateurs, constitue une voie judicieuse pour résoudre ce problème (Soler-Illia et Azzaroni, 2011). De telles matrices hôtes pourraient être des dendrimères polyols hyperbranchés et des biopolymères carboxylés. Les performances de leurs groupes hydroxyles et carboxyles, respectivement, seront étudiées dans la présente recherche doctorale, étant censées agir comme des groupes chélateurs et stabilisants pour les nanoparticules métalliques (MNP) et les ions métalliques (Qureshi *et al.*, 2020; Zare-Akbari *et al.*, 2016). L'intérêt de cette recherche réside dans l'utilisation de silicates alumineux naturels peu coûteux et largement disponibles, tels que les minéraux d'argile. Ils sont également connus pour leur innocuité, leur inertie chimique, leurs capacités de sorption et leur grande surface spécifique. Cette dernière peut également agir comme des matrices hôtes pour les métaux grâce aux charges négatives qui peuvent capturer les cations métalliques par échange ionique et aux silanols ainsi qu'aux atomes d'oxygène du réseau qui peuvent chélater à la fois les cations et les métaux à valence zéro (Uddin, 2018; Varadwaj et Parida, 2013). Mélanger des minéraux d'argile avec des dendrimères et/ou des biopolymères constitue une stratégie globale qui offre non seulement des particules métalliques hautement dispersées, mais aussi une dispersité du matériau dépendante du pH, permettant ainsi de personnaliser la surface de contact optimale dans les milieux infectés.

4. Objectif principal

Cette recherche de doctorat repose sur trois hypothèses : 1. Les métaux sont toxiques pour les organismes vivants ; 2, Les métaux bloquent les groupes sulfure et sulfhydryle des protéines par interaction acide-base de Lewis (LAB) et affectent les processus enzymatiques et les métabolismes ; 3. L'effet biocide des métaux dépend de l'accessibilité des métaux et de la surface de contact avec les milieux infectés.

Ces hypothèses ont permis d'orienter la recherche entreprise pour démontrer la faisabilité des rôles bénéfiques de l'augmentation de la dispersion des métaux et de la surface de contact sur l'activité antibactérienne. C'est l'objectif majeur de cette recherche.

5. Objectifs spécifiques

Comme objectifs spécifiques, ces investigations visent à fournir des preuves que l'utilisation de matrices hôtes avec microporosité intrinsèque telles que les minéraux d'argile, ou avec porosité induite comme les composites argile-dendrimer et argile-biopolymère chargés de métaux, ou les biopolymères chargés de métaux, peut induire une amélioration significative de l'activité antibactérienne contre deux souches bactériennes non pathogènes. Un autre objectif spécifique réside dans la corrélation de l'activité antibactérienne avec divers facteurs tels que le type de métal, son état d'oxydation, la taille des particules, la concentration du métal et le pH des milieux de culture. Un objectif spécifique final consiste à démontrer que l'effet biocide résulte d'un compromis optimal entre une interaction métal-matrice suffisamment forte pour des raisons de stabilité dans les milieux secs et des interactions matrice-eau et métal-bactéries suffisamment fortes et compétitives pour la mobilité du métal et l'accessibilité des micro-organismes.

6. Méthodologie

L'optimisation de la structure physico-chimique des matrices hôtes est un facteur clé pour adapter l'effet biocide des métaux en favorisant la dispersion du métal, la surface de contact et l'accessibilité aux micro-organismes. Cet aspect a nécessité une documentation approfondie qui a permis de construire une méthodologie complète, brièvement résumée en deux étapes successives.

La première étape consiste en la préparation de matériaux hôtes à base d'argile et d'argile-cellulose, ainsi que la dispersion des métaux. À cet effet, la montmorillonite sodique (NaMt) et le biopolymère de cellulose (CT) ont été intercalés avec un dendrimère polyol de Boltorn, dénommé H20. Les composites argile-dendrimer et cellulose fonctionnalisée par polyol obtenus ont ensuite été chargés en Ag^+ et Cu^{2+} pour obtenir la première série d'échantillons. La deuxième série d'échantillons a été préparée en ajoutant du NaBH_4 pour la réduction des cations en métal zéro.

Les résultats des expériences ont été obtenus principalement à partir de mesures par spectroscopie photoélectronique à rayons X (XPS), microscopie électronique à transmission (TEM) et détermination du potentiel Zeta (ZP) et de la taille des particules (PS).

Des mesures supplémentaires ont été effectuées par désorption programmée en température (TPD), analyse thermogravimétrique (TGA) et diffraction des rayons X (XRD) pour étudier les changements dans la basicité et l'hydrophilicité de la matrice hôte avant et après la dispersion de différents métaux. La morphologie des particules a été observée par microscopie électronique à balayage (SEM) pour étudier

l'effet de l'incorporation du polyol dans la dispersion des métaux. La fluorescence X à dispersion d'énergie (EX-XRF) a été utilisée pour évaluer la quantité de métal incorporé et la taille des particules.

Les tests antibactériens contre les bactéries Gram-positives (*Bacillus subtilis* 168) et Gram-négatives (*E. coli* DH5 α) ont été évalués uniquement en termes de diamètre de la zone d'inhibition (IZD). Ces résultats ont permis de démontrer une partie de la faisabilité des rôles bénéfiques de la dispersion des métaux et des interactions Métal:Matériau et Matériau:eau sur l'activité antibactérienne. Ces résultats ont été publiés sous forme d'un premier article, qui constitue la base pour la deuxième étape de la méthodologie.

La même approche avec des exigences plus avancées a été impliquée dans une deuxième étape de cette méthodologie en étendant le concept de dispersion du cuivre et de l'argent dans l'entrelacement de deux biopolymères, à savoir la carboxyméthylcellulose (CMC) et l'amidon carboxyméthylé (CMS), ainsi que leur combinaison avec la montmorillonite échangeuse de Na⁺. En utilisant les mêmes techniques de caractérisation instrumentale, les résultats ont permis de corrélérer la structure physico-chimique et les propriétés des matériaux hôtes avec la dispersion des métaux dans le milieu de culture. L'hypothétique « libération des métaux », si elle existe, n'a été suggérée que par la faible force de rétention évaluée par les données XPS, mais elle reste à confirmer par des investigations plus approfondies.

Des approfondissements sur le rôle des atomes constituant des matrices chargées en métaux dans l'interaction métal-matrice ont été réalisés à l'aide des mesures XPS, ZP et PS. Les résultats ont permis de mettre en évidence un compromis judicieux entre le pH induit par l'agent biocide et la taille des particules dans le milieu liquide (PS). La déconvolution du signal XPS s'est révélée utile pour établir l'existence d'une distribution de la taille des particules, qui dépend fortement du type de métal et de biopolymère. La combinaison TEM-XPS s'est avérée être une stratégie judicieuse pour fournir la preuve de la présence prédominante de sous-nanoparticules dans les biopolymères riches en groupes chélatants.

Ici encore, l'activité antibactérienne a été exprimée en termes de diamètre de zone d'inhibition (IZD) contre les bactéries Gram-positives (*Bacillus subtilis* 168) et Gram-négatives (*E. coli* DH5 α), et a été discutée en corrélation avec les propriétés physico-chimiques des matériaux chargés en métaux étudiés. En raison de la forme non circulaire de la plupart des zones d'inhibition obtenues, des mesures graphiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Image J. Les effets du pH et de la teneur en métaux sur l'activité antibactérienne ont également été évalués par imprégnation de disques de papier buvard avec des

suspensions aqueuses contenant des quantités similaires de biopolymère chargé en cations métalliques, mais avec des teneurs en métaux différentes pendant différentes périodes.

Un ensemble supplémentaire d'échantillons a été préparé en mélangeant la même quantité de biopolymère chargé en métaux, avec une teneur en métaux similaire, à différents pH ajustés avec des solutions aqueuses de HCl ou NaOH. Le taux de viabilité des bactéries en présence de différentes concentrations de matrices hôtes chargées en métaux a été évalué à différents moments. Les résultats obtenus dans cette deuxième étape de la méthodologie ont permis la publication d'un deuxième article, qui fournit des preuves précieuses selon lesquelles la capacité du biopolymère carboxylé à héberger des sous-nanoparticules métalliques est due aux contributions d'une densité plus élevée de groupes carboxyles et de silanols qui favorisent la dispersion du biopolymère via l'interaction argile-polymère. En d'autres termes, la méthodologie employée ici a permis d'atteindre les objectifs fixés (**Schéma 1**). Cette méthodologie a imposé la structure suivante à la présente thèse doctorale.

6. Structure de la thèse

Le contenu de cette thèse de doctorat est structuré en cinq chapitres. Ces chapitres sont consacrés à une revue critique de la littérature, une partie expérimentale, deux sections rassemblant les résultats et discussions des publications, ainsi qu'une conclusion générale synthétisant les principales découvertes en mettant l'accent sur les plus importantes. Les descriptions des différents chapitres sont fournies ci-dessous.

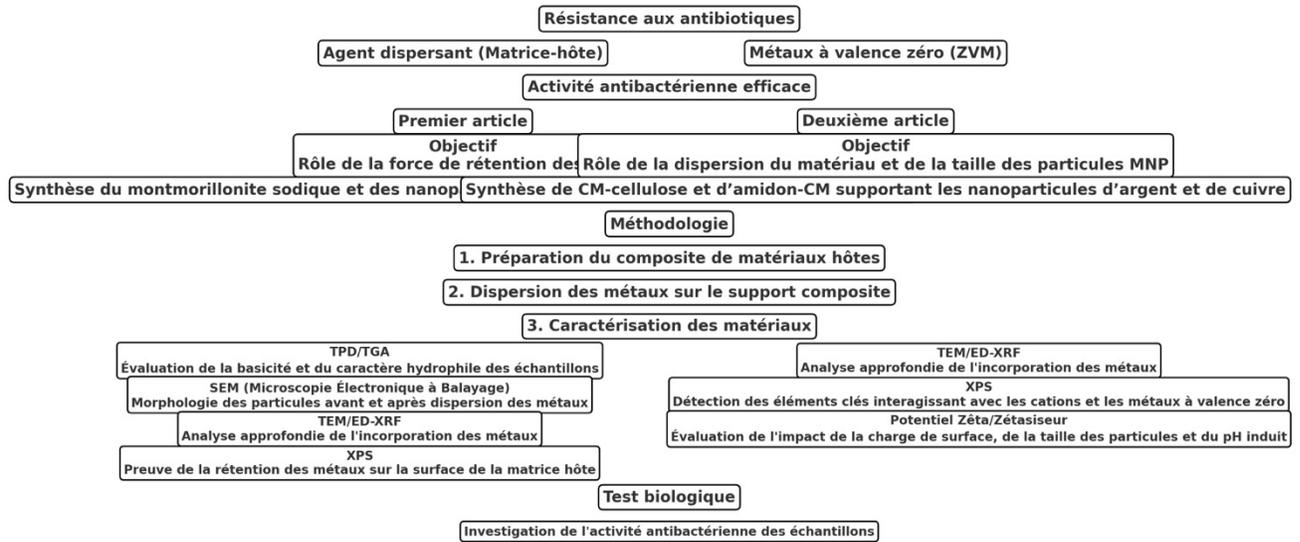


Schéma 0.1. Méthodologie synthétique pour les objectifs ciblés.

Chapitre 1. Revue critique des données de la littérature

Ce chapitre comprend dix sous-chapitres axés sur les informations générales suivantes : 1. Les mécanismes et causes de la résistance bactérienne ; 2. Les tentatives pour lutter contre la résistance bactérienne ; 3. Les mécanismes antibactériens des cations métalliques et des métaux à l'état zéro ; 4. Les effets pathophysiologiques indésirables des métaux ; 5. Les avantages généraux des nanoparticules métalliques en tant que matériaux antibactériens ; 6. Les méthodes de synthèse physiques et chimiques et leurs effets sur la structure des nanoparticules métalliques (MNP) ; 7. Les principaux inconvénients des systèmes nanoparticulaires et la nécessité d'utiliser des matrices supports ; 8. Un aperçu des différents biomatériaux modifiés par des ions métalliques et/ou des nanoparticules métalliques ainsi que le concept de libération/rétention des métaux et son effet sur l'activité antibactérienne ; 9. Informations générales sur la structure chimique et les applications biomédicales des matériaux hôtes (polymères dendritiques hyperbranchés, aluminosilicates naturels, biopolymères carboxylés, matériaux hôtes organoargileux poreux à forte capacité de capture des métaux) ; 10. Le rôle des agents de dispersion et de stabilisation dans la taille des MNP.

Chapitre 2. Partie expérimentale

Ce chapitre comprend les sections suivantes : 1. Liste des produits chimiques et des matériaux utilisés dans les deux étapes de cette recherche ; 2. Protocoles de préparation des matériaux chargés en cations et en métaux ; 3. Présentation des techniques instrumentales et des méthodes analytiques utilisées pour la caractérisation des matériaux synthétisés; 4. Stratégie employée pour évaluer l'activité antibactérienne en termes de diamètre de la zone d'inhibition et du taux de viabilité.

Chapitre 3. Premier article : Rôle de la rétention métallique sur le comportement antibactérien de la montmorillonite et des nanoparticules de cuivre et d'argent supportées par des tissus cellulosiques

Ce chapitre est structuré sous forme de la première publication incluant des études comparatives du rôle de l'interaction métal-matrice (MMI) sur la performance antibactérienne. Celle-ci est exprimée en termes de zones d'inhibition du cuivre et de l'argent sous leurs formes cationiques et à l'état zéro, supportées par la montmorillonite sodique (NaMt) et les tissus cellulosiques (CT) ainsi que leurs combinaisons avec le dendrimère Boltorn™ H20.

Chapitre 4. Deuxième article : Synthèse de biopolymères carboxylés chargés en métaux avec activité antibactérienne via l'incorporation de sous-nanoparticules métalliques

Ce chapitre contient la deuxième publication, qui constitue une extension du concept démontré dans le premier article, en appliquant la méthodologie aux biopolymères carboxyméthylcellulose (CMC) et carboxyméthylamidon (CMS) utilisés comme agents stabilisants pour les métaux. Toutefois, cette deuxième étude se distingue par de nouvelles découvertes liées à la synthèse des sous-nanoparticules métalliques (MSNPs) et au rôle clé du degré de substitution (DS), défini comme le nombre de groupes carboxyles par unité de glucose, qui régit la capacité de capture des métaux par ces biopolymères. Une caractérisation approfondie à l'aide de techniques sophistiquées combinée à des tests antibactériens complémentaires incluant des mesures de viabilité a permis de démontrer l'impact significatif de la force de rétention des métaux et de la distribution de la taille des particules métalliques et des matériaux métalliques chargés.

Chapitre 5. Conclusion générale

Le dernier chapitre de cette thèse est consacré à un inventaire des principales conclusions tirées à chaque étape de la recherche. Il est suivi d'une analyse synthétique des résultats les plus importants, mettant en évidence les aspects qui restent à explorer dans de futures investigations. Il apparaît que des interactions judicieusement adaptées entre acides et bases de Lewis gouvernent la dispersion des matériaux dans le milieu infecté ainsi que leur activité antibactérienne. Bien que l'interaction [–Oxygène:Métal] réduise la force de rétention des MNP, la libération suggérée des métaux dans le milieu liquide ou directement sur la membrane bactérienne reste à élucider.

Toutes ces découvertes ont permis de démontrer que les matrices hébergeant des sous-nanoparticules métalliques pourraient être considérées comme des alternatives prometteuses aux antibiotiques conventionnels. Cependant, pour maximiser leur efficacité, les interactions physico-chimiques entre la matrice et le milieu liquide devront être prises en compte dans les recherches futures sur ce sujet.

CHAPTER 1

REVUE CRITIQUE DES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE

1.1 Défi de la résistance bactérienne

Dans le monde entier, les infections sont une cause majeure de mortalité, et l'émergence de germes plus pathogènes ainsi que le développement de la résistance antimicrobienne (RAM) aux antibiotiques sont devenus des enjeux de santé publique préoccupants. La RAM est une conséquence évolutive inévitable, car tous les organismes subissent des modifications génétiques pour se protéger. Cette section examine les causes de la résistance bactérienne à différentes classes d'antibiotiques (Uddin *et al.*, 2021).

1.1.1 Mécanismes généraux de l'activité antibactérienne des antibiotiques conventionnels

Antibiotiques endommageant la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne

La paroi cellulaire des bactéries est principalement composée de peptidoglycane réticulé, qui agit comme un support mécanique (Zapun *et al.*, 2008). La réticulation est réalisée par des transpeptidases lors de la reconnaissance d'un dipeptide D-Ala-D-Ala (**Schéma 1.1a-c**). Les glycopeptides (vancomycine) et les β -lactames sont deux types d'antibiotiques qui empêchent la production des parois cellulaires. Les β -lactames ont une structure similaire à celle du dipeptide D-Ala-D-Ala (**Schéma 1.1d**). Ils se lient de manière covalente et sont assez difficiles à hydrolyser, entravant ainsi la production de la paroi cellulaire. La vancomycine et d'autres antibiotiques glycopeptides inhibent la formation de la paroi cellulaire en se liant à la partie D-alanyl D-alanine de la chaîne peptidique du précurseur du sous-unité du peptidoglycane (Ghooi et Thatte, 1995; Liu et Breukink, 2016).

Inhibiteurs de la biosynthèse des protéines

Grâce au processus de transcription, l'information dans l'ADN bactérien est d'abord utilisée pour créer l'ARN messager (ARNm). Ensuite, par un processus appelé traduction, les ribosomes 70S permettent la synthèse des protéines à partir de l'ARNm. Les sous-unités 30S et 50S de la protéine ribonucléique sont responsables de la construction du ribosome 70S bactérien et constituent les cibles des antimicrobiens qui empêchent la production de protéines.

Les aminosides (AGs) sont des antibiotiques chargés positivement qui se lient à la membrane externe (OM) chargée négativement, permettant ainsi l'entrée des antibiotiques dans la bactérie. Cependant, l'oxygène et une force motrice protonique active sont nécessaires pour traverser la membrane cytoplasmique. Par

conséquent, les AGs ne fonctionnent que dans des conditions aérobies. Ils permettent une plus grande pénétration dans la cellule et agissent en synergie avec les antibiotiques qui bloquent la formation des parois cellulaires (comme les β -lactames et les glycopeptides). Grâce à des liaisons hydrogène, les AGs se lient à l'ARNr 16S de la sous-unité 30S près du site A, qui est le premier endroit où le tRNA se fixe lors de la synthèse des protéines. D'autres antibiotiques, comme les tétracyclines, agissent de manière similaire.

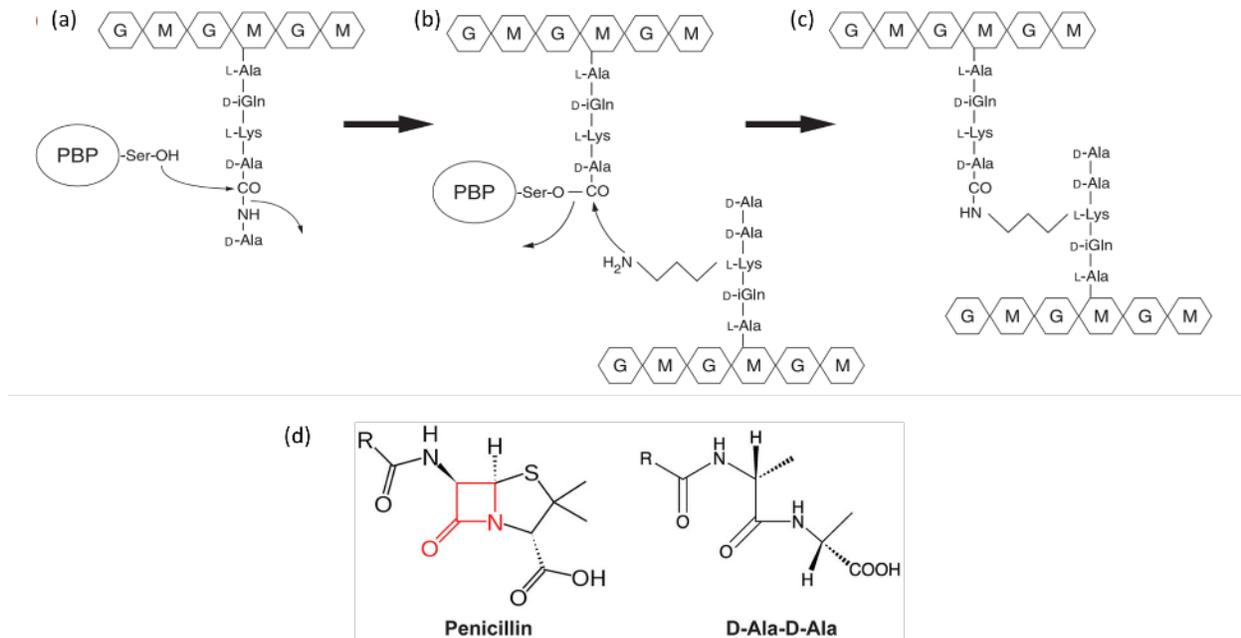


Schéma 1.1. La transpeptidase fait partie des protéines liant la pénicilline (PBP) du microorganisme. Cette famille possède une sérine dans le site actif. Cette sérine attaque le carbonyle du premier D-Ala (sur le peptidoglycane), libérant ainsi le dernier D-Ala (a). Le D-Ala formant un pont avec la sérine du site actif possède un carbonyle qui peut être attaqué par une amine primaire d'un autre peptide (b). Il est ensuite libéré par la PBP pour créer un pont peptidique (c). La structure des β -lactames est similaire à celle de la séquence D-Ala-D-Ala (d) (Zapun et al., 2008). G = N-Acétyleglucosamine ; M = Acide N-Acétylemuramique.

La deuxième classe est celle des macrolides, qui sont des inhibiteurs de la sous-unité 50S et qui impactent les premières étapes de la synthèse des protéines. Les macrolides, les lincosamides et la streptogramine B présentent un mode d'action similaire.

La troisième catégorie d'antibiotiques, connue sous le nom d'oxazolidinones, empêche plusieurs étapes de la synthèse des protéines, notamment : 1. La liaison à l'ARNr 23S de la sous-unité 50S ; 2. L'inhibition des ribosomes 70S via une interaction avec le peptidyl-ARNt. (Franklin et Snow, 1989; Vázquez, 2012).

Inhibiteurs de la réplication de l'ADN

Les fluoroquinolones (FQ) empêchent l'enzyme gyrase bactérienne de découper l'ADN double brin, d'ajouter des superenroulements négatifs, puis de refermer les extrémités coupées. Ce processus est nécessaire pour éviter que les brins ne deviennent excessivement superenroulés positivement lorsqu'ils se séparent pour permettre la transcription ou la réplication. La fonction de coupure et de rescellage des brins de l'ADN gyrase est entravée par la forte affinité de liaison des FQ. Une plus grande affinité pour cette enzyme pourrait conférer une meilleure efficacité contre les bactéries à Gram positif.

Les cellules mammaliennes possèdent la topoisomérase II au lieu de l'ADN gyrase ou de la topoisomérase IV, qui ont une faible affinité pour les FQ, ce qui les rend moins toxiques pour ces cellules. (Baranovskiy *et al.*, 2014; Drlica et Franco, 1988; Kurose *et al.*, 2006).

Inhibiteurs du métabolisme de l'acide folique

Les sulfamides et le triméthoprim sont deux types d'antibiotiques qui empêchent le métabolisme de l'acide folique de différentes manières. La dihydropteroate synthase (DHP) intervient dans la synthèse du folate, un élément essentiel à la synthèse des acides nucléiques bactériens. La DHP n'est pas exprimée chez la plupart des eucaryotes et possède une forte affinité pour les sulfamides, ce qui en fait une bonne cible thérapeutique.

Le triméthoprim inhibe la voie de synthèse de l'acide folique en se liant à la dihydrofolate reductase (Mazel et Davies, 1999). **Le tableau 1.1** présente les cibles et les modes d'action de différents antibiotiques.

1.1.2 Causes de la résistance bactérienne

La sélection naturelle a conduit à une augmentation de la prévalence et de la propagation de la résistance, ce qui doit être considéré comme un effet prévisible du principe darwinien de la « survie du plus apte ». Certaines populations bactériennes possèdent un petit nombre de cellules dotées de caractéristiques leur conférant une protection contre les toxines nocives. Cette capacité à résister aux effets des antibiotiques peut expliquer ce phénomène.

L'utilisation prolongée d'antibiotiques modifie considérablement les communautés bactériennes dans un environnement donné, entraînant une augmentation des espèces résistantes. Par conséquent, une

infection autrefois facilement curable peut ne plus répondre efficacement à un traitement antimicrobien lorsqu'elle réapparaît (Uddin *et al.*, 2021; Wright, 2010).

Tableau 1.1. Mode d'action des différentes classes d'antibiotiques

Classe de médicaments	Cibles	Mode of action	Ref.
Beta-lactams	Protéine de liaison à la pénicilline	Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	(Saravolatz <i>et al.</i> , 2011)
Glycopeptides, Aminoglycosides and Tetracyclines	Sous-unités du peptidoglycane, sous-unités 30S	Inhibition de la synthèse protéique	(Maccone <i>et al.</i> , 2014; Saravolatz <i>et al.</i> , 2009)
Macrolides, Chloramphenicol and Oxazolidinones	Sous-unité 50S	Inhibition de la synthèse protéique	(Moellering Jr, 2014; Wolter <i>et al.</i> , 2005)
Rifamycin (rifampicin)	RNA	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	(Robertson <i>et al.</i> , 2008)
Fluoroquinolones	DNA	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	(Abbanat <i>et al.</i> , 2008)
Sulfonamides and trimethoprim	Enzymes de la synthèse de l'acide folique	Anti-métabolites	(Sköld, 2001)
Polymyxins	Lipopolysaccharides	Perturbation des membranes	(Velkov et Roberts, 2019)
Lincosamides	Sous-unité 30S et sous-unité 50S	Inhibition de la synthèse protéique	(Zhao <i>et al.</i> , 2014)
Sulfamethoxazole	DNA , sous-unité 30S et sous-unité	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines	(Moghaddam <i>et al.</i> , 2021)

Les principales causes de l'adaptation bactérienne au fil du temps sont multiples. Les causes naturelles peuvent entraîner des modifications bactériennes de deux manières.

La première est la mutation génétique, où des changements de paires de bases peuvent survenir lors de la reproduction bactérienne. En remplaçant un ou plusieurs acides aminés dans une cible essentielle (enzyme, paroi cellulaire ou structure cellulaire) et en régulant les gènes ou les structures chromosomiques, un phénomène appelé mutation ponctuelle conduit à la formation de souches résistantes nouvelles.

La seconde explication d'origine microbienne est le transfert de matériel génétique. Dans ce cas, une souche auparavant sensible peut acquérir une résistance à partir d'une autre espèce ou d'un autre genre. La plupart des gènes responsables de la résistance aux antibiotiques se trouvent sur des plasmides et

d'autres éléments génétiques mobiles, qui peuvent et transfèrent fréquemment cette résistance à diverses espèces et genres bactériens (Chinedum, 2005).

La pression sélective est un terme utilisé pour décrire un facteur environnemental favorisant la croissance de micro-organismes possédant des mutations uniques ou des traits récemment acquis. Les antimicrobiens éliminent les micro-organismes sensibles ou permettent la survie de ceux qui possèdent des gènes de résistance. Les bactéries résistantes nouvellement générées se multiplieront rapidement et deviendront la forme prédominante parmi les germes (Kolář *et al.*, 2001; Witte, 2000).

Un traitement inapproprié peut survenir lorsqu'un antibiotique, en particulier un antibiotique à large spectre, est administré alors qu'un antibiotique à spectre étroit plus spécifique serait mieux adapté. Cela accentue la pression sélective et accélère le développement de la résistance aux antibiotiques (Hornischer et Häußler, 2016). Il existe également d'autres causes, telles que l'automédication, la prescription inadéquate ou inappropriée d'antibiotiques, leur surutilisation, leur usage intensif en agriculture, les conditions insuffisantes dans les environnements hospitaliers, ainsi que le nombre limité de nouveaux antibiotiques disponibles.

1.1.3 Principaux mécanismes de résistance bactérienne

Les infections nécessitant des traitements de deuxième et troisième ligne surviennent fréquemment en raison de la résistance aux antibactériens. Aux États-Unis seulement, des bactéries résistantes aux antibiotiques, comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), causent environ 19 000 décès par an. Il est donc urgent de modifier l'utilisation et la prescription des antibiotiques.

La résistance aux antibiotiques restera une menace majeure, même avec le développement de nouveaux médicaments. Le tableau 1.2 résume certaines des espèces les plus dangereuses présentant une multirésistance (MDR) et ayant acquis une résistance à plusieurs types d'agents antimicrobiens (Galletta *et al.*, 2020). Les bactéries susceptibles aux antibiotiques peuvent développer une résistance par mutation génétique ou en transférant des gènes résistants aux antibiotiques provenant d'autres bactéries (résistance naturelle ou acquise). Il existe trois principaux types de mutations génétiques : a) Mutation ; b) Inactivation ou Destruction ; et c) Efflux. De plus, les bactéries peuvent échanger du matériel génétique résistant par 1. Transformation ; 2. Transduction ; et 3. Conjugaison (Pitton, 1972; Reygaert, 2018; Van Duijkeren *et al.*, 2018).

Mutation - Une mutation est un changement dans l'ADN qui peut entraîner une modification du produit génétique, qui est la cible de l'antimicrobien. Les antimicrobiens ne se lient plus efficacement lorsque des mutations spontanées surviennent dans les régions des gènes codant pour la gyrase de l'ADN. En conséquence, la bactérie peut continuer sa réplication de l'ADN (Fernández et Hancock, 2012).

Destruction ou Inactivation - De nombreuses bactéries possèdent des gènes qui produisent des enzymes capables de dégrader chimiquement ou d'inactiver l'antibiotique. Les deux principaux mécanismes sont la détérioration du médicament et/ou le transfert d'un groupe chimique au médicament. La catégorie générale des enzymes hydrolysant les médicaments est connue sous le nom de β -lactamases. Par exemple, les tétracyclines de quatrième génération ont montré des essais cliniques prometteurs, mais ont été trouvées inactivées en présence d'un gène appelé tetX, provenant d'un plasmide trouvé chez *Bacteroides fragilis* (Markley et Wencewicz, 2018).

Tableau 1.2. Mécanisme de résistance des différentes souches bactériennes.

Nom de la bactérie	Résistante à	Mécanisme de résistance	Ref.
<i>P. aeruginosa</i>	Aminoglycoside	Modification enzymatique	(Hancock, 1998)
<i>S. aureus</i> and <i>S. pneumoniae</i>	Bêta-lactamines	Enzymatique Dégradation	(Shortridge <i>et al.</i> , 1996)
<i>E. faecium</i> and <i>E. faecalis</i>	Glycopeptides	Cible altérée	(Al-Obeid <i>et al.</i> , 1990)
<i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> and <i>S. pyogenes</i>	Macrolides	Cible altérée	(Farrell <i>et al.</i> , 2002)
<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. faecium</i> and <i>S. aureus</i>	Oxazolidinones	Pompes d'efflux et cible altérée	(Camilli <i>et al.</i> , 2008)
<i>S. aureus</i> and <i>S. pneumoniae</i>	Quinolones	Cible altérée et efflux	(Shortridge <i>et al.</i> , 1996)
<i>S. pneumoniae</i>	Chloramphénicol	Inactivation de l'antibiotique et pompe d'efflux	(Widdowson <i>et al.</i> , 2000)
<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> and <i>S. pneumoniae</i>	Sulfonamide drugs	Cible altérée	(Levy <i>et al.</i> , 2008)
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	Céphalosporines	Mutation	(Allen <i>et al.</i> , 2014)
<i>Shigella species</i>	Fluoroquinolones	Mutation	(Azmi <i>et al.</i> , 2014)
<i>Klebsiella</i>	Céphalosporines et Carbapénèmes	Perte de porine	(Pfeifer <i>et al.</i> , 2010)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Oxacilline, Vancomycine et Linézolide	Cible altérée	(Azhar <i>et al.</i> , 2017)
<i>E. coli</i>	Céphalosporines et Fluoroquinolones	Inactivation de l'antibiotique	(Shaheen <i>et al.</i> , 2013)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pénicilline	Cible altérée	(Hakenbeck <i>et al.</i> , 1999)

Efflux - Une pompe d'efflux est un canal qui exporte activement des agents antibactériens et d'autres produits chimiques hors de la cellule. Une fois que le composé est entré par un canal appelé porine, la pompe d'efflux force l'antibiotique à sortir de la bactérie. Ainsi, en expulsant agressivement les

antimicrobiens, les pompes d'efflux empêchent l'accumulation intracellulaire nécessaire à l'exécution de leur activité bactéricidienne dans la cellule (Levy, 1992; Longley et Johnston, 2005).

Transformation - Les cellules bactériennes se transforment lorsqu'elles acquièrent des matériaux génétiques de leur environnement. Ces matériaux génétiques proviennent généralement de bactéries lysées à proximité dans la nature, et peuvent également comprendre de l'ADN plasmidique ou des fragments d'ADN qui ont été libérés dans l'environnement. La cellule réceptrice insère le nouvel ADN dans son propre chromosome (homologue) et devient pathogène si une bactérie inoffensive prend l'ADN contenant un gène toxique d'un type de bactérie pathogène. Différentes bactéries se transforment naturellement en fonction de divers facteurs, tels que le stade de croissance des cellules ou la présence de produits chimiques spécifiques.

Transduction - La transduction se produit lorsqu'un virus ou un vecteur viral introduit de l'ADN ou de l'ARN étranger dans des cellules bactériennes ou eucaryotes. Les bactériophages insèrent leur matériel génétique dans les cellules bactériennes après s'être attachés à leurs membranes. Une fois à l'intérieur, les phages peuvent suivre soit un cycle lytique, soit un cycle lysogénique. Les phages lytiques utilisent les machines de leurs hôtes bactériens pour produire davantage de particules virales. Le matériel génétique du phage est intégré dans le génome de l'hôte. Une fois dans la bactérie infectée, l'ADN transféré peut persister sous forme d'ADN extra-chromosomique temporaire, semblable à un plasmide, ou s'intégrer dans le génome de la bactérie hôte par recombinaison homologue ou dirigée.

Conjugaison - Le contact direct de deux bactéries pendant la conjugaison permet le transfert de matériel génétique de l'une à l'autre. La bactérie donneuse possède la séquence d'ADN du facteur de fertilité (facteur F), qui code pour des gènes responsables des pili sexuels, des structures fines en forme de tige qui permettent aux bactéries mâles (ou donneuses) portant le facteur F de se fixer aux cellules femelles (ou réceptrices) pour le transfert conjugal. Les plasmides sont fréquemment les matériaux génétiques transférés et peuvent conférer des "avantages" génétiques aux bactéries, comme la résistance aux antibiotiques (Adekunle, 2012; Sultan *et al.*, 2018; Tenover, 2006).

1.1.4 Tentatives pour aborder la résistance bactérienne

Les institutions de santé doivent élaborer des stratégies pour contrôler la propagation de la résistance aux antibiotiques. Les méthodes les plus fréquemment suggérées incluent l'amélioration de la propreté des mains, le contrôle de la disponibilité des antibiotiques en vente libre, la rationalisation de l'utilisation des antimicrobiens, ainsi que la prévention et le contrôle des infections. Cependant, ces mesures sont insuffisantes pour atteindre l'objectif d'éliminer la résistance bactérienne. La résistance antimicrobienne doit être réduite, ce qui nécessite des solutions multidisciplinaires. Pour limiter la résistance bactérienne, différentes approches sont mises en œuvre, y compris l'utilisation de nouvelles générations d'antibiotiques, la thérapie combinée, les composés naturellement antibactériens, et les systèmes de livraison de médicaments sur mesure (**Tableau 1.3**).

Développement de composés naturels et de nouveaux agents antibactériens

Les méthodes scientifiques visant à introduire de nouveaux composés antibactériens et à développer de nouveaux agents antibactériens progressent lentement ces dernières années. Trouver et créer des antibiotiques vraiment nouveaux est difficile, car la génération de produits chimiques non nuisibles pour les humains prend beaucoup de temps, coûte cher et échoue fréquemment. En conséquence, les substances naturelles attirent actuellement davantage l'attention des chercheurs en tant qu'agents antibactériens autonomes ou combinés. Bien que les antibiotiques semi-synthétiques et synthétiques présentent une efficacité thérapeutique plus grande et une toxicité plus faible par rapport aux compléments à base de plantes, les antibiotiques naturels présentent un inconvénient important en raison de leur forte toxicité contre les bactéries. Même avec l'existence d'antimicrobiens naturels, la question de la résistance persiste, car la combinaison de plusieurs antibiotiques naturels peut entraîner des interactions ou des effets secondaires indésirables (Butler et Buss, 2006; Guglielmi *et al.*, 2020; Moloney, 2016).

Tableau 1.3. Approches pour lutter contre la résistance bactérienne.

Stratégies contre la résistance bactérienne			
Composés naturels	Nouveaux agents antibactériens	Systèmes de délivrance de médicaments nanoparticulaires	Thérapie combinée
Épigallocatechine gallate Pipérine Resvératrol Acide tannique Novobiocin Berbérine et harmane Sesquiterpènes	Plazomicin Delafloxacin Nemonoxacin Tedizolid Radezolid Omadacycline Eravacycline Cethromycin Solithromycin Telavancin Dalbavancin Oritavancin Ceftaroline	Nanoparticules à base de lipides Liposomes Nanoparticules lipidiques solides (SLN) Particules polymériques Nanoparticules libérant de l'oxyde nitrique Nanoparticules métalliques (MNP)	
Référence			
(Khameneh <i>et al.</i> , 2016)	(Khameneh <i>et al.</i> , 2016)	(Ramasamy et Lee, 2016; Susanti <i>et al.</i> , 2022)	(Mouton, 1999)

Thérapie combinée

La thérapie combinée par antibiotiques est une méthode de traitement des infections à taux de mortalité élevé. Les principaux avantages de l'utilisation de la thérapie combinée incluent : une augmentation de l'activité antibiotique grâce à un effet synergique, la prévention de l'émergence de la résistance, la fourniture d'une activité antibactérienne contre les micro-organismes formant des biofilms, l'amélioration de la pénétration des agents antibactériens dans les cellules et les tissus, l'inhibition de la production de toxines, et la réduction de la production d'enzymes. La thérapie combinée élargit le spectre antibactérien, mais présente des inconvénients qui limitent l'efficacité de cette approche, notamment l'hypersensibilité et/ou des réactions indésirables à un antibiotique (comme la pénicilline) et/ou à des produits métaboliques pouvant entraîner des problèmes graves allant de l'urticaire (éruptions cutanées) au choc anaphylactique (Mouton, 1999; Namivandi-Zangeneh *et al.*, 2021).

Systèmes de livraison de médicaments à base de nanoparticules

Récemment, dans le domaine de la nanotechnologie, des progrès ont été réalisés dans la création de nanoparticules possédant des propriétés physico-chimiques appropriées pour une meilleure administration des médicaments. En chargeant des agents antibactériens dans des nanoparticules, certains mécanismes associés pour améliorer la puissance thérapeutique peuvent inclure : 1. Modification

de l'activité de la pompe d'efflux bactérienne ; 2. Activité anti-biofilm des nanoparticules ; 3. Pénétration améliorée à travers les structures de biofilm ; 4. Protection contre la dégradation enzymatique et l'inactivation grâce à des composés polyanioniques ; 5. Élimination intracellulaire des bactéries ; et 6. Ciblage spécifique (Aberdein *et al.*, 2013; Marquez, 2005; Martinez-Gutierrez *et al.*, 2013) Les principaux systèmes utilisés à cet égard incluent les nanoparticules métalliques, les nanoparticules polymériques, les nanoparticules libérant de l'oxyde nitrique et les nanoparticules à base de lipides.

1.2 Espèces métalliques pour lutter contre la résistance bactérienne aux médicaments

Jusqu'à présent, une grande variété de nanoparticules métalliques (NPM) ont été testées dans le cadre de tentatives visant à résoudre le problème des bactéries résistantes aux médicaments. Les principales propriétés chimiques des métaux pour cette recherche résident dans leur sélectivité d'atome accepteur/donneur en fonction de leur état d'oxydation, leur potentiel redox et la diversité de leur spéciation, avec des effets spécifiques sur les cellules vivantes (Lemire *et al.*, 2013).

La sélectivité des atomes accepteurs/donneurs résulte souvent d'interactions fortes et sélectives impliquant un ion métallique central se liant aux atomes environnants O, N et/ou S qui agissent comme ligands et donneurs de paires d'électrons. Ces interactions reposent sur la chimie de coordination et confèrent des rôles spécifiques aux métaux dans le repliement ou la fonction des protéines.

La "Théorie du champ des ligands" est utile pour prédire comment l'agencement électronique donne lieu à des interactions de liaison avec des configurations spécifiques (Griffith et Orgel, 1957). Cette liaison des métaux aux donneurs de paires d'électrons est l'une des causes de l'intoxication des organismes vivants constitués de macromolécules portant de tels groupes chélateurs, tels que les protéines, les graisses et les polysaccharides. Il existe une vaste littérature consacrée à l'utilisation des cations métalliques, des oxydes ou des métaux zéro-valent (ZVM) sous forme de nanoparticules métalliques (NPM). Il s'agit de l'une des stratégies les plus courantes pour prévenir l'administration abusive d'antibiotiques et l'apparition de la résistance bactérienne.

La spéciation des métaux se produit sous différentes espèces chimiques selon le pH, le potentiel redox, la force ionique et la température. Dans une cellule, la spéciation des métaux essentiels est limitée par des

transporteurs, des capteurs régulateurs de métaux et des chaperons métalliques. Les paramètres qui affectent l'état d'oxydation des métaux peuvent également varier entre les compartiments subcellulaires et les micro-organismes. Certaines études se sont concentrées sur la capacité intéressante des nanoparticules d'argent (AgNP), de cuivre (CuNP), d'oxyde de zinc (ZnONP), d'oxyde de manganèse (MnONP), de dioxyde de titane (TiO₂NP) et de leurs homologues cationiques à tuer des bactéries (Patel *et al.*, 2017; Rai *et al.*, 2012; Rudramurthy *et al.*, 2016). Cette activité antibactérienne des métaux a déjà été découverte et testée par l'homme dans les civilisations passées. Les métaux zéro-valent (ZVM) induisent des changements de potentiel et de perméabilité dans la membrane bactérienne via la fuite de lipopolysaccharides, de protéines, de biomolécules intracellulaires et de protéines (Mello-Filho et Meneghini, 1991). Les formes cationiques des métaux montrent également un effet antimicrobien intrinsèque contre les bactéries en : 1. « reliant » les segments d'ADN en complexes avec des nucléotides et en perturbant les liaisons hydrogène entre les paires de bases ; 2. La production d'ATP (adénosine triphosphate) pour altérer la réplication de l'ADN (Mello-Filho et Meneghini, 1991). Les récipients libérant des cations Cu²⁺ et Ag⁺ ont été utilisés pour la désinfection de l'eau et la conservation des aliments depuis l'époque des rois perses. Les métaux de transition sont encore utilisés aujourd'hui comme agents antibactériens dans le traitement des plaies, des brûlures, des éruptions cutanées et de nombreux autres problèmes de santé.

1.3 Cations métalliques avec activité antibactérienne

La simple présence de métaux lourds dans l'environnement constitue une forme de pollution aux multiples impacts négatifs, et est devenue une préoccupation majeure en matière écologique, évolutive, nutritionnelle et environnementale (Duruibe *et al.*, 2007; Sharma et Agrawal, 2005). Les métaux sous forme cationique sont des espèces solubles qui peuvent être facilement dispersées dans les organismes vivants. Contrairement aux métaux alcalins légers et aux métaux alcalino-terreux, les soi-disant métaux lourds sont des cations métalliques ayant une forte toxicité pour l'environnement et la biodiversité, avec des impacts négatifs sur l'humain, la faune et la flore. Les cations métalliques de transition, en concentrations très faibles, sont essentiels pour maintenir diverses fonctions biochimiques et physiologiques dans les organismes vivants. Cependant, ils deviennent nocifs lorsqu'ils dépassent des concentrations seuils spécifiques, entraînant plusieurs risques pour la santé humaine et animale. La toxicité des métaux peut être aiguë ou chronique en fonction de la dose absorbée, du type, de la spéciation et de la durée de l'exposition. Ce type de cations métalliques suscite un grand intérêt pour l'étude du comportement de certains d'entre eux à des fins biomédicales. Diverses tentatives ont été réalisées pour

synthétiser des matériaux permettant d'héberger des cations métalliques avec une efficacité biocide améliorée et des effets secondaires réduits. À cet égard, au cours des dernières décennies, différents types de matériaux supports tels que la silice mésoporeuse inorganique, les micelles organiques, les liposomes, les biopolymères et les dendrimères ont été utilisés comme matrices hôtes pour les métaux avec une capacité de libération contrôlable (**Tableau 1.4**).

Pour les ions métalliques de transition divalents de la quatrième période, l'ordre de préférence pour les ligands donneurs est appelé la série d'Irving-Williams ($Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} < Zn^{2+}$). Une seconde théorie, appelée la théorie des acides et bases dures et molles (HSAB), est basée sur la réactivité des métaux (Mani, 2018). Cette théorie classe les métaux de transition en fonction de leur affinité pour des ligands organiques spécifiques. Par exemple, les cations acides mous (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ et Cd^{2+}) et les cations acides intermédiaires (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} et Zn^{2+}) ont tendance à s'associer fortement avec les bases molles, telles que les groupes sulfhydryles (R-SH) présents dans les protéines. Par conséquent, la toxicité de ces cations métalliques est approximativement proportionnelle à leur affinité pour l'atome de soufre. (Lapasam *et al.*, 2019). Le potentiel d'oxydoréduction est un paramètre thermodynamique qui décrit la tendance des métaux à perdre ou à acquérir des électrons d'un accepteur ou d'un donneur, respectivement.

1.3.1 Perturbation de la paroi cellulaire bactérienne

La disruption de la paroi cellulaire bactérienne peut se produire au contact des métaux. Les surfaces externes des bactéries à Gram-positif (GP) et à Gram-négatif (GN) possèdent une charge nette négative en raison de la présence de groupes fonctionnels tels que carboxyle, phosphate et hydroxyle. La paroi cellulaire des bactéries GP comporte une épaisse couche de peptidoglycane constituée de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine (NAC) et d'acide N-acétylmuramique (NAM). En revanche, la paroi des bactéries GN est composée d'une membrane externe phospholipidique portant des charges négatives en surface. Une attraction électrostatique est induite entre les cations métalliques et la paroi cellulaire bactérienne, dont les groupes fonctionnels chargés négativement se lient fortement aux métaux par interaction ion-dipôle.

Tableau 1.4. L'état de l'art sur les applications biomédicales des cations métalliques.

Cations	Matrices hôtes	Conditions de fonctionnement	Microorganismes ciblés	Paramètre de toxicité mesuré	Réf.
Ag ⁺ , Cu ²⁺ et Zn ²⁺	Zéolithes aluminosilicates	10.0 g de zéolite ont été suspendus dans 500 mL de 0.3 M de sels métalliques	<i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>	Détermination de la concentration bactérienne minimale (CBM)	(Suleiman Haddadin, 2019)
Fe ³⁺	Montmorillonite (MT)	20 g de Na ⁺ -MT et 150 mL de 0.1 mol/L FeCl ₃ solution aqueuse ont été mélangés pour 1 h	<i>E. coli</i> , <i>coliforms</i> , and <i>SPC bacteria</i>	Mesure du nombre de bactéries viables et du nombre total de bactéries à l'aide d'une méthode de coloration fluorescente	(Suzuki et al., 2021)
Cu ²⁺ et Zn ²⁺	Montmorillonite intercalée avec du cetylpyridinium et du N-lauroylsarcosinate	1 g de Mt-CP-SR a été ajouté à 50 mL des solutions d'ions métalliques à la concentration initiale de 300 ppm	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	La norme ASTM E2149 « Méthode d'essai standard »	(Özdemir et Yapar, 2020)
Zn ²⁺	Zéolithe cubaine	1M de zéolithe cubaine a été mélangé avec 0,5 M solution de ZnSO ₄ ·7H ₂ O	<i>Helicobacter pylori</i>	Tests in vitro. Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	(Ceri et al., 2021)
Ag ⁺ , Cu ²⁺ et Zn ²⁺	Zéolithe synthétique A (A)	La zéolite a été mélangée avec la solution métallique correspondante dans un rapport pondéral de 1:100 et agité la suspension à 25–45 °C dans un bain-marie thermostatique	<i>Escherichia coli</i>	Mesure des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) à l'aide du système automatisé VITEK 2 Compact 15	(Milenkovic et al., 2017)
Ag ⁺ , Cu ²⁺	Tuf zéolitisé naturel (NZ)	Traitement de 2 mol/L de NaNZ avec 6 mmol/L de Cu(NO ₃) ₂ ou AgNO ₃ solution dans un bain-marie à 25°C pour 24h	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Dénombrement bactérien par désorption/ionisation laser assistée par matrice – spectrométrie de masse à temps de vol	(Hrenović et al., 2020)
Cr ³⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ et Zn ²⁺	Silice mésoporeuse MCM-41	5 g de MCM41 non calciné et 100 mL de solution métallique ont été préparés et agités pour 2 h sous température ambiante	<i>P. aeruginos</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> , et <i>S. aureus</i>	Calcul du diamètre de la zone d'inhibition bactérienne (IZD)	(Hachemaoui et al., 2020)
Cu ²⁺ et Pb ²⁺	Chemically modified cellulose	2 g de DTD a été ajouté à la 1000 mg/L de CuSO ₄ ·5H ₂ O, Pb(NO ₃) ₂ solution	<i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> and <i>S. aureus</i>	Méthode standard de diffusion sur disque	(Saravanan Ravikumar, 2015)

Tableau 1.4b

Cations	Matrices hôtes	Conditions de fonctionnement	Microorganismes ciblés	Paramètre de toxicité mesuré	Réf.
Ni ²⁺ , Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Pt ²⁺ , Cd ²⁺ , Pd ²⁺	N,N-di-n-propyl-N'-(2-chlorobenzoyl)-thiouree (HL1) et N,N-diphényl-N'-(2-chlorobenzoyl) thiourée (HL2)	L'acétate métallique (0.01 mole) dans l'éthanol (30 cm ³) a été ajouté goutte à goutte à une solution du ligand dans un rapport molaire de 1:2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Test antibactérien in vitro utilisant la procédure de dilution en agar	(Binzet et al., 2006)
Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺	Acide isonicotinique (2-hydroxy benzylidène) hydrazide	La solution de sel métallique a été ajoutée à la solution du ligand dans un rapport molaire de 1:2 (métal:ligand)	<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	L'évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne a été réalisée en mesurant la concentration minimale inhibitrice (CMI)	(Abou-Melha, 2008)
Co ²⁺ , Ni ²⁺	-	5 mL de solution métallique ont été ajoutés à 2 mL de milieu de culture	<i>Helicobacter pylori</i>	Mesure des concentrations minimales inhibitrices	(Bruggraber et al., 2004)
Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Mn ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺	2-Acétylepyridine o-Hydroxybenzoyl-hydrazone	0.3 mmol de solution de sel métallique a été mélangé avec 0.3 mmol dans 50 mL d'éthanol absolu	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Mesure du diamètre de la zone d'inhibition (IZD)	(Nawar et Hosny, 1999)
Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺	Hydrazone 7-chloro-4-(benzylidène-hydrazo) quinoléine	Les complexes ont été préparés en utilisant des rapports molaires de 2:2:1 de Li(OH)-ligand-sel métallique. 2.82 g, 10 mmol de ligand ont été ajoutés aux 5 mmol de solution métallique	<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	Le ligand et les complexes ont été testés sur milieu solide en utilisant la technique de diffusion	(Al-Sha'alan, 2007)
Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺ , Hg ²⁺ and Cd ²⁺	Base de Schiff (L) dérivée de 4-aminoantipyrine, 3-hydroxy-4-nitrobenzaldéhyde et o-phénylènediamine	Une solution de chlorure de métal(II) dans l'éthanol (2 mM) a été chauffée sous reflux avec une solution éthanolique de la base de Schiff (2 mM) pendant environ 5 h	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , et <i>Bacillus subtilis</i>	Les effets du criblage biologique in vitro ont été étudiés par la méthode de diffusion en puits, en utilisant un milieu de culture à base d'agar	(Raman et al., 2007)
Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Mn ²⁺ , and Zn ²⁺	Argile riche en kaolin de l'Amazonie colombienne (AMZ)	Les cations échangeables dans l'AMZ ont été extraits en utilisant 1 M NaCl (100 mg d'argile/mL de solution de NaCl)	<i>Escherichia coli</i>	Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration bactéricide minimale (CBM)	(Londono et al., 2017)

Cela entraîne un rétrécissement de la membrane cytoplasmique ou une perturbation de la paroi cellulaire. La dispersion des métaux cationiques et zéro-valents dans les milieux aqueux, où les bactéries se développent naturellement, altère l'équilibre membranaire bactérien par interaction acide-base de Lewis avec : 1. Les molécules d'eau, générant une acidité de Brønsted qui affecte les fonctions bactériennes; 2. Les atomes d'O, S et N, qui agissent comme des acides de Lewis (Glauert et Thornley, 1969; Gold *et al.*, 2018). Le dommage initial causé par le métal à l'enveloppe bactérienne est crucial pour la pénétration ultérieure à l'intérieur de la cellule, où le métal peut infliger des dommages supplémentaires aux fonctions cellulaires vitales. Les ions métalliques se lient aux protéines et aux acides nucléiques, affectant ainsi leur fonction.

1.3.2 Génération des ROS et dommages intracellulaires

Les métaux sont connus pour induire un stress oxydatif dans la cellule bactérienne en produisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que l'anion superoxyde radicalaire ($\bullet\text{O}_2^-$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($\text{HO}\bullet$). La forte réactivité des radicaux oxygénés envers les groupes phosphate, thiol et carboxyle entraîne l'oxydation de certaines espèces antioxydantes, comme le glutathion (GSH), supprimant ainsi le mécanisme de défense antioxydant contre les ROS intrinsèquement produits par la cellule. La croissance bactérienne et le cycle cellulaire sont également inhibés par les radicaux oxygénés via la déphosphorylation de certaines protéines clés ayant une activité enzymatique.

De nombreuses études pertinentes (Réfs – issues de celles déjà citées) ont montré que les radicaux libres générés à la surface du métal interagissent avec les protéines de la membrane cellulaire bactérienne et oxydent les acides gras insaturés, affectant ainsi la fluidité et la stabilité de la membrane. La production de ROS associée à la surface du métal a également été identifiée comme une cause de rupture de la membrane cellulaire. Les ROS générés par les métaux peuvent inactiver les enzymes membranaires et provoquer un dysfonctionnement de la chaîne de transport des électrons et de la force motrice des protons. Cela a un impact direct sur la synthèse d'ATP, interférant avec de nombreuses fonctions cellulaires vitales. En outre, l'augmentation des niveaux de ROS semble induire des réactions chimiques avec divers composants cellulaires tels que l'ADN, les protéines et d'autres biomolécules.

1.3.3 Activité antibactérienne des cations de cuivre

Le cuivre est un cofacteur essentiel pour plusieurs enzymes clés, telles que la cytochrome C oxydase impliquée dans la respiration et les processus photosynthétiques. Les cations de cuivre participent à

plusieurs processus en fonction de leur état d'oxydation. Alors que le Cu^+ réduit a une affinité pour les groupes thiol et thioéther, comme ceux présents dans les chaînes latérales de la cystéine et de la méthionine, le cation Cu^{2+} oxydé favorise les interactions avec les atomes d'oxygène ou les groupes contenant de l'azote, appartenant respectivement à l'aspartate, au glutamate ou au cycle imidazole de l'histidine. Plusieurs voies menant à la mort bactérienne ont été suggérées pour les ions cuivre, notamment : La perturbation de la membrane cellulaire, L'altération intracellulaire des processus biochimiques, L'induction de dommages à l'ADN. Ces mécanismes expliquent l'activité antibactérienne remarquable des cations de cuivre et leur potentiel dans le développement de nouvelles stratégies antimicrobiennes (Esteban-Cubillo *et al.*, 2006). Le cuivre se lie aux phospholipides et modifie les propriétés physico-chimiques de la membrane (fluidité et/ou flexibilité). Cette interaction peut également renforcer le stress oxydatif en générant davantage de radicaux hydroxyles à la surface de la membrane. À des concentrations élevées, le cuivre est toxique pour les cellules procaryotes, en partie en raison de ses propriétés rédox.

Diverses études ont montré que l'activité antibactérienne du cuivre et sa capacité de transition entre Cu^+ et Cu^{2+} peuvent produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS) en conditions aérobies. La chimie de Fenton appliquée au cuivre apporte des données précieuses sur la décomposition du H_2O_2 en $\bullet\text{OH}$ généré par les états oxydés du métal. À des doses élevées, ces radicaux libres provoquent divers dysfonctionnements et entraînent des dommages cellulaires excessifs dus au stress oxydatif induit par la formation de radicaux libres (**Schéma 1.2**).

Bien que Cu^{2+} soit l'état d'oxydation le plus stable, le cuivre seul ne peut pas soutenir efficacement les processus rédox. Un agent réducteur (comme l'anion superoxyde $\bullet\text{O}_2^-$, la NADPH oxydase de la chaîne respiratoire ou les thiols intracellulaires) est nécessaire pour réduire Cu^{2+} en Cu^+ afin de compléter le cycle rédox et maintenir la production de radicaux $\bullet\text{OH}$. Ces radicaux oxygénés libres peuvent alors provoquer des dommages par peroxydation lipidique, réduisant la flexibilité membranaire et entraînant la rupture de la membrane (Godoy-Gallardo *et al.*, 2021). Les mécanismes antibactériens des cations Cu^{2+} et Cu^+ en milieu aqueux contenant *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* ont été élucidés à l'aide de la spectroscopie XANES. Il a été démontré que l'activité antibactérienne du cuivre résulte principalement de la liaison $\text{Cu}^+:\text{S}$, avec des interactions mineures de Cu^+ avec les groupes phosphate, tels que ceux présents dans l'ATP, si elles existent. Pour les bactéries à Gram négatif (GN), l'activité antibactérienne du Cu^+ provient principalement de son comportement rédox (Allan et Jarrell, 1989).

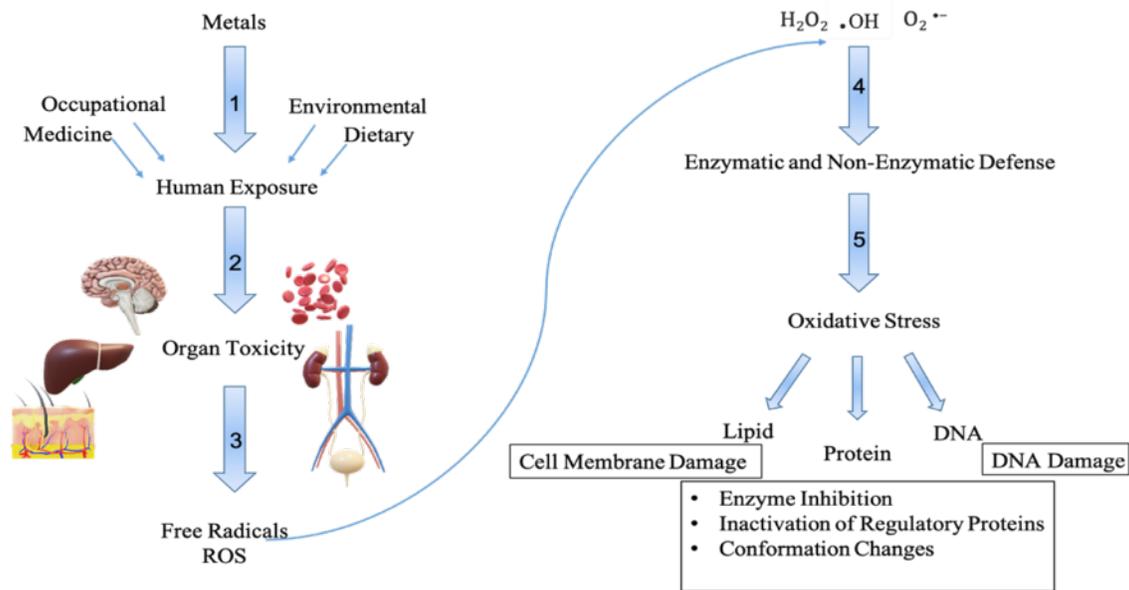


Schéma 1.2. Stress oxydatif induit par l'exposition aux métaux lourds.

L'accumulation des ions cuivre inhibe également la voie aérobie de la synthèse des nucléotides. Lors de l'effort de la cellule pour éliminer le métal du cytoplasme, l'inhibition de la ribonucléoside-diphosphate réductase réduit la réplication cellulaire et la croissance bactérienne. La toxicité du cuivre peut également être attribuée à la désagrégation des clusters métalliques. L'ion cuivre peut perturber de manière compétitive les ponts fer-soufre dans les protéines, qui sont des cibles importantes de l'isopropyl malate-déshydratase, une enzyme impliquée dans la biosynthèse des acides aminés à chaîne ramifiée. L'ADN d'*E. coli* semble être une cible mineure des ions cuivre, étant donné les dommages limités observés même après une exposition prolongée en présence de H_2O_2 . Cependant, il apparaît que les ions cuivre libérés par les nanoparticules d'oxyde de cuivre (CuO-NP) peuvent se lier à la double hélice de l'ADN, provoquant un désordre au sein des brins d'ADN et affectant ainsi la transcription et la réplication, pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire (Linder, 2001; Theophanides et Anastassopoulou, 2002).

1.3.3 Activité antibactérienne du cation argent

L'argent est reconnu depuis longtemps comme un agent antimicrobien efficace et est utilisé dans de nombreuses formulations. Il est connu pour présenter une très faible toxicité, voire aucune, pour les cellules humaines à certaines concentrations. L'argent s'est révélé efficace contre divers agents pathogènes présents sur les sites d'implantation, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus et *Staphylococcus epidermidis*. Malgré des recherches approfondies sur les ions argent et les nanoparticules d'argent, les mécanismes de leur action antimicrobienne sont supposés être similaires et restent encore à être entièrement élucidés (Wakshlak *et al.*, 2015).

La perturbation de la membrane cellulaire par les deux métaux est supposée impliquer des voies similaires. L'ion Ag^+ présente une activité antibactérienne plus faible contre les bactéries à Gram positif (GP) que contre celles à Gram négatif (GN), probablement en raison de leur couche plus épaisse de peptidoglycane (PGN). L'argent ionique peut interagir avec les protéines associées à la paroi et à la membrane bactérienne, formant ainsi des complexes délétères qui altèrent les propriétés physico-chimiques de la paroi cellulaire. Il est bien établi que l'argent réagit facilement avec les groupes sulfhydryles présents sur la membrane bactérienne en échangeant l'atome d'hydrogène terminal. Cette interaction stable S:Ag bloque totalement le processus respiratoire, le transfert d'électrons, la sécrétion des protéines et la biosynthèse des lipides (Yamanaka *et al.*, 2005).

Le cation Ag^+ peut provoquer une dénaturation des protéines intracellulaires et une perturbation de l'ADN. Certaines études ont suggéré l'association du soufre des groupes thiol des protéines associées aux nucléotides avec les ions argent, ainsi que l'altération des protéines régulatrices de la chromatine, affectant ainsi la transcription de l'ARNm et la réplication de l'ADN. Il a été rapporté que ces interactions perturbent plusieurs processus cellulaires essentiels, conduisant à la mort cellulaire (Barros *et al.*, 2019; Godoy-Gallardo *et al.*, 2021), La diminution induite par l'argent de la protéine S2 (glycoprotéine spiculaire) entraîne des altérations des ribosomes et de la synthèse des protéines. Cela devrait empêcher la production d'enzymes cellulaires clés, épuiser l'adénosine triphosphate (ATP) dans les cellules, ce qui entraîne un dysfonctionnement du métabolisme et, finalement la mort cellulaire (Cronholm *et al.*, 2013).

La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par les ions Ag^+ pourrait entraîner des dommages à l'ADN, impliquant des délétions, des insertions, des mutations ponctuelles, des cassures monobrin, des cassures de brins doubles, de la fragmentation et la formation d'adduits. Des interactions avec des protéines liant l'ADN ont également été rapportées. De plus, les ions Ag^+ peuvent affaiblir l'interaction intracellulaire Fe:S jusqu'à provoquer une disruption. Cela devrait entraîner la libération intracellulaire de Fe^{2+} , ce qui favorise inévitablement la formation de radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$) via la réaction de Fenton (Park *et al.*, 2009).

1.4 Métaux à valence zéro avec activité antibactérienne

Les nanoparticules métalliques (NPM), dont la taille des particules est généralement inférieure à 100 nm, peuvent également être utilisées comme agents antimicrobiens, car elles exercent une activité antibactérienne en induisant de graves dysfonctionnements bactériens et en ralentissant leur croissance. Leur activité antibactérienne semble être favorisée par la réduction de la taille des particules, ce qui entraîne une surface de contact plus élevée avec le milieu infecté. Les nanoparticules d'argent (AgNP) et de cuivre (CuNP) se sont déjà révélées très efficaces contre les bactéries Gram-négatives et Gram-positives en inhibant leur croissance cellulaire et leur capacité à développer une résistance aux médicaments (Alavi et Rai, 2019; Allafchian et Hosseini, 2019; Staroń et Długosz, 2021; Wan *et al.*, 2021). Leur action semble suivre plutôt un mécanisme bactéricide qu'un mécanisme bactériostatique, mais d'autres voies d'action potentielles peuvent également être impliquées en fonction des types de métaux et de micro-organismes (Noori *et al.*, 2022; Noori *et al.*, 2021).

1.4.1 Méthodes de préparation des NPM

La relation inverse entre l'activité antibactérienne et la taille des particules est désormais bien établie. Cela a stimulé la recherche en vue de développer des méthodes de synthèse efficaces visant à produire les nanoparticules métalliques (NPM) les plus fines possibles. Les méthodes les plus courantes pour produire des NPM incluent le broyage à billes, la co-précipitation, la décomposition thermique, le traitement hydrothermal, la microémulsion, la méthode sol-gel et les voies biologiques (Alavi et Rai, 2019; Ali *et al.*, 2021). L'analyse comparative des différentes voies de synthèse des nanoparticules métalliques (NPM) (Tableau 1.5) montre clairement que leur obtention par des méthodes physiques est souvent difficile. Cependant, l'ajustement de certains paramètres permet de contrôler la taille et la forme des particules, offrant ainsi des possibilités de personnalisation en fonction des applications souhaitées (Akhtar *et al.*, 2013; Decastro et Mitchell, 2012; Shah *et al.*, 2015).

Les méthodes physiques peuvent suivre une approche "top-down" ou "bottom-up". Dans l'approche "top-down", les matériaux en vrac sont fragmentés en particules plus petites par concassage et broyage mécanique (broyage à billes). Dans l'approche "bottom-up", de minuscules particules bien dispersées à l'échelle nanométrique peuvent être obtenues, par exemple, grâce à l'évaporation laser (Biehl *et al.*, 2018; Decastro et Mitchell, 2002). Les particules présentent une distribution de taille plus large que celles obtenues par synthèse chimique (Benjamin, 1970; El-Eskandarany, 2001). Une autre technique physique de préparation des MNP repose sur l'évaporation laser (ou ablation laser) ; les nanoparticules se forment

par condensation à partir de la phase liquide ou gazeuse (Amendola et Meneghetti, 2009; Biehl *et al.*, 2018; Shin *et al.*, 2004). La méthode d'explosion de fil est un procédé productif en une seule étape qui ne nécessite aucune étape supplémentaire, comme la séparation ou le retraitement. Elle est souvent utilisée pour préparer des nanoparticules d'oxyde de fer destinées au traitement de l'eau (Kotov, 2003).

Les méthodes de synthèse chimique consistent généralement en différentes approches ascendantes (bottom-up). Une revue de la littérature approfondie met en évidence la co-précipitation comme étant l'une des méthodes les plus utilisées pour préparer des nanoparticules magnétiques (MNP) de taille contrôlée. Les ions métalliques sont dissous et réduits dans un solvant pour produire des MNP. Différents facteurs tels que le pH du milieu liquide, les types de cations métalliques et de sels, leurs concentrations, la température de la réaction et l'agent réducteur peuvent influencer la taille et la forme des particules de MNP (Jiang *et al.*, 2004; Sandeep Kumar, 2013). Ici, le rôle principal de la co-précipitation réside dans l'obtention d'une dispersion homogène des oxydes métalliques avant la réaction de réduction. Une autre méthode chimique implique la décomposition thermique des organométaux. Des agents stabilisants tels que les acides gras (par exemple, l'acide oléique) et l'hexadécylamine peuvent atténuer la vitesse de nucléation, favorisant ainsi la production de particules sphériques de taille adaptable (inférieure à 30 nm). L'agent stabilisant est ensuite éliminé lors du chauffage. Cette technique génère souvent une taille de particule plus petite que celle obtenue par co-précipitation (Effenberger *et al.*, 2017; Ren *et al.*, 2019).

La méthode de microémulsion utilise des systèmes isotropes de phases lipophiles et hydrophiles stabilisés par des tensioactifs ou des co-tensioactifs. Les principaux types de microémulsions sont l'huile dans l'eau (O/E), l'eau dans l'huile (E/H) et les systèmes contenant à la fois de l'eau et de l'huile en quantités comparables. De petites quantités de MNP, mais uniformément dispersées selon le type de tensioactif, sont généralement obtenues (Mosayebi *et al.*, 2017). Les méthodes aqueuses, également appelées solvothermiques, impliquent l'hydrolyse et l'oxydation, et sont généralement réalisées sous haute pression et température. Des tailles de particules uniformes ont été obtenues à partir de divers métaux, et leur morphologie a été trouvée dépendante du solvant, du temps, de la pression et de la température. Cette méthode est souvent préférée aux autres car elle permet de produire des MNP avec une composition, une taille et une forme contrôlables (Zahid *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2016).

Tableau 1.5 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes de synthèse des nanoparticules magnétiques (MNP).

Méthodes de synthèse	Avantages	Inconvénients	Réf.
Méthode de broyage à billes	Simple, largement utilisé, Produit une poudre fine	Contamination du produit	(Sarwat, 2017)
Évaporation laser	Coût expérimental faible, pas d'utilisation de produits chimiques, pas de produits polluants	Prix élevé du système laser, nécessite une grande quantité d'énergie	(Yang <i>et al.</i> , 2017)
Méthode d'explosion de fil	Écologiquement sûr, propre et très productif	Une légère contamination du produit peut survenir	(Kotov, 2003)
Co-précipitation	Simple, grande quantité	Impuretés, chronophage	(Jiang <i>et al.</i> , 2004)
Décomposition thermique	Taille contrôlable, rendement élevé	Solvants toxiques	(Odularu, 2018)
Synthèse par micro-émulsion	Thermodynamiquement stable	Faible rendement	(Stubenrauch <i>et al.</i> , 2008)
Hydrothermal/solvothermal	Bonne cristallinité	Nécessite une température et une pression élevées	(Mamaghani <i>et al.</i> , 2019)
Méthode sol-gel	Haute pureté, bonne cristallinité	Temps plus long, solvants organiques toxiques	(Parashar <i>et al.</i> , 2020)
Réaction sonochimique	Haute cristallinité, magnétisation de saturation, distribution de taille étroite	Le mécanisme n'est toujours pas bien compris	(Fujimoto <i>et al.</i> , 2001)
Micro-ondes	Rapide, cinétique rapide pour la cristallisation	Nucléation homogène due au chauffage uniforme	(Motshekga <i>et al.</i> , 2012)
Réduction chimique	Simplicité, sûr	Pollution environnementale	(Guzmán <i>et al.</i> , 2009)
Dépôt chimique en phase vapeur	Production de matériaux à large gamme	Faible productivité, impuretés	(Seipenbusch et Binder, 2009)
Décharge par arc	Simple, faible coût	Difficile de contrôler la taille des particules	(Mao <i>et al.</i> , 2019)
Pyrolyse laser	Chauffage hautement localisé et refroidissement rapide	Coûteux	(Dumitrache <i>et al.</i> , 2005)
Synthèse par combustion	Simple, rapide, faible coût	Génère des impuretés	(Li <i>et al.</i> , 2015)
Recuit	Taille des particules et composition chimique contrôlables	Génère des impuretés	(Stepanov <i>et al.</i> , 2000)
Méthode biologique	Processus efficace, propre et respectueux de l'environnement	Mauvaise dispersion des nanoparticules	(Thakkar <i>et al.</i> , 2010)

La méthode sol-gel implique la formation de gel par hydrolyse des précurseurs et polycondensation des alcoxydes métalliques, suivie de la réduction du métal. Ici, les sels métalliques sont dissous dans un solvant qui est ensuite évaporé, donnant naissance à un gel. C'est un processus peu coûteux qui produit de grandes quantités de MNP avec une taille et une forme sur mesure, mais la régénération des réseaux d'oxyde tridimensionnels est un inconvénient majeur qui limite ses applications (Ansari *et al.*, 2019; Gu *et al.*, 2006).

Les MNP peuvent également être synthétisées par les plantes. Il s'agit d'une voie biologique très intéressante, dont les différents mécanismes impliquant l'activité de la nitrate réductase et/ou des quinones agissant comme navettes d'électrons restent encore à élucider (Gericke et Pinches, 2006; Thakkar *et al.*, 2010; Verma *et al.*, 2021). Cette catégorie de procédures est toutefois limitée par la culture des plantes, qui constitue une étape agricole consommatrice d'énergie. L'utilisation de plantes spécifiques et de biomasses associées peut également fournir des sources précieuses et à faible coût d'agents réducteurs pour la synthèse des MNP. Le café ou le thé vert ont déjà montré une capacité réductrice dans la synthèse de CuNP et de AgNP au sein des canaux de silice de type SBA. (Sekkal *et al.*, 2021). Cette propriété a conduit à considérer le thé et le café comme bénéfiques pour la santé humaine en réduisant le stress oxydatif (Yan *et al.*, 2020b) Et comme des matières premières précieuses pour les usages alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Aree, 2019; Chacko *et al.*, 2010; Rahman *et al.*, 2018). Cette propriété réductrice provient de la capacité des acides phénoliques dans le café et des flavonoïdes dans le thé vert à être oxydés, jouant ainsi un rôle clé en tant qu'antioxydants dans les organismes vivants (Scalbert et Williamson, 2000). Indépendamment de la technique de dispersion des précurseurs de MNP (cation métallique ou oxydes), une réduction chimique approfondie nécessite un agent réducteur puissant (Jamkhande *et al.*, 2019). Cela permet d'éviter la présence de espèces indésirables moins réduites ou non réduites. Les agents réducteurs les plus courants sont le glucose, le glycol éthylène, l'éthanol, l'hydrazine, l'hydrogène moléculaire, les hydrures métalliques tels que LiH, NaH, LiAlH₄, CaH₂, le borohydrure de sodium (NaBH₄) et les agents réducteurs « verts » tels que les acides phénoliques dans le café et les flavonoïdes dans le thé vert (Scalbert et Williamson, 2000).

1.4.2 Rôle de l'agent stabilisant

Il est bien connu que les MNP fines sont généralement plus actives contre les micro-organismes que leurs homologues plus volumineux, car elles offrent une grande surface de contact avec le milieu infecté. (Alavi

et Rai, 2019; Wu *et al.*, 2019). Les AgNP constituent l'un des nanomatériaux les plus fréquemment utilisés, principalement en raison de leur grande activité antimicrobienne. Cette activité impliquerait supposément la libération de cations Ag⁺ dans le milieu infecté en raison de la surface de contact accrue (Yan et Chen, 2019; Yu *et al.*, 2013). Dans les dispersions aqueuses, les MNP peuvent être sujettes à de nombreux processus tels que la dissolution, ce qui modifie inévitablement leur taille, leur forme, leurs propriétés de surface, leur réactivité, leur devenir, leur transport, leur biodisponibilité et leur absorption. La stabilité des MNP est difficile à préserver en raison de leur forte tendance à s'agréger en amas plus volumineux. Ce taux de croissance dépend des interactions interfaciales. L'agrégation et la sédimentation des MNP peuvent affecter de manière significative leur activité antibactérienne (Peng *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2018). Les changements dans la taille, la forme, la composition et l'agencement cristallographique des particules peuvent modifier de manière significative leurs propriétés plasmoniques. La littérature montre que les MNP sont rarement utilisés seuls et que leur stabilisation est donc essentielle, nécessitant des espèces chimiques et des matrices hôtes portant des fonctions chimiques suffisantes pour afficher une capacité de chélation optimale (**Tableau 1.6**) (Keller *et al.*, 2010; Prathna *et al.*, 2011; Zhang, 2014). De telles fonctions chimiques devraient être capables de favoriser non seulement une grande dispersion des MNP en petites particules, mais aussi leur stabilisation en favorisant leur accessibilité au milieu infecté au détriment des interactions Métal : Métal. Une stabilisation optimale devrait également prévenir l'oxydation des MNP en cations. Une force de rétention des MNP trop faible est un inconvénient majeur pour leur stabilisation, et inversement, une interaction trop forte avec le groupe chimique chélateur peut fortement encapsuler les MNP, bloquant ainsi leur surface de contact et empêchant leurs échanges avec le milieu environnant. Contrairement aux MNP emprisonnées dans un support solide, les MNP sont souvent stabilisés par des agents de surface qui empêchent l'interaction Métal : Métal, l'agrégation nuisible des MNP et réduisent leur efficacité antimicrobienne (Chen *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2010; Yuan *et al.*, 2018).

1.4.3 Mécanismes antibactériens des MNP

L'activité antimicrobienne des MNP peut impliquer différents mécanismes. Un premier mécanisme est favorisé par les interactions entre les acides de Lewis (accepteurs de paires d'électrons) et les bases de Lewis (donneurs de paires d'électrons), entre des charges de surface opposées ou entre des espèces hydrophobes/hydrophiles à l'interface MNM-membrane cellulaire.

Les interactions acide-base de Lewis (LAB) sont particulièrement intéressantes, car elles se produisent par l'attraction compétitive des MNP par des groupes chélateurs plus forts appartenant à la membrane

cellulaire et aux enzymes telles que les groupes sulfhydryles, au détriment de celle exercée par la matrice mère. LAB est probablement la cause la plus fréquente d'intoxication (empoisonnement) par les ZVM et les cations métalliques, et il est connu pour affecter les fonctions cellulaires fondamentales et les métabolismes. Un second mécanisme réside dans la production de réactifs oxydants (ROS) par les MNP, et ne nécessite pas de contact direct avec les micro-organismes. Les ROS peuvent diffuser à travers la membrane cellulaire et réagir avec l'ADN, les lipides et les protéines, entraînant la mort cellulaire. Cependant, l'exposition aux ROS n'est pas constante et n'est pas efficace contre les souches résistantes aux ROS. Un autre mécanisme implique l'oxydation des MNP en ions métalliques, dont la solubilité facilite leur diffusion à travers la membrane cellulaire. Une fois atteignant le noyau cellulaire, les ions métalliques peuvent interagir avec l'ADN et/ou les protéines, entraînant des dommages génétiques potentiels (Alavi et Rai, 2019; Gabrielyan et Trchounian, 2019; Slavin *et al.*, 2017a).

1.4.4 Rôle de la taille des particules de MNP

L'insolubilité des ZVM fait que les MNP agissent uniquement à travers leur surface externe de particule. Il apparaît donc clairement que les échanges des MNP avec les milieux liquides environnants contenant des bactéries sont étroitement liés à la dispersion des MNP. En d'autres termes, la toxicité des MNP vis-à-vis des bactéries est dépendante de leur taille. La taille est également liée à leur utilisation pharmaceutique pour des fins d'administration "in vivo". Par injection intraveineuse, les MNP de taille inférieure à 50 nm peuvent atteindre plus rapidement tous les tissus et présenter un effet toxique plus fort. Les MNP dont la taille des particules est supérieure à 6 nm sont connues pour s'accumuler dans des organes spécifiques, car elles ne peuvent pas être excrétées par les reins. Réduire la taille des nanoparticules en dessous de 1 nm (MSNPs - nanoparticules métalliques subnanométriques) facilite leur pénétration et renforce leurs interactions avec les protéines, les acides nucléiques et d'autres biomolécules, entraînant des dommages cellulaires potentiels. Il en résulte que la taille des particules de MNP contrôle leur toxicité. Par exemple, des points quantiques de séléniure de cadmium ont été trouvés pour s'accumuler dans les tissus vivants et provoquer une hépatotoxicité, tandis que des nanoparticules fines d'or (AuNP) ont montré une accumulation accrue dans les organes, tandis que les particules plus grandes (plus de 1 nm) ne peuvent pas facilement pénétrer dans la cellule (Auría-Soro *et al.*, 2019; Khurana *et al.*, 2014).

Tableau 1.6. L'état de l'art sur les applications biomédicales des nanoparticules métalliques.

MNPs	Matrices hôtes	Conditions de fonctionnement	Microorganismes	Critères de toxicité	Réf.
AgNPs	Hydrogel composite de gomme adragante modifiée/oxyde de graphène	0.5 g d'hydrogels séchés a été mélangé avec 50 mL de solution aqueuse de AgNO ₃ (0.85 g/50 mL) et 50 mL de solution d'extrait de fleur	<i>Staphylococcus aureus</i>	Activité antibactérienne in vitro (test de contact direct avec diffusion sur agar)	(Sahraei et Ghaemy, 2017)
CuNPs, ZnNPs	Spirulina platensis assistée par ultrasons (UASP)	Un gramme de poudre UASP a été ajouté à la solution métallique (1.69 g de sels métalliques dans 20 mL d'eau distillée)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Escherichia coli</i>	Méthode de diffusion en puits d'agar	(Gunasundari et al., 2017)
ZnONP	Films en acétate de cellulose (CA)	Une solution à 0.2 % (p/v) d'acétate de cellulose dans du DMF (solvant diméthylformamide) a été ajoutée à une quantité pré-calculée de ZnCl ₂	<i>Escherichia coli</i>	Évaluation de l'action antibactérienne par la méthode de la zone d'inhibition	(Chaurasia et al., 2010)
AgNPs	Nanocristaux d'oxyde de calcium (CaO)	1 g d'argent a été mélangé avec 3 g d'oxyde de calcium	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella sp</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Enterobacter sp</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	Mesure du diamètre de la zone d'inhibition	(Alsohaimi et al., 2020)
AgNPs	Chitosane (CS)	0.1 g de chitosane a été dissous dans 50 mL d'eau ultrapure sous agitation vigoureuse à 90 °C, suivi de l'ajout de 0.5 mL de solution de 0.1 M de AgNO ₃	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	(Chen et al., 2020)
ZnONPs	Films de chitosane	Le film de chitosane a été placé dans une solution aqueuse de chlorure de zinc à 2 % (p/v) pendant 12 h à 30 °C	<i>Escherichia coli</i>	Méthode de la zone d'inhibition	(Bajpai et al., 2010)
ZnONPs	Biofilm alginate-chitosane (CS/Alg)	2 g de chitosane et d'alginate ont été dissous dans 100 mL d'eau déionisée. Ensuite, des nanoparticules de ZnO (1 mg/mL) ont été ajoutées goutte à goutte à la solution de chitosane-alginate	<i>Bacillus subtilis</i>	Diamètre de la zone d'inhibition	(Gong et al., 2019)
CuNPs, PbNPs, AgNP and ZnNPs	Carbone activé (AC)	0.478 g de sel métallique a été dissous dans 25 mL d'eau distillée fraîche. Ensuite, 1 g de carbone activé a été ajouté à la solution métallique	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Escherichia coli</i>	Méthode de diffusion en puits d'agar	(Saravanan et al., 2016)

Tableau 1.6b

MNPs	Matrices hôtes	Conditions de fonctionnement	Microorganismes	Critères de toxicité	Réf.
AgNPs	Chitosan-alginate	3.0 % (p/v) de Na-alginate a été bien dissous dans l'eau, et un volume équivalent de AgNP a été ajouté à la solution de Na-alginate	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Morganella morganii</i> et <i>Haemophilus influenzae</i> .	Méthode de test antibactérien AATCC	(Bilal <i>et al.</i> , 2017)
ZnONPs	Films de calcium-alginate	20 mL de solution de 4 % (p/v) d'alginate de sodium, une quantité définie de nanoparticules d'oxyde de zinc a été ajoutée et la solution a été bien mélangée sous une agitation élevée de 160 tr/min pendant 1 h	<i>Escherichia coli</i>	Méthode de la zone d'inhibition	(Bajpai <i>et al.</i> , 2012)
AgNPs, ZnONP	Argile bentonite	20 g de l'argile tamisée a été activée chimiquement en la dispersant dans une solution de H ₂ SO ₄ 3 M	<i>Escherichia coli</i> and <i>Enterococcus faecalis</i>	Méthode de diffusion sur disque	(Motshega <i>et al.</i> , 2013)
AgNPs	Argile intercalée (saponite)/nanocomposite de polyacrylamide (PAAm) hydrogels	AAm (1 g) et diverses quantités d'argile inorganique (1–3 % en poids selon le monomère) ont été dissous dans 3 mL d'eau 0.1 % de AgNO ₃ a été ajouté à la solution précédente	<i>Staphylococcus and Escherichia coli</i>	Méthode sur disque	(Bandla <i>et al.</i> , 2017)
AgNPs	Nanocomposite agar-carboxyméthylcellulose-montmorillonite (Agar-CMC/MMT)	Ag-MMT a été préparé en dispersant 1 g de MMT dans 100 mL de solution de 10 mM de AgNO ₃ pendant 24 h. Les solutions de film ont été préparées en dissolvant 3 g d'agar et 1 g de CMC dans 100 mL d'eau distillée	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i>	Calcul du diamètre de la zone d'inhibition bactérienne	(Makwana <i>et al.</i> , 2020)
ZnONPs	Zéolithe	Les NCs de zéolite/ZnO ont été obtenus en préparant cinq solutions différentes de Zn(acétate) ₂ ·2H ₂ O avec différents pourcentages en poids de ZnO : Zéolite (1, 3, 5 et 8 % en poids) dans 100 mL d'eau déionisée	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus Subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Salmonella choleraesuis</i>	Méthode de diffusion sur disque d'agar	(Alswat <i>et al.</i> , 2016)
CuONPs	Montmorillonite-chitosane (MMT-Cs)	MMT et CuSO ₄ ·5H ₂ O dans un rapport de 1:1 (p/p) ont été mélangés pendant 20, 90 min. Ensuite, 2 g de chitosane ont été ajoutés à la solution	<i>S.aureus</i> , <i>B.cereus</i> , <i>E.coli</i> et <i>P.aeruginosa</i> .	Méthode de comptage des colonies cellulaires viables (UFC)	(Nouri <i>et al.</i> , 2018)

1.5 Approche pour la synthèse d'agents antibactériens chargés en métal

Ainsi, au cours des dernières années, de nombreuses recherches se sont concentrées sur la stabilisation des MNP et des cations métalliques par des biomatériaux organiques et inorganiques afin d'améliorer leurs propriétés antimicrobiennes (Carbone *et al.*, 2016; García-Ivars *et al.*, 2019; Karbowniczek *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2020). Cette stabilisation est connue pour être favorisée par différents types d'interactions entre les métaux ou les ions métalliques, impliquant des interactions LAB, des interactions électrostatiques et/ou des forces d'attraction hydrophobes/hydrophiles. Trois stratégies différentes ont été développées pour l'incorporation et l'enfermement des MNP et des cations Mn^{+} dans une matrice poreuse portant des fonctions chimiques interactives (Godoy-Gallardo *et al.*, 2021). Cette thèse de doctorat s'est concentrée sur la stabilisation des cations métalliques et du métal zéro par l'utilisation de supports solides tels que des aluminosilicates microporeux naturels et lamellaires comme la montmorillonite sodique (NaMt) et des biopolymères carboxylés comme la carboxyméthylcellulose (CMC) et la carboxyméthylamidon (CMS). Dans les deux cas, la dispersion et la stabilisation des MNP et des cations Mn^{+} reposent principalement sur des interactions optimales acide-base de Lewis (LAB). Des LAB modérées doivent être suffisamment fortes pour empêcher la réaggrégation et la réoxydation des MNP, mais également suffisamment faibles pour permettre une libération facile des MNP dans les milieux infectés.

1.5.1 Matrices hôtes à base d'argile

Chaque lamelle de montmorillonite est constituée de deux couches tétraédriques de silice sandwichant une couche octaédrique d'alumine (**Schéma 1.3 a**). Dans les milieux aqueux, NaMt gonfle fortement en raison de la diffusion des molécules d'eau adsorbées dans l'espace interlamellaire. Cela induit souvent un affaiblissement plus ou moins prononcé des forces d'attraction Lamelle : Lamelle, allant jusqu'à une délamination et une exfoliation totales en fonction du cation échangeable compensant la charge (Eirish et Tret'yakova, 1970; Lou et Huang, 1988).

Une caractéristique bénéfique de la NaMt dans la synthèse d'agents antimicrobiens chargés en métal réside dans la capacité d'échange cationique (CEC) résultant de la substitution somorphique des octaèdres centrés de Al^{3+} par des octaèdres centrés de Mg^{2+} (Bergaya et Lagaly, 2013). Ici, Na^{+} peut facilement être échangé contre des cations tels que Ag^{+} et Cu^{2+} .

Une fois incorporés à la surface du minéral d'argile, Ag^+ et Cu^{2+} peuvent afficher leur activité antibactérienne intrinsèque sous forme de cations ou être convertis en MNP. Tant les MNP que les cations Mn^+ peuvent être dispersés sur la surface du minéral d'argile grâce à la présence de sites chélatants, à savoir les atomes d'oxygène du réseau des groupes siloxy (-S-O-Si-), les atomes d'oxygène terminaux appartenant aux groupes hydroxyles, aussi bien dans les plans qu'en dehors des plans des silanols (-S-O-H) (**Schéma 1.3 b**).

Ces atomes d'oxygène peuvent agir comme des bases de Lewis (donneurs de paires d'électrons), exhibant des interactions LAB par leurs paires d'électrons avec les MNP et les cations métalliques qui agissent comme des acides de Lewis (accepteurs de paires d'électrons). (Malla *et al.*, 1991; Noori *et al.*, 2021). La capacité de dispersion de l'argile a été améliorée par l'incorporation de groupes organiques fonctionnalisés par OH, tels que les dendrimères polyols Boltorn. (Noori *et al.*, 2022).

1.5.2 Matrices hôtes à base de biopolymères

Les polysaccharides fonctionnalisés tels que le carboxyméthylamidon (CMS) et la carboxyméthylcellulose (CMC) peuvent également être utilisés dans la synthèse d'agents antimicrobiens chargés en métal efficaces. La CMC et le CMS (**Schéma 1.4**) sont des polymères peu coûteux, facilement modifiables, non toxiques, et hautement biodégradables et biocompatibles. Ils se composent d'une chaîne de monomères de D-glucose qui se lient entre eux par des liaisons glycosidiques β -1,4 ou α -1,4 respectivement (Pooresmaeil et Namazi, 2021; Stojanović *et al.*, 2000; Su *et al.*, 2010).

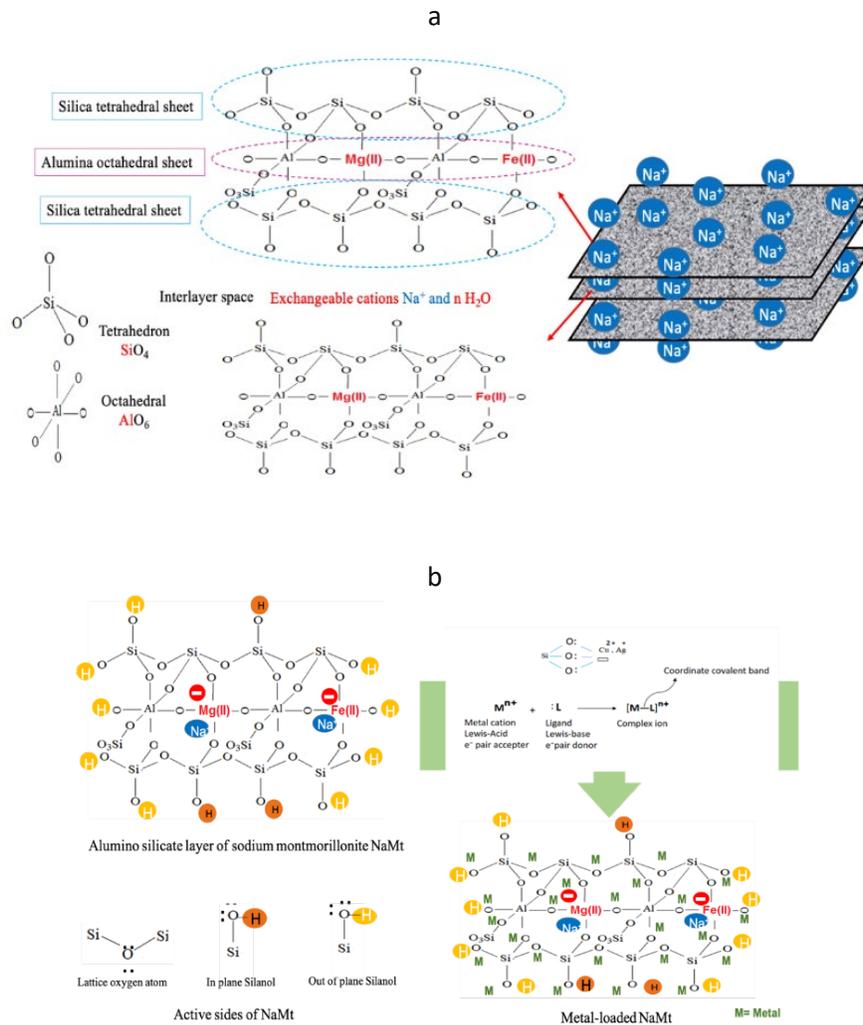
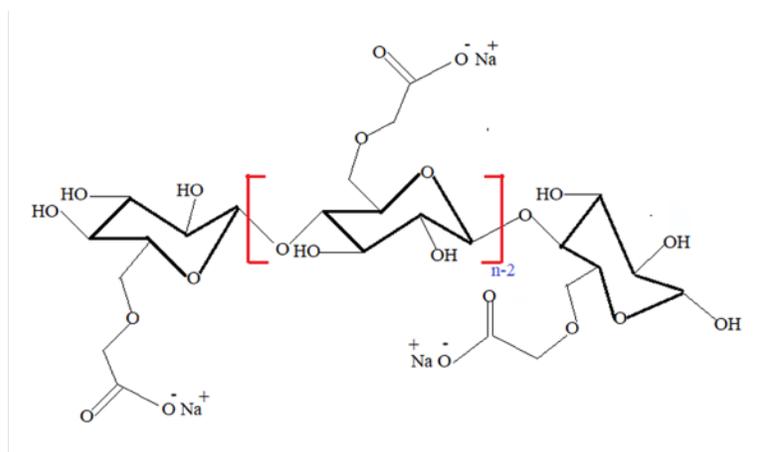
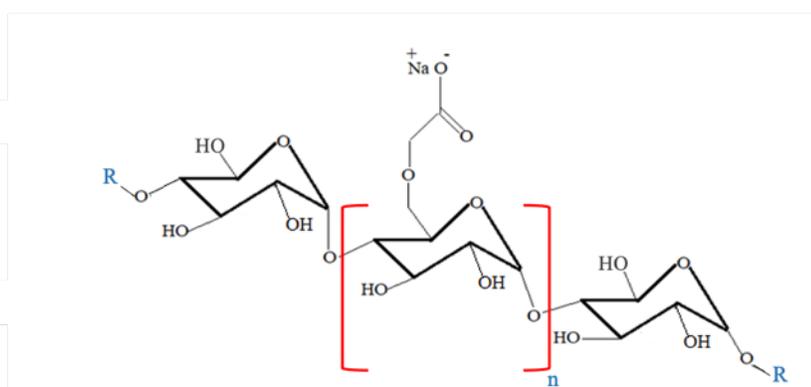


Schéma 1.3. Structure chimique de la NaMt (a), dispersion des métaux dans les couches d'aluminosilicate de la NaMt (b).

La fonctionnalisation chimique de la CMC et du CMS par des groupes CH_2COOH est un facteur clé pour améliorer leur capacité de rétention des métaux. Cette propriété dépend fortement de leur degré de substitution (DS), qui représente le nombre de groupes carboxyméthyl (CM) par unité de glucose (GU) (Casaburi *et al.*, 2018; Spychaj *et al.*, 2013; Stojanović *et al.*, 2005).



Sodium-Carboxymethyl Cellulose CMC



Sodium-Carboxymethyl Starch CMS

Schéma 1.4. Structure chimique de la CMC et du CMS.

Les groupes CM peuvent capturer et stabiliser les MNP et les cations Mn^{+} par interaction acide-base de Lewis et échange d'ions, respectivement. Par conséquent, augmenter le degré de substitution (DS) des biopolymères est une stratégie judicieuse pour favoriser la dispersion des métaux par réduction de la taille des particules. Les propriétés acides des groupes CM entraînent un comportement dépendant du pH pour la CMC et le CMS, ce qui régule la force de rétention des métaux et la dispersion non seulement des métaux au sein des matrices hôtes, mais aussi de biopolymères chargés en métal dans le milieu aqueux. On s'attend également à ce que cette sensibilité au pH influence l'activité antibactérienne des polymères en contrôlant (1) la surface de contact du biopolymère chargé en métal avec le milieu infecté et (2) la libération du métal, le cas échéant, sur la membrane cellulaire des bactéries et/ou dans le milieu aqueux (Cai *et al.*, 2020; Rao *et al.*, 2018; Tan *et al.*, 2010).

Les biopolymères tels que la CMC et le CMS ont tendance à s'agréger dans les milieux aqueux en raison des interactions inévitables entre les ponts H entre leurs groupements fonctionnels carboxyle et hydroxyle (Anirudhan et Parvathy, 2014; Saboktakin *et al.*, 2009). La diminution de la porosité résultante peut être atténuée par l'incorporation de MNP ou de cations métalliques. Tant les formes métalliques zéro-valentes que cationiques sont connues pour se comporter comme des acides de Lewis et peuvent interagir avec des groupes chimiques basiques. Ainsi, une combinaison de minéraux argileux portant des groupes OH avec des biopolymères est une méthode efficace pour éviter la compaction des polymères et améliorer la dispersion et la stabilisation des métaux. L'intercalation de surfaces solides inorganiques telles que la NaMt avec de la CMC ou du CMS, ainsi que la dispersion de MNP ou de cations Mn⁺, ouvre la voie à la synthèse de matériaux inorganiques-organiques chargés en métal (organoclays à base de métal) avec probablement une activité antibactérienne encore plus élevée (**Schéma 1.5 a**). Cela implique la formation de ponts H compétitifs entre les groupes OH de la NaMt et les atomes d'oxygène des polymères, ce qui améliore à la fois la dispersion des métaux au sein de la structure de l'organoclay et la porosité du matériau. (Noori *et al.*, 2022). C'est pourquoi l'utilisation de polymères hyper-ramifiés tels que le polyol Boltorn H20 est particulièrement intéressante dans cette recherche. Cela est dû à la capacité de rétention des métaux appréciable induite par un nombre supplémentaire de groupes -OH terminaux (groupes de fin) qui favorise l'interaction ternaire Métal:Argile:Polymère. L'incorporation de Boltorn H20 avec les lamelles d'argile a été obtenue par interaction de ponts H pour héberger les MNP et les cations métalliques, ce qui a entraîné une activité antibactérienne appréciable (Noori *et al.*, 2020) (**Schéma 1.5. b**). Selon une large littérature, l'incorporation de polyalcools et de polyols pourrait améliorer le caractère hydrophile de la montmorillonite et son affinité pour les métaux (le polyol désigne un composé organique comportant trois groupes hydroxyles ou plus, tandis que le polyalcool est un alcool contenant plusieurs groupes hydroxyles). L'augmentation du nombre de groupes OH dans la matrice hôte s'est avérée être un facteur clé pour la capacité de rétention des métaux (Azzouz *et al.*, 2013b; Bouazizi *et al.*, 2018b; Yan *et al.*, 2020a).

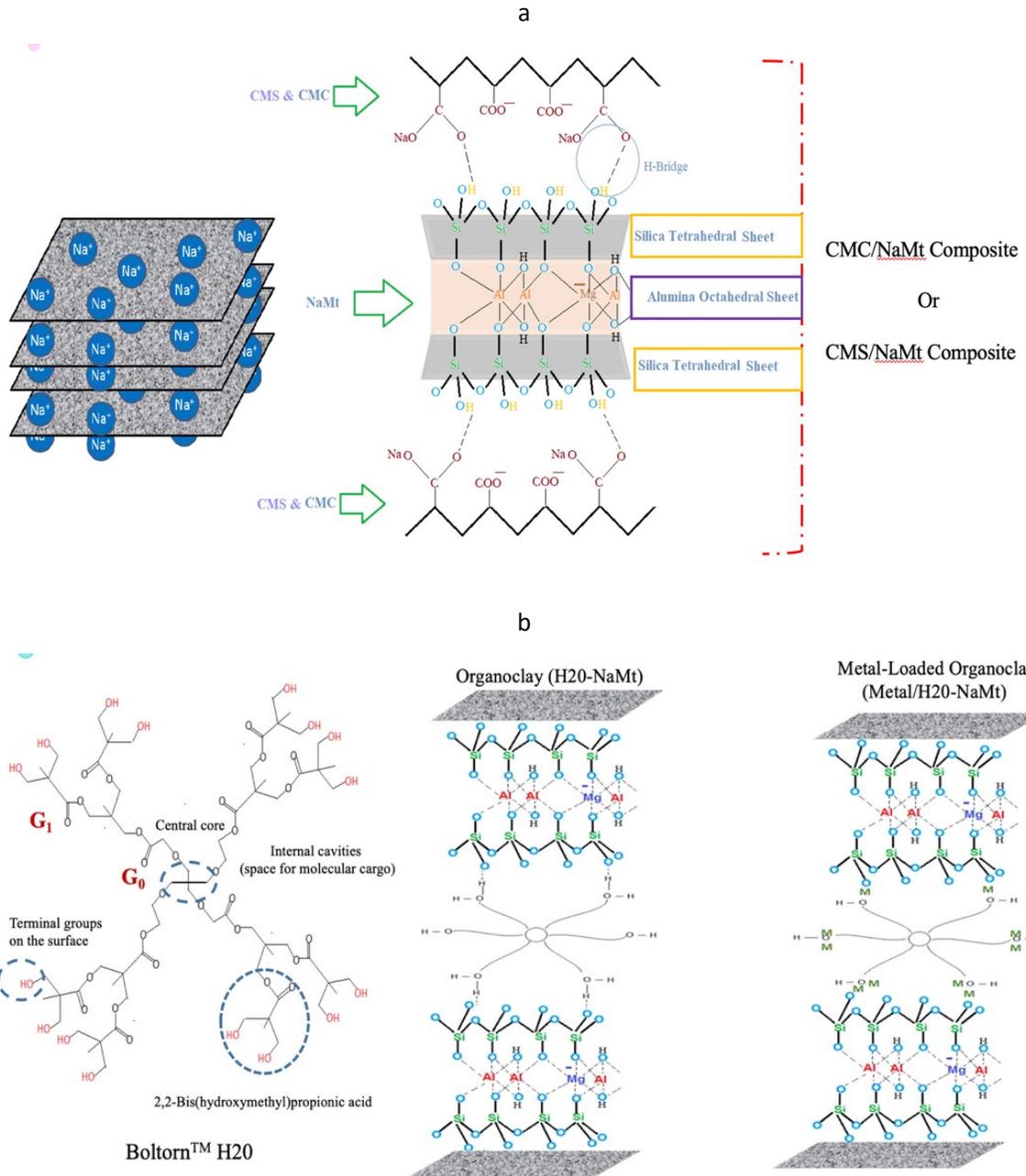


Schéma 1.5. Incorporation de NaMt avec CMC ou CMS (a) et imprégnation de NaMt avec polyol et dispersion des métaux (b).

1.5.3 Concept du compromis optimal entre la libération et la rétention des métaux

Le type de métal, l'état d'oxydation et les caractéristiques chimiques du support solide devraient fortement influencer l'effet biocide. Cela peut être expliqué en termes d'interdépendance entre la force de rétention des métaux par la matrice hôte et l'activité antibactérienne. Des interactions optimales entre les métaux (tant sous forme de MNP que de cations) et les sites actifs des matrices hôtes devraient être bénéfiques pour obtenir de hautes performances antibactériennes (Noori *et al.*, 2022; Noori *et al.*, 2021). C'est l'objectif principal de la présente recherche doctorale. On pense qu'une interaction forte entre le métal et le support réduit la porosité du matériau, l'accessibilité des métaux et la surface de contact avec les milieux contenant des bactéries.

L'utilisation de minéraux argileux pour atténuer l'interaction Biopolymère:Métal peut permettre de favoriser la diffusion du métal avec une libération successive et, par la suite, l'activité antibactérienne. Pour fournir des preuves en faveur de ce concept, l'objectif principal de la présente thèse de doctorat réside dans la compréhension de la manière dont l'activité antibactérienne peut être optimisée en contrôlant simultanément un compromis entre la dispersion du matériau dans les milieux aqueux et la force de rétention des métaux ainsi que leur dispersion à l'intérieur des matrices hôtes.

CHAPTER 2

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Ce chapitre présente un aperçu détaillé des matériaux et méthodes utilisés pour la préparation, la caractérisation et les tests biologiques des matériaux hôtes chargés en métal, tant dans l'article 1 (chapitre 3) que dans l'article 2 (chapitre 4).

2.1 Liste des produits chimiques et matériaux employés dans les deux étapes de cette recherche

Article 1

Tous les produits chimiques étaient de qualité analytique et utilisés sans purification préalable. La bentonite brute (Sigma-Aldrich, Oakville, Canada), le chlorure de sodium (NaCl) (ACP chemicals, Montréal, Canada), l'acétate de cuivre ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) (Fisher chemicals, Ottawa, Canada), le nitrate d'argent (AgNO_3) (Fisher chemicals), le borohydrure de sodium 98 % (NaBH_4) (Acros organics, Ottawa, Canada), le nitrate de cuivre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) (Anachemia VWR company, Montréal, Canada), Boltorn H2O (Perstorp, Malmo, Suède), le méthanol absolu (MeOH) (Sigma-Aldrich), le toluène (Sigma-Aldrich) ont été utilisés. Toutes les expériences ont été réalisées dans de l'eau distillée. Le tissu de cellulose (gaze) désigné sous le nom de CT a été acheté auprès du Jean Coutu Group (PJC), Canada.

Article 2

L'acétate de cuivre : $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, le nitrate d'argent : AgNO_3 et le borohydrure de sodium : NaBH_4 98 % ont été fournis par Fisher chemicals, Canada. La carboxyméthylcellulose de sodium (CMC) avec un degré de substitution (DS) de 0.30 groupe carboxyméthyle (CM) par unité de glucose (Gu) et un poids moléculaire de 90 kDa a été achetée chez Sigma Aldrich, Canada. La carboxyméthylamidon de sodium (CMS) avec un DS de 0.167 CM/Gu et un poids moléculaire de 100 kDa a été préparée par traitement de l'amidon à forte amylose (Hylon VII) avec du monochloroacétate de sodium et le degré de substitution des -OH par les groupes carboxyméthyle a été mesuré par titration arrière, comme décrit précédemment (Allothman *et al.*, 2021). Les deux biopolymères (**Fig. S1**) ont été utilisés sans purification supplémentaire. Le milieu de culture Lysogeny Broth et l'agar ont été achetés auprès de Biobasic. (Markham, ON, Canada). Les souches bactériennes *Escherichia coli* DH5Alpha et *Bacillus subtilis* S168 ont été achetées auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). Le Na^+ -montmorillonite (NaMt) utilisé en combinaison

avec les biopolymères étudiés a été préparé par purification d'une bentonite Aldrich selon la même procédure que celle rapportée précédemment (Noori *et al.*, 2021).

2.2 Protocoles de préparation des matériaux chargés en cations et en métaux

Article 1

Le sodium-montmorillonite (NaMt) a été préparé par un échange d'ions combiné avec la purification de la bentonite brute (Aldrich) dans une solution aqueuse de NaCl en utilisant une procédure efficace décrite en détail ailleurs (Azzouz *et al.*, 2010; Thuc *et al.*, 2010).

Un mélange méthanol/eau contenant 200 mg de dendrimère polyol Boltorn H20 (ratio V/V 41.2:58.8) a été préparé sous agitation continue pendant 1 heure à 40-60 °C, ce qui a conduit à la formation de l'argile organique Boltorn H20-NaMt, séchée ensuite toute la nuit dans un dispositif de lyophilisation. De manière similaire, l'imprégnation d'un patch CT de 1×0.5 mm² dans 20 mL d'une solution aqueuse de 0.01 mol/L de Boltorn™H20 à température ambiante (RT) pendant 1 heure a permis la dispersion du dendrimère dans un composite Boltorn H20-CT.

Article 2

Des échantillons de CMC chargés en cations (Cu²⁺/CMC et Ag⁺/CMC) avec une teneur en cation de 1 mmol/g ont été préparés par ajout goutte à goutte de 10 mL de solutions de 0,1 mol/L de Cu(CH₃COO)₂ ou AgNO₃ dans des solutions de CMC (1 g de CMC dans 50 mL d'eau) à 50-60 °C sous agitation pendant 3 heures. L'ajout ultérieur de 4 mL de NaBH₄ 0,5 mol/L sous un flux d'azote pendant 10 min a permis d'obtenir des CMC chargés en nanoparticules métalliques (Cu⁰/CMC ou Ag⁰/CMC) avec une teneur en métal de 1 mmol/g, grâce à la réduction des cations en métal à valence nulle (ZVM).

Étant donné que la valeur DS du CMC est environ deux fois supérieure à celle du CMS (0.3 contre 0.17), des échantillons de CMS chargés en cations (Cu²⁺/CMS et Ag⁺/CMS) avec une teneur réduite en cations de 0.4 mmol/g ont été obtenus en ajoutant 250 mg de CMS à 10 mL de solutions aqueuses de 0.01 mol/L de Cu(CH₃COO)₂ ou AgNO₃ sous agitation vigoureuse à 25 °C pendant 1 heure. Les deux mélanges ont ensuite été soniqués pendant 50 min (500 W, 20 kHz) à température ambiante pour homogénéisation. La

réduction des cations a été réalisée en ajoutant 10 mL de NaBH_4 0.02 mol/L, ce qui a conduit aux CMS chargés en nanoparticules métalliques (Cu^0/CMS et Ag^0/CMS).

L'effet de polarisation des métaux a été étudié via des mesures de potentiel zêta sur divers échantillons de CMC et CMS, préalablement traités avec des solutions aqueuses d'autres cations tels que Zn^{2+} , Co^{2+} , Pt^{2+} , Ti^{2+} et Au^+ .

Des composites biopolymère/argile (CMC/NaMt et CMS/NaMt) avec un ratio massique de 1:1 ont été préparés par dispersion préalable de 0.5 g de CMC ou CMS dans 50 mL d'eau distillée à 50-60 °C, suivie de l'addition progressive d'une suspension aqueuse contenant 0.5 g de NaMt sous agitation vigoureuse pendant 1 heure.

Les composites $\text{Cu}^{2+}/\text{CMC}/\text{NaMt}$, $\text{Ag}^+/\text{CMC}/\text{NaMt}$, $\text{Cu}^{2+}/\text{CMS}/\text{NaMt}$ et $\text{Ag}^+/\text{CMS}/\text{NaMt}$ ont été obtenus par addition de 10 mL de 0.1 mol/L $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ou AgNO_3 à température ambiante sous agitation vigoureuse pendant 3 heures. La réduction consécutive des cations Cu^{2+} ou Ag^+ par l'ajout de 4 mL de NaBH_4 0.5 mol/L a conduit aux matériaux $\text{Cu}^0/\text{CMC}/\text{NaMt}$, $\text{Ag}^0/\text{CMC}/\text{NaMt}$, $\text{Cu}^0/\text{CMS}/\text{NaMt}$ et $\text{Ag}^0/\text{CMS}/\text{NaMt}$. Tous les échantillons ont été lyophilisés et stockés dans un dessiccateur scellé contenant de l'azote sec exempt d' O_2 .

2.2.1 Dispersion des métaux sur les supports composites

Article 1

Une quantité de 0.2 g de NaMt ou de Boltorn H20-NaMt a été lentement mélangée dans un bécher de 50 mL contenant une solution aqueuse de 15 mL (33.33 % et 66.66 % toluène/eau) avec une concentration en sel métallique de 0.12 mol/L de $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ou AgNO_3 sous agitation vigoureuse pendant 2 heures. Pour comparaison, certains tests antibactériens ont été réalisés uniquement avec les matériaux résultants $\text{Cu}^{2+}/\text{NaMt}@H20$ et $\text{Ag}^+/\text{NaMt}@H20$.

Les suspensions d'argile organique chargées en cations ont été traitées par l'ajout goutte à goutte de 10 mL d'une solution aqueuse de NaBH_4 (0.2 mol/L) pendant 15 min sous flux d'azote à température ambiante. Les minéraux argileux chargés en métal zéro (Cu^0/NaMt et Ag^0/NaMt) et les argiles organiques ($\text{Cu}^0/\text{H20-NaMt}$ et $\text{Ag}^0/\text{H20-NaMt}$) ont été lavés à plusieurs reprises avec de l'eau distillée pour éliminer l'excès de sels de Cu^{2+} et Ag^+ , puis séchés toute la nuit.

Par ailleurs, des échantillons de H2O-CT chargés en métal ont été obtenus en dissolvant 0.8 g de AgNO_3 ou 1.24 g de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ dans 30 mL d'eau distillée, puis en ajoutant respectivement 1 g et 1.5 g de NaBH_4 . La réduction des ions Cu^{2+} et Ag^+ en nanoparticules métalliques Cu^0 et Ag^0 (AgNP et CuNP) a été réalisée sous agitation pendant 5-6 heures à température ambiante, sous flux d'azote pour prévenir l'oxydation des nanoparticules métalliques (MNP). Les échantillons obtenus $\text{Ag}^0/\text{H}_2\text{O-CT}$ et $\text{Cu}^0/\text{H}_2\text{O-CT}$ ont été séchés toute la nuit à température ambiante dans un milieu scellé avec de l'azote sec exempt d' O_2 et des pastilles de NaOH .

Article 2

Les effets de la dispersion des métaux sur les biopolymères et leurs composites NaMt, ainsi que la distribution des tailles de matériaux en suspension aqueuse, ont été évalués par des mesures de potentiel zêta (BrookHaven Instrument Corp., ZetaPlus / BI-PALS) et de diffusion dynamique de la lumière (DLS) (Malvern, Zetasizer Nano S90).

Une meilleure compréhension de l'incorporation des nanoparticules métalliques (MNP) a été obtenue par microscopie électronique en transmission (MET) et spectroscopie de fluorescence X à dispersion d'énergie (ED-XRF) à l'aide de l'équipement JEOL JEM-2100F (tension d'accélération de 200 kV) couplé à un fluorimètre EDAX.

Des analyses supplémentaires ont été réalisées par spectroscopie de photoélectrons X (XPS, Thermo Scientific K-Alpha) sur des spots de 400 μm à l'aide d'une source monochromatique de rayons X en aluminium- $\text{K}\alpha$ (260 watts en mode énergie de passage constante, étapes de 200 eV et 1 eV). Des analyses haute résolution (Ag3d, C1s, O1s, Cu2p) ont été effectuées avec une énergie de passage constante de 50 eV et des pas de 0.1 eV. Les données XPS ont été traitées avec le logiciel Thermo-Advantage. Une déconvolution a été appliquée à tous les signaux XPS symétriques et asymétriques afin d'identifier d'éventuels pics superposés pour les éléments clés interagissant avec les cations et les métaux à valence nulle (**Fig. S2-S3**).

2.3 Introduction aux techniques instrumentales et méthodes analytiques pour la caractérisation des matériaux synthétisés

Article 1

La basicité et le caractère hydrophile des échantillons ont été évalués en termes de capacité de rétention du dioxyde de carbone (CO₂) par désorption programmée en température (TPD) et de teneur en humidité par analyse thermogravimétrique (TGA) (Arus *et al.*, 2018; Azzouz *et al.*, 2013a; Azzouz *et al.*, 2010; Azzouz *et al.*, 2006; Azzouz *et al.*, 2013b; Azzouz *et al.*, 2013c; Azzouz *et al.*, 2013d; Beltrao-Nunes *et al.*, 2019; Ghomari *et al.*, 2015; Ghomari *et al.*, 2017; Nousir *et al.*, 2019; Nousir *et al.*, 2013a; Nousir *et al.*, 2013b; Nousir *et al.*, 2014; Noussir *et al.*, 2017; Terrab *et al.*, 2016)

À cette fin, 45-50 mg de chaque échantillon de matériau ont été soumis à une saturation préalable avec du CO₂ sec et exempt d'O₂, puis chauffés à un taux de 5 °C.min⁻¹ de 20 °C jusqu'à un seuil de température déterminé, sous un flux d'azote de 5 mL.min⁻¹. Ce seuil de température a été évalué comme plage de stabilité par analyse thermogravimétrique (TGA) à l'aide de l'équipement TA Instruments TGA (Q500) /Discovery MS. Pour cela, des échantillons de 4 à 7 mg ont été chauffés dans des creusets en platine (Pt) sur une plage de température de 20 à 500 °C, à un taux de chauffage de 10 °C.min⁻¹ sous un flux d'argon sec de 30 mL.min⁻¹.

La morphologie des particules a été analysée par microscopie électronique à balayage (MEB) à l'aide de l'instrument Jeol JCM-6000 PLUS sur des échantillons sous forme de poudre, déposés sur des rubans adhésifs conducteurs en carbone. Une tension de 1.0 kV a été appliquée pour les échantillons non conducteurs et de 15 kV pour les matériaux contenant du métal (conducteurs).

Une analyse plus approfondie de l'incorporation des nanoparticules métalliques (MNP) a été réalisée par microscopie électronique en transmission (MET) et par fluorescence X à dispersion d'énergie (ED-XRF) à l'aide de l'équipement JEOL JEM-2100F (tension d'accélération de 200 kV) couplé à un fluorimètre EDAX. Les échantillons ont été préalablement dispersés dans du méthanol et séchés sur des grilles de nickel revêtues de carbone perforé. Les points d'analyse ED-XRF ont été notés eds1 et eds2, en référence à l'acronyme Energy-Dispersive Spectroscopy (EDS).

Des analyses supplémentaires ont été réalisées par diffraction des rayons X (DRX) dans une plage de 2-Theta de 10 à 80 degrés (appareil XRD D8 Advance avec rayonnement CuK α à 1.5406 Å), ainsi que par

spectroscopie de photoélectrons X (XPS) sur des zones de 7800 × 300 μm (instrument AXIS-ULTRA, KRATOS Analytical Ltd, UK) avec une source de rayons X monochromatique à base d'aluminium (260 watts en mode énergie de passage constante, avec des étapes de 160 eV et 1 eV).

Article 2

Les effets de la dispersion des métaux dans les biopolymères et leurs composites NaMt sur le comportement des suspensions en milieu aqueux ont été évalués en termes de charge de surface et de taille moyenne des particules en corrélation avec le pH induit. Ces mesures ont été réalisées en triplicat par potentiel zêta (BrookHaven Instrument Corp., ZetaPlus / BI-PALS) et par diffusion dynamique de la lumière (DLS) (Malvern, Zetasizer Nano S90).

Une étude plus approfondie de l'incorporation des nanoparticules métalliques (MNP) a été menée par microscopie électronique en transmission (MET) et par fluorescence X à dispersion d'énergie (ED-XRF) à l'aide de l'équipement JEOL JEM-2100F (tension d'accélération de 200 kV) couplé à un fluorimètre EDAX. Les échantillons ont été préalablement dispersés dans du méthanol et séchés sur des grilles de nickel revêtues de carbone perforé. Les points d'analyse ED-XRF ont été notés eds1 et eds2.

Des analyses supplémentaires ont été effectuées par spectroscopie de photoélectrons X (XPS, Thermo Scientific K-Alpha) sur des zones de 400 μm avec une source de rayons X monochromatique en aluminium- $\kappa\alpha$ (260 watts en mode énergie de passage constante, avec des étapes de 200 eV et 1 eV). Des scans haute résolution (Ag3d, C1s, O1s, Cu2p) ont été réalisés avec une énergie de passage constante de 50 eV et des pas de 0,1 eV. Les données XPS ont été traitées à l'aide du logiciel Thermo Advantage. Une déconvolution a été appliquée à tous les signaux XPS symétriques et asymétriques afin de détecter d'éventuels pics superposés pour les éléments clés interagissant avec les cations et les métaux à valence nulle (**Fig. S2-S5**).

2.4 Stratégie utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne en termes de diamètre de zone d'inhibition et de taux de viabilité

Article 1

Le comportement antimicrobien des échantillons préparés a été évalué par la diffusion et la mesure des zones d'inhibition vis-à-vis des souches bactériennes *Bacillus subtilis* 168 et *Escherichia coli* DH5α. Des structures pariétales et des comportements similaires ont été signalés entre les souches pathogènes et non pathogènes de bactéries Gram+ (Grün et Dirr, 1967; Lorenz *et al.*, 2020). Les souches non pathogènes

semblent également influencer l'homéostasie intestinale par des réponses anti-inflammatoires et une inflammation modérée (Behrouzi *et al.*, 2018).

Le comportement antimicrobien des échantillons préparés a été évalué par des tests de diffusion et de zone d'inhibition contre les souches bactériennes *Bacillus subtilis* 168 et *Escherichia coli* DH5 α . Des structures et des comportements de paroi presque similaires ont été rapportés entre les souches pathogènes et non pathogènes de Gram+, ce qui justifie leur utilisation ici pour évaluer la toxicité des nanoparticules métalliques (MNP) sur l'intégrité bactérienne et fournir une preuve de concept du rôle clé de l'interaction métal-matrice sur le comportement antibactérien.

Les ions cuivre et argent ont la capacité de tuer les bactéries en détruisant leurs parois et membranes, en présence de souches pathogènes et non pathogènes.

Le test est une méthode semi-quantitative où 5 mg de matériaux argileux chargés en métal ou des échantillons de CT de 1x0.5 mm² ont été inoculés dans des boîtes de Petri pré-ensemencées avec environ 74 x 10⁶ unités formant colonie (CFU/mL) de chaque souche bactérienne, avec une densité optique cellulaire de 0.5 à 600 nm. Des contrôles négatifs ont été inclus dans chaque test. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicat, impliquant trois cultures indépendantes avec au moins deux répétitions techniques pour chaque culture.

Après 24 heures d'incubation à 37 °C, l'activité antibactérienne a été évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (IZD). L'effet de la quantité de matériau sur les valeurs d'IZD a été étudié en inoculant 1 à 9 mg de matériaux argileux chargés en métal dans les séries de boîtes de Petri pré-ensemencées.

Article 2

Les souches *Bacillus subtilis* S168 et *Escherichia coli* DH5 α ont été cultivées dans du bouillon Lysogeny Broth (LB) pendant une nuit dans un agitateur-incubateur à 37 °C, 100 rpm.

Le comportement antimicrobien des échantillons préparés a d'abord été évalué en termes de diamètre de la zone d'inhibition (IZD) sur les deux souches bactériennes dans des boîtes de Petri de 10 cm de diamètre. Ces dernières ont été pré-inoculées avec environ 74 x 10⁶ CFU/mL de chaque souche, avec une densité

optique à 600 nm (OD600) de 0.5, mesurée par un spectrophotomètre UV-visible (Biochrom Libra S50 UV/VIS Instrument).

Un test préliminaire a été réalisé en déposant directement 1 g de chaque échantillon lyophilisé au centre des boîtes de Petri préparées. Toutes les expériences ont été réalisées en triplicat à 37 °C pendant 24 h.

L'influence de différentes variables (pH et teneur en métal) a été évaluée en imprégnant des disques de papier buvard avec une suspension aqueuse contenant des quantités similaires de biopolymère chargé en cations métalliques, mais avec différentes teneurs en métal (0.1 ; 0.2 ; 0.5 ; 1.0 ; 2.0 et 5.0 mmol/g de biopolymère).

Un autre ensemble d'échantillons a été préparé en mélangeant la même quantité de biopolymère chargé en métal avec une teneur métallique identique (1 mmol/g de biopolymère) à différents pH (1, 3, 5, 7 et 9), ajustés avec des solutions aqueuses de HCl ou NaOH. Les disques ont été placés sur l'agar pré-inoculé et incubés pendant 24 h à 37 °C.

Des contrôles négatifs ont été réalisés pour chaque test. Comme les zones d'inhibition (IZ) n'étaient pas circulaires, leur surface a été estimée à l'aide du logiciel ImageJ avec une échelle de 10 cm (**Fig. S4**). Le diamètre moyen d'IZD et l'écart-type ont été évalués par des mesures graphiques en triplicat.

Une évaluation supplémentaire de la capacité antibactérienne a été effectuée. Concrètement, les tests ont été réalisés en utilisant des matériaux à base de CMC chargés en argent et en cuivre, avec *Escherichia coli* comme modèle bactérien dans du bouillon LB à une OD600 nm de 0.5.

Les nanoparticules ont été ajoutées à la suspension de *E. coli* à deux concentrations différentes (0.1 et 1 mg/mL) et incubées à 37 °C, 180 rpm pendant 24 h.

Durant cette période, des échantillons ont été prélevés après 3, 6, 9 et 24 h. Ensuite, des dilutions en série ont été effectuées, et 0,1 mL a été étalé sur des boîtes de Petri contenant de l'agar LBA. Les plaques ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 h, puis les unités formant colonie (CFU) ont été comptées.

CHAPTER 3

APERÇUS SUR LE RÔLE DE LA RÉTENTION DES MÉTAUX DANS LE COMPORTEMENT ANTIBACTÉRIEN DES NANOPARTICULES DE CUIVRE ET D'ARGENT SUPPORTÉES PAR LA MONTMORILLONITE ET LES TISSUS CELLULOSIQUES

Farzaneh Noori¹, Armelle Tchoumi Neree², Meriem Megoura², Mircea Alexandru Mateescu^{12*}, Abdelkrim
Azzouz¹

¹ Département de chimie, Nanoqam et CERMO-FC, Université du Québec à Montréal, QC, H3C 3P8,
Canada.

Auteurs correspondants :

Pr. Abdelkrim AZZOUZ, E-mail : azzouz.a@uqam.ca ; Tél : 1 514 987 3000 Poste 4119, Fax : 1 514 987
4054

Pr. Mircea Alexandru MATEESCU, E-mail : mateescu.m-alexandru@uqam.ca ; Tél : 1 514 987-4319

Contributions des auteurs

Farzaneh Noori : Investigation, traitement des données, Rédaction – préparation du brouillon original.

Armelle Tchoumi Neree : Investigation, traitement des données.

Meriem Megoura : Investigation, traitement des données.

Mircea Alexandru Mateescu : Supervision, Conceptualisation, Méthodologie, Rédaction – révision et
édition.

Abdelkrim Azzouz : Supervision, Conceptualisation, Méthodologie, Rédaction – révision et édition,
auteur correspondant.

Publié par la revue Royal Society of Chemistry Journal (RSC Advances) le 9 juillet 2021.

Résumé

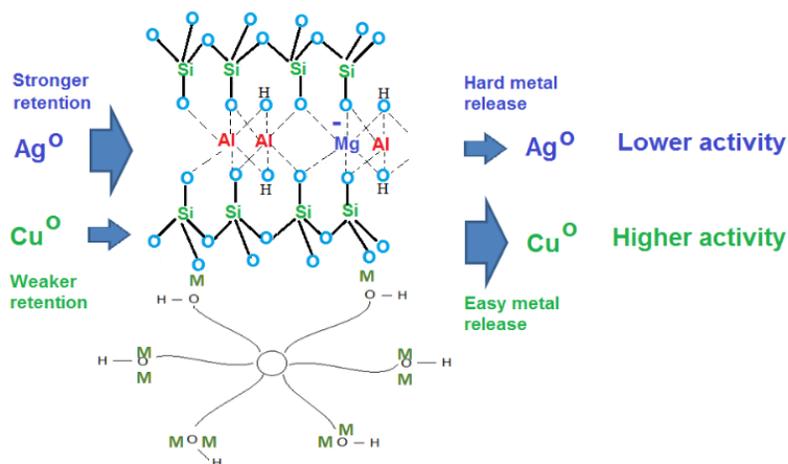
Le rôle de la force de rétention des nanoparticules Cu₀ et Ag₀ sur les propriétés antibactériennes induites par la montmorillonite et les dendrimères polyol supportés sur cellulose a été étudié de manière comparative contre *Escherichia coli* DH5α et *Bacillus subtilis* 168. Une approche innovante utilisant la spectroscopie photoélectronique X, les analyses thermiques et les mesures de charge de surface a permis de corréler les caractéristiques des matrices hôtes avec les différentes activités antibactériennes des nanoparticules Cu₀ et Ag₀ contre les deux souches bactériennes. Les interactions optimales métal-matrice semblent favoriser une dispersion élevée des particules métalliques et des grains de matériau. Une surface de contact améliorée avec le milieu de culture a été expliquée en termes de caractère hydrophile et d'un compromis entre la rétention du métal par les matrices hôtes et sa libération dans le milieu d'imprégnation. Des interactions compétitives acide-base de Lewis semblent se produire entre les nanoparticules métalliques (MNP), la surface solide et le milieu liquide. Ces résultats sont d'une grande importance car ils offrent une meilleure compréhension de l'activité antibactérienne des matériaux chargés en métal. Cela ouvre de prometteuses perspectives pour les fibres végétales et les médicaments supportés par de l'argile pour traiter les infections dermatologiques et gastro-intestinales.

Mots-clés : Organoclayes ; Montmorillonite ; Cellulose ; Nanoparticules métalliques ; Cuivre ; Argent ; Propriétés antibactériennes ; Spectroscopie photoélectronique X ; Désorption thermique programmée.

Points saillants

1. Les matrices polyhydroxyliques chargées en métal ont montré une activité antibactérienne.
2. La cellulose et le minéral argileux agissent comme matrices hôtes pour la dispersion des métaux et des cations.
3. Le polyol a montré une capacité de chélation et de stabilisation pour les métaux et les cations.
4. Les cations métalliques sont plus efficaces que les métaux zéro contre *E. coli* et *B. subtilis*.
5. Les aluminosilicates naturels et les fibres végétales sont des matrices potentielles pour la délivrance de médicaments.

Résumé graphique



3.1 Introduction

L'utilisation excessive des antibiotiques conventionnels a conduit à l'adaptation des bactéries pathogènes et à l'émergence de résistances, ce qui a été identifié comme la cause directe d'une série d'épidémies de maladies infectieuses. (Levy, 1998). Cela est devenu un problème médical majeur qui représente un grand défi à relever (Cragg et Newman, 2013). Certaines nanoparticules métalliques (MNP) peuvent se comporter comme des substituts potentiels des antibiotiques organiques, étant donné la toxicité bien connue des métaux lourds à certaines concentrations dans les milieux aqueux. Les métaux sont reconnus comme des agents perturbateurs du métabolisme, certains d'entre eux étant nuisibles pour les animaux et les humains (Martin et Griswold, 2009). Certains métaux à valence nulle (métaux-zéro), tels que l'argent à l'état de forte dispersion, sont utilisés depuis longtemps pour traiter les infections bactériennes de la peau (Rai *et al.*, 2009). Les nanoparticules d'or, de zinc et de titane ont montré une grande bioactivité. Dans ce contexte, l'argent (Ag) et le cuivre (Cu) sont également des nanoparticules prometteuses qui ont démontré une activité à large spectre contre de nombreuses espèces de bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Carretero, 2002; Čík *et al.*, 2001; Čík *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2011; Dizman *et al.*, 2007; Gupta *et al.*, 1998; Herrera *et al.*, 2000). Une grande activité antibactérienne contre les pathogènes a déjà été rapportée pour les nanoparticules métalliques (MNP) finement dispersées (España *et al.*, 2019) Et plus particulièrement, les nanoparticules d'argent (AgNP), qui semblent générer des radicaux libres inhibant la

croissance microbienne (Kim *et al.*, 2007). Il a été rapporté que des matériaux composites à base de tissu en coton, écologiques et économiques, dopés avec de l'oxyde de cuivre, ont montré une action antibactérienne contre *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli* (Nabil *et al.*, 2018). Des tests préliminaires non publiés ont fourni des éléments suggérant que les matrices polyhydroxyliques chargées en métal agissent comme des agents antibactériens (Noori *et al.*, 2020).

Ces performances ont souvent été expliquées en termes de contribution des propriétés antibactériennes du métal, sans mettre suffisamment l'accent sur la dispersion du métal. Malgré la vaste littérature disponible à ce sujet, l'effet des interactions entre la matrice hôte et les nanoparticules métalliques (MNP) dans les milieux infectés a rarement été abordé jusqu'à présent. De plus, le rôle de la force de rétention du métal dans l'activité antibactérienne n'a jamais été évalué et reste encore à élucider. C'est ce que l'étude actuelle s'efforce de comprendre. Les MNP ont une forte tendance à s'agréger en gros clusters inactifs (Rees *et al.*, 2011).

Jusqu'à présent, une grande variété de matériaux chargés en métal avec des propriétés antibactériennes ont été synthétisés (Biegański *et al.*, 2021). Les formes métalliques à valence nulle et cationiques sont connues pour se comporter comme des acides de Lewis et peuvent interagir avec des groupes chimiques basiques. Les polyols et les polyamines portent des groupes chimiques spécifiques qui leur confèrent des propriétés de chélation et de stabilisation pour les métaux (Crooks *et al.*, 2001). De plus, les interactions inévitables entre les particules par ponts H entraînent souvent une compaction de la structure et une encapsulation accrue du métal, ce qui empêche l'interaction directe du métal avec la zone infectée, réduisant ainsi son activité antibactérienne. La dispersion et la stabilisation des MNP sur des surfaces solides inorganiques et/ou des polymères spécifiquement fonctionnalisés permettent de créer des matériaux inorganiques-organiques chargés en métal, ce qui permet de surmonter cet inconvénient majeur (Hellmann *et al.*, 1998). La synthèse de ces matériaux est devenue l'un des principaux objectifs de la recherche actuelle. Une telle nouvelle classe d'agents antibactériens solides est censée agir comme un réservoir de MNP. Une grande variété de matériaux a été testée, avec plus ou moins de succès, comme matrices hôtes pour les MNP jusqu'à présent, et une littérature abondante a été rapportée dans ce domaine. Néanmoins, l'utilisation de minéraux argileux naturels et modifiés organiquement a à peine été étudiée. Ces matériaux présentent un rapport surface/volume élevé, une stabilité chimique, une résistance thermique, une non-toxicité et une recyclabilité (Bragg et Rainnie, 1974). Parmi ceux-ci, la montmorillonite sodique de type smectite (NaMt) suscite un intérêt particulier en raison de son

abondance naturelle, de son coût réduit, de son inertie chimique, de ses capacités de sorption et de sa grande surface spécifique (Komadel, 2016) Et même de ses effets médicaux bénéfiques (Carretero, 2002; Nadziakiewicz *et al.*, 2019). Ce cristallin aluminosilicate est également connu pour être inoffensif pour la santé humaine et la biodiversité, et a déjà trouvé certaines applications dans les domaines biochimique et biomédical. Des tentatives réussies contre les bactéries ont déjà été réalisées en utilisant d'autres minéraux argileux tels que l'allophane et l'imogolite dopés avec des métaux comme Ag, Cu, Co, Zn (Kim *et al.*, 2007; Stavitskaya *et al.*, 2019; Williams *et al.*, 2011). Des tentatives ont également été réalisées en utilisant des minéraux argileux fonctionnalisés et des fibres végétales pour la dispersion des ions d'argent et de cuivre (Joshi *et al.*, 2015). Les propriétés adsorbantes de la NaMt sont gouvernées par une grande surface spécifique portant des charges nettes négatives et des groupes silanols à la fois dans le plan et hors du plan. Ces derniers sont connus pour agir comme des bases de Lewis et des groupes de chélation efficaces pour les métaux en raison de la paire d'électrons des atomes d'oxygène. Des groupes hydroxyles supplémentaires peuvent être apportés par l'intercalation de l'argile avec des polyols dendritiques (Arus *et al.*, 2016a; Azzouz *et al.*, 2015; Sennour *et al.*, 2017b; Tahir *et al.*, 2017) ou par l'utilisation directe de polymères polyhydroxyliques.

Des perspectives plus approfondies sur l'interaction métal-matrice (IMM) ont été obtenues ici à travers une étude comparative de l'activité antibactérienne de deux métaux (Cuivre et Argent) sous forme cationique et à valence nulle, dispersés sur un minéral argileux, un polymère végétal et leur combinaison contre deux souches bactériennes pathogènes. Diverses techniques d'analyse devraient fournir des données complémentaires pour démontrer le principe selon lequel l'activité antibactérienne nécessite une IMM optimale, c'est-à-dire un compromis judicieux entre une forte rétention du métal par les matrices hôtes, mais une libération paradoxalement facile du métal grâce à une grande surface de contact avec le milieu de culture. Il s'agit d'une approche globale qui devrait permettre de personnaliser les interactions optimales entre les MNP et les matrices en modifiant le type de surface et le nombre de groupes hydroxyles de la partie organique incorporée. Cela devrait fournir des données précieuses pour corrélérer l'influence de la force de rétention du métal et de la vitesse de libération avec l'activité antibactérienne induite. Il s'agit d'un nouveau concept qui ouvre de nouvelles perspectives pour la libération contrôlée de divers substrats médicaux.

3.2 Résultats et discussion

3.2.1

Dispersion des métaux sur des supports non modifiés

La dispersion des nanoparticules de cuivre (CuNP) et d'argent (AgNP) dans des matrices à base de polyol en présence de NaBH_4 a été observée pour la première fois par des changements de couleur, passant du bleu au noir pour la conversion de Cu^{2+} en Cu_0 et de l'incolore au gris clair pour la conversion de Ag^+ en Ag_0 (**Fig. S1**). Un changement de couleur presque similaire a été observé pour la dispersion des MNP dans les échantillons à base de H₂O-CT (**Fig. S2**). L'incorporation du métal a été confirmée par la modification visible de la morphologie de la surface du matériau hôte. Des observations préliminaires par microscopie optique ont révélé une transition de la surface propre et presque douce de la NaMt vers l'apparition de grains sur les surfaces des Cu_0/NaMt et Ag_0/NaMt (**Fig. S3**) et sur les matériaux à base de CT (**Fig. S4**).

L'analyse SEM a révélé une plus grande quantité de grains sphéroïdaux de moins de 100 nm et une quantité plus faible de tiges cristallines de sel métallique résiduel sur les NaMt chargées en MNP (**Fig. 3.1a2-3**) par rapport aux échantillons à base de CT (**Fig. 3.1b2-3**). Les échantillons à base de CT ont montré une dispersion non uniforme des grains sphéroïdaux, suggérant une interaction faible entre CT et MNP. La quantité relativement élevée d'aiguilles de sel d'argent doit provenir de la capacité plus faible de l'argent à subir des processus redox, indiquant une quantité inférieure de Cu°NP incorporée. Ainsi, les matériaux à base d'argent devraient montrer une activité antibactérienne plus faible par rapport à leurs homologues à base de cuivre, comme cela sera examiné plus en détail.

L'apparition de dendrimères métalliques non ancrés sur la surface de CT pourrait être due à une interaction faible entre CT et le dendrimère H₂O, si elle existe (**Fig. 3.2**). L'explication la plus plausible réside dans une carence en groupes OH sur la surface de CT. Cela devrait favoriser plutôt les ponts H [$\text{H}_2\text{O}:\text{H}_2\text{O}$] et les forces d'attraction [$\text{H}_2\text{O}:\text{MNP}$] au détriment des interactions binaires [$\text{CT}:\text{H}_2\text{O}$] et ternaires [$\text{CT}:\text{H}_2\text{O}:\text{CuNP}$] dans l'entrelacement du polymère.

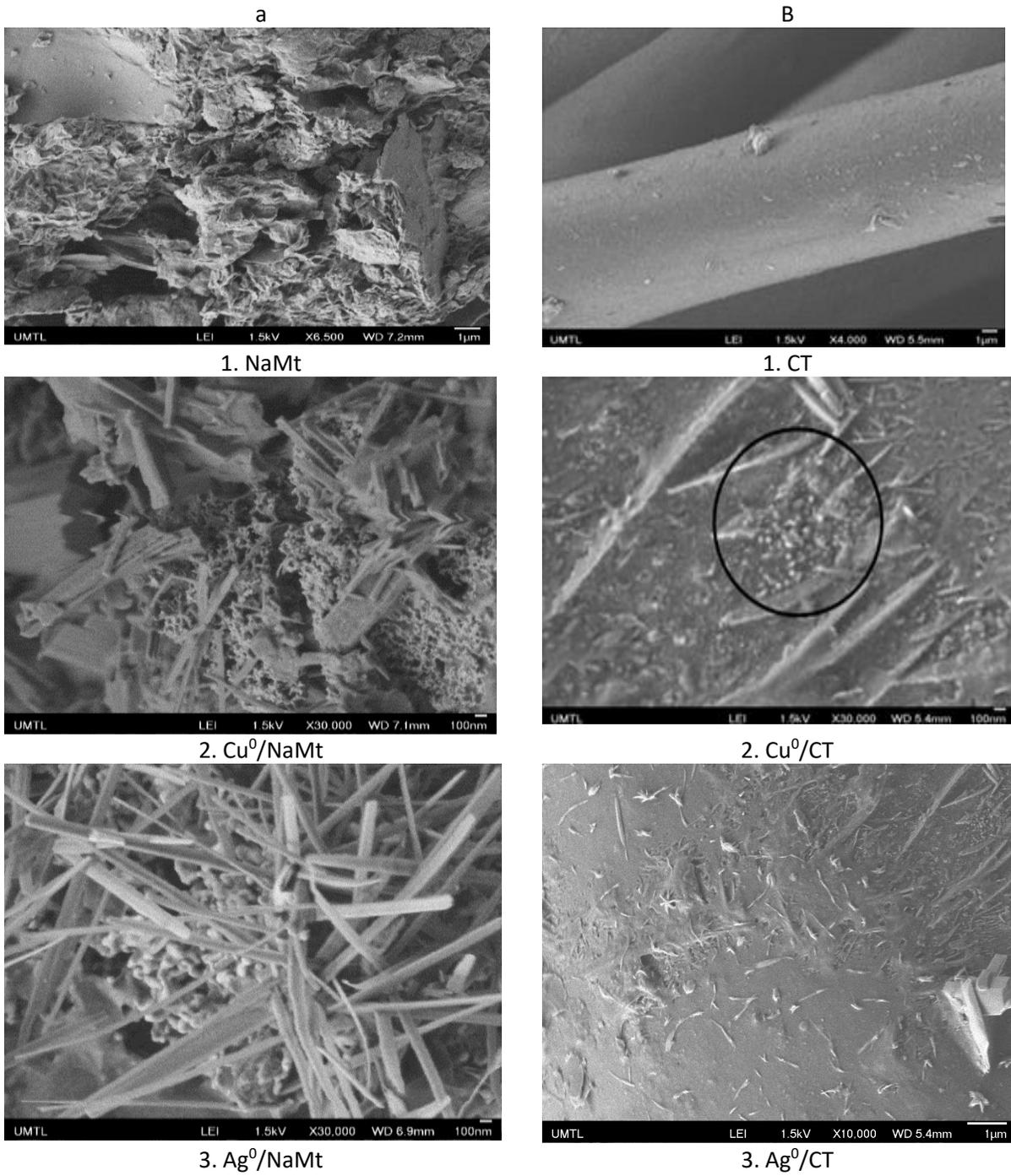


Figure 3.1. Images SEM de NaMt, CT et de leurs homologues chargés en métal

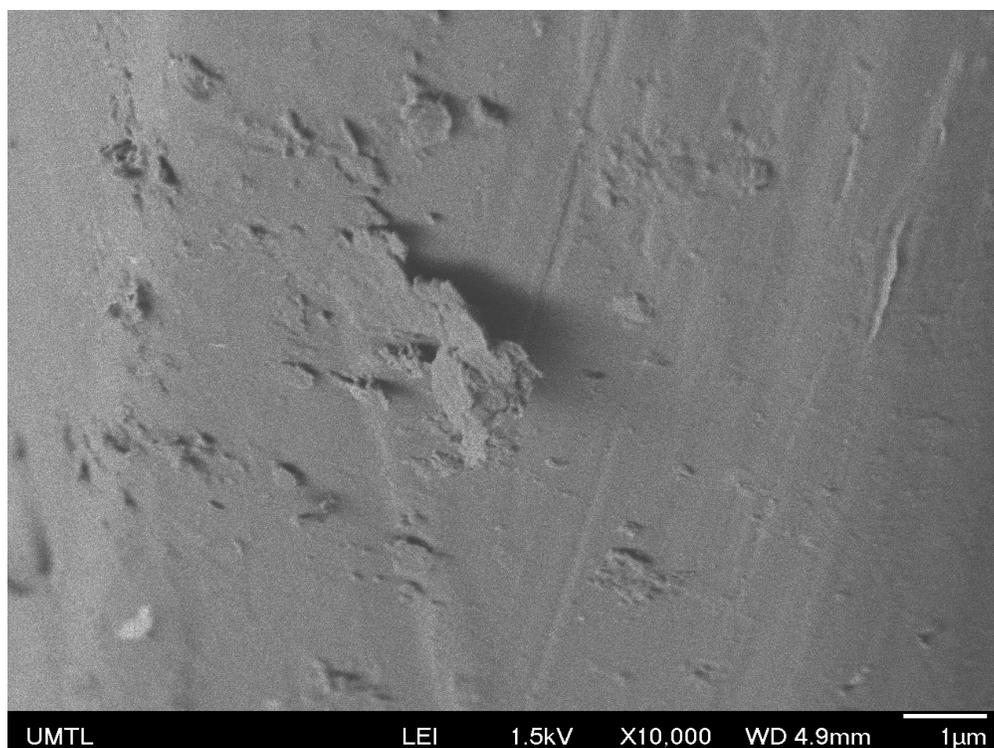


Figure 3.2. Images SEM de Cu°/H2O-CT

3.2.2 Effet de l'incorporation de polyol sur la dispersion des métaux

L'incorporation du dendrimère H2O a induit une disparition totale de ces tiges cristallines sur Cu°/H2O-CT. Leur persistance en faibles quantités sur Ag°/H2O-CT confirme la plus faible quantité de particules d'Ag°. Cet effet bénéfique du dendrimère H2O sur la dispersion des MNP semble atténuer nettement cet inconvénient, probablement grâce à une dispersion préalable du cation métallique avant même la réduction. Cela a été suivi par un emprisonnement instantané et une stabilisation des MNP en formation au sein de l'enchevêtrement du dendrimère, ce qui a conduit à une amélioration prononcée de la dispersion des métaux sur H2O-NaMt (**Fig. 3.3**). Cette capacité accrue de H2O-NaMt à héberger des MNP devrait résulter des contributions des groupes OH à la fois de la surface de l'argile et des branches du dendrimère dans la formation des interactions ternaires [NaMt-polyol-MNP].

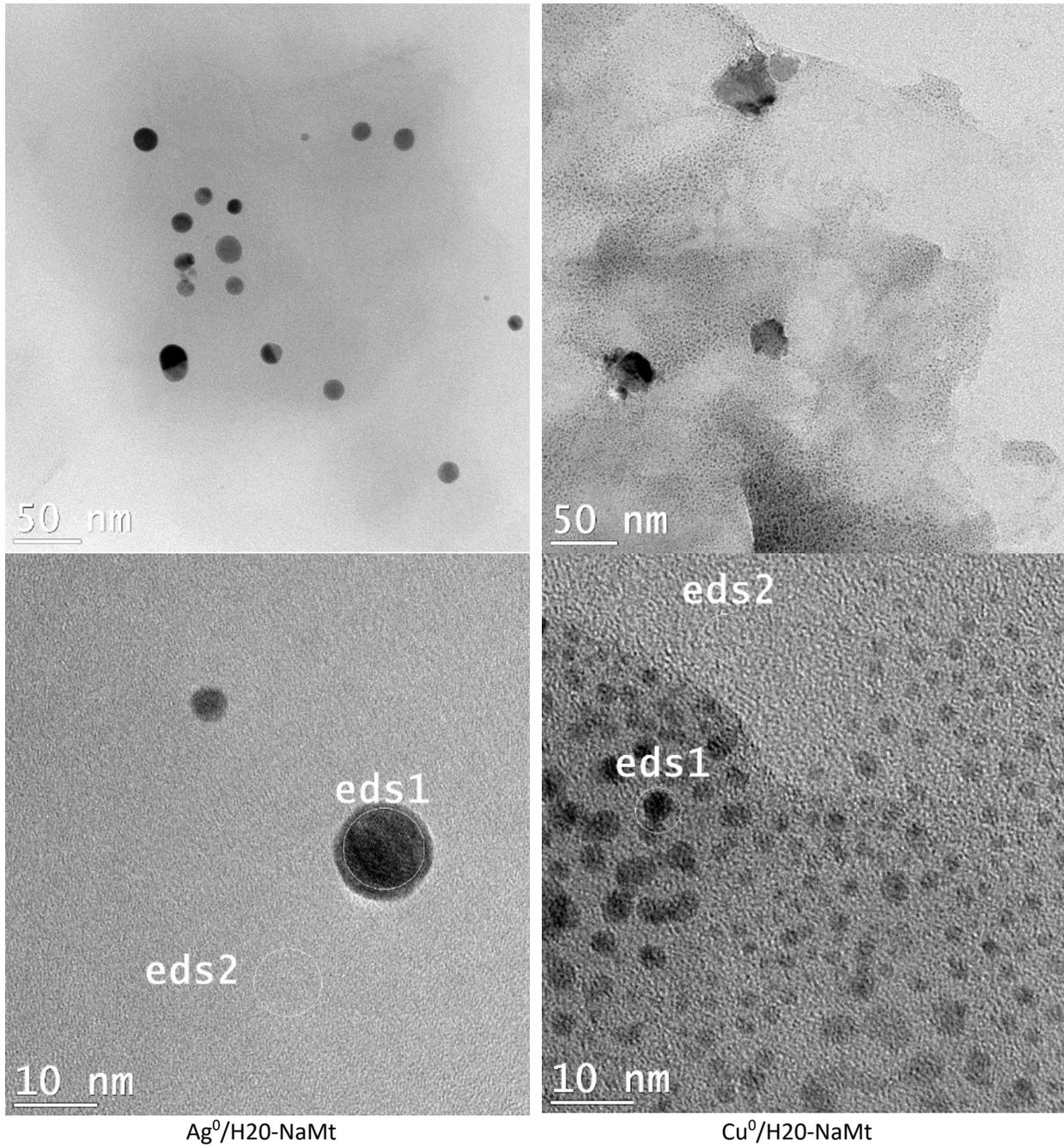


Figure 3.3. Images TEM des composites H₂O-NaMt chargés en métal.

Les points ED-XRF ont été désignés comme eds1 et eds2, conformément aux définitions précédentes. Ce résultat est d'une grande importance, car il apporte la preuve que la présence de groupes OH à la surface du support est une condition essentielle pour une dispersion élevée des MNP.

Une analyse plus approfondie en TEM des échantillons H₂O-NaMt a révélé une dispersion plus importante du cuivre, se traduisant par un diamètre moyen de particules nettement plus faible, n'excédant pas 5,5 nm, contre 30 nm pour l'argent (**Fig. 3.4**). Une analyse détaillée des zones eds2 sur la surface grise, entre les taches noires, par EX-XRF a révélé la présence de particules métalliques sub-nanométriques (MSNP) dans Cu⁰/H₂O-NaMt. Aucune MSNP n'a été détectée dans Ag₀/H₂O-NaMt, confirmant ainsi une capacité de dispersion nettement plus faible pour l'argent par rapport au cuivre.

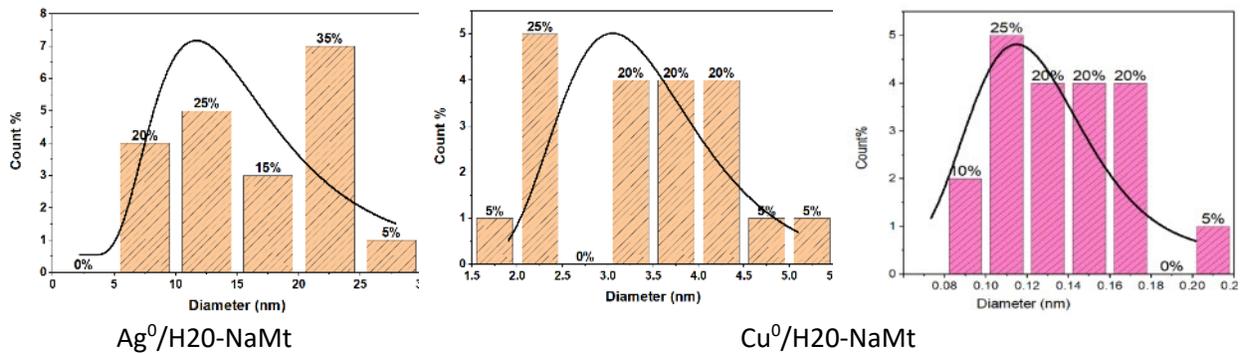


Figure 3.4. Diamètre moyen des particules des composites H₂O-NaMt chargés en métal, évalué par le logiciel Image-J.

Les tentatives d'évaluation de la taille des particules sub-nanométriques de cuivre (CuSNP) à l'aide du logiciel Image-J sur des échantillons vierges exempts de métal et sur Cu-H₂O-NaMt ont abouti à des valeurs de diamètre moyen variant de 0.08 à 0.22 nm. La symétrie cubique à faces centrées (fcc) attendue et le facteur de compacité de 0.74 du Cu⁰ suggèrent l'existence de CuSNP contenant moins de cinq atomes de cuivre, étant donné qu'une particule de 0.5 nm et une particule de 1 nm sont supposées contenir environ 5 et 38 atomes de Cu⁰, respectivement. Les calculs basés sur les mesures ED-XRF effectuées sur deux échantillons de chaque composite chargé en métal (**Fig. S5-S6**) ont donné un rapport O/Cu⁰ variant de 1.4 à 1.7 au niveau du point eds1 et de 3.8 à 9.6 au niveau du point eds2. À titre de comparaison, la valeur moyenne du rapport O/Cu⁰ s'est révélée environ trois fois supérieure à celle du rapport O/Ag⁰, expliquant ainsi l'activité antibactérienne plus élevée de Cu⁰/H₂O-NaMt, malgré sa teneur en Cu₀ plus faible, exprimée en termes de rapport molaire Cu/(Si+Al+O) de 0.18 contre 0.24 pour Ag/(Si+Al+O). Ici, la taille des particules métalliques semble jouer un rôle clé, à condition que la taille des particules du matériau soit suffisante pour assurer un contact de surface optimal avec le milieu aqueux (Sennour *et al.*, 2017b).

3.2.3 Changements de la basicité de surface de l'argile

L'implication des groupes OH dans la stabilisation des métaux est susceptible d'induire des modifications du caractère hydrophile et de la basicité des matériaux hôtes. Une analyse par TPD a révélé la présence d'au moins quatre pics de désorption pour NaMt, correspondant à quatre niveaux de basicité : faible (en dessous de 100 °C), moyenne (entre 100 et 250 °C), moyenne à forte (entre 300 et 450 °C) et forte (entre 450 et 550 °C).

Un léger déplacement du pic de désorption de 60-200 °C vers des températures plus élevées (170-220 °C) a été observé en passant de la bentonite à NaMt (**Fig. S7a**). Cela indique une amélioration et un renforcement modérés de la basicité de surface, probablement dus à l'élimination des phases siliceuses acides (quartz, sable, cristobalite). Cette observation est en accord avec l'augmentation légère de la capacité de rétention du CO₂ (CRC), qui est passée de 2101 à 2261 μmol.g⁻¹ après purification de la bentonite (**Tableau 3.1**).

Tableau 3.1. Capacité de rétention du CO₂ (μmol/g) et perte de poids des matériaux synthétisés.

Material	TPD measurements	TGA measurements**	
	CRC (μmol/g)*	Temperature (°C)	Weight loss (%)
Bentonite	2101	-	-
Residual ash	1752	-	-
NaMt	2261	20-140	1.0-1.2
Cu ⁰ /NaMt	55.5	20-140	0.5-0.6
		140-480	6.6
Ag ⁰ /NaMt	662	20-90	1.9
		90-470	9.4
CT	-	47-130	0-0.1
H2O-CT	38.4	47-185	0.275
Cu ⁰ /CT	-	43-190	8.25
Ag ⁰ /CT	-	47-200	8.74
Cu ⁰ /H2O-CT	14,5	32-200	4.675
Ag ⁰ /H2O-CT	5.6	40-200	8.525

* CRC : Capacité de rétention du CO₂.

**Les analyses TGA ont été réalisées entre 25 et 700 °C pour les échantillons à base d'argile et entre 25 et 200 °C pour les matériaux à base de CT. La perte de poids mesurée pour chaque matériau dans la plage de température la plus basse correspond à la déshydratation et permet d'évaluer la teneur en humidité.

L'élimination des phases siliceuses a été confirmée par la diminution marquée des raies de diffraction des rayons X (XRD) attribuées au quartz (noté Q) après la purification de la bentonite et par la présence des principales raies XRD de la silice cristalline dans le motif de la cendre résiduelle (**Fig. S8**). Le déplacement

de la raie XRD 001 d'une valeur de 2θ de 7.357° pour la bentonite à 9.142° pour la NaMt indique une réduction de l'espacement interfoliaire. Cette réduction doit résulter du remplacement des particules d'impuretés volumineuses et des divers cations par Na^+ . Cette hypothèse est confirmée par l'affinement et l'augmentation de l'intensité des principales raies XRD de la NaMt, caractéristique des formes homo-ioniques de la montmorillonite et des arrangements presque parallèles parfaits des feuillets d'argile.

Ce phénomène explique en partie la plus faible teneur en humidité observée pour la NaMt par rapport à la bentonite, étant donné que le cation Na^+ possède un pouvoir polarisant plus faible et, par conséquent, une moindre capacité à attirer les molécules d'eau par rapport aux cations multivalents.

L'incorporation des nanoparticules métalliques (MNP) dans la NaMt a entraîné une diminution significative de la capacité de rétention du CO_2 (CRC), passant de $2261 \mu\text{mol/g}$ à $662 \mu\text{mol/g}$ pour $\text{Ag}^\circ/\text{NaMt}$ et à $55.5 \mu\text{mol/g}$ pour $\text{Cu}^\circ/\text{NaMt}$, fournissant ainsi des preuves claires de l'existence d'interactions compétitives entre le CO_2 et les métaux avec la surface de l'argile. Ici, la dispersion des MNP doit impliquer au moins deux types d'interactions : certaines interactions des MNP se produisent avec les atomes d'oxygène du réseau ($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$, présentant une forte basicité de Lewis), tandis que d'autres doivent avoir lieu avec les groupements OH des silanols dits "dans le plan" et des groupements Si-OH dits "hors plan" présents à la surface (Sulpizi *et al.*, 2012).

3.2.4 Changements de la basicité de surface du CT

Les échantillons à base de cellulose tissue (CT) ont montré une basicité de surface beaucoup plus faible que les matériaux argileux. Les mesures de TPD (Thermal Programmed Desorption) sur le CT non traité n'ont révélé aucun pic de désorption de CO_2 dans la plage de température de 20 à 100°C . L'incorporation de polyol a induit un changement marqué dans le profil de TPD, reflété par l'apparition d'un large pic de désorption entre 20 et 110°C (**Fig. S7b**). Cela traduit l'apparition de sites d'adsorption faiblement basiques, probablement des groupes OH amphotères à légèrement basiques appartenant au dendrimère polyol inséré. Comme prévu, les groupes OH ont fortement diminué après l'insertion des CuNP et ont totalement disparu après l'incorporation des AgNP. Cela confirme l'interaction entre $[-\text{HO}:\text{MNP}]$. Cette diminution prononcée des groupes OH témoigne d'une interaction plus forte entre $[\text{AgNP}:\text{OH}-]$ et d'un emprisonnement plus important par rapport aux CuNP, ce qui permet de prédire une libération moins intense de Ag° et une activité antibactérienne plus faible par rapport aux CuNP.

3.2.5 Changements du caractère hydrophile

Le caractère hydrophile est supposé favoriser la dispersion du matériau dans un milieu aqueux, tandis que l'activité antibactérienne doit dépendre fortement de l'affinité du matériau avec le milieu aqueux où les bactéries se développent naturellement. Cette affinité pour l'eau peut être évaluée par analyse TGA (Fu *et al.*, 2015). L'analyse TGA a révélé une seule et faible perte de masse (WL) d'au plus 1.0-1.2 % pour NaMt entre 20 et 120 °C, correspondant à une déshydratation réversible (**Fig. S9.a, Profil 1**). La réhydratation a permis de restaurer cette perte de masse, comme en témoignent les profils TGA similaires obtenus après plusieurs cycles d'analyse TGA et de réhydratation. L'absence totale d'autres pertes de masse à des températures plus élevées, et en particulier l'absence de dihydroxylation ($2 \text{-Si-OH} \rightarrow \text{Si-O-Si-} + \text{H}_2\text{O}$), confirme que NaMt est stable sur toute la plage de températures étudiée.

Une diminution notable de la déshydratation a été observée après l'incorporation des CuNP, comme en témoigne l'aplatissement du profil avec une perte de masse ne dépassant pas 0.7-1.0 % dans la plage de température de 20-120 °C (Profil 2). Ceci est en accord avec la diminution des groupes OH libres en raison de l'augmentation des interactions compétitives [-HO:métal], comme mentionné précédemment. L'insertion des MNP dans NaMt a également entraîné un processus endothermique marqué entre environ 140 et 480 °C pour Cu⁰/NaMt et entre 90 et 470 °C pour Ag⁰/NaMt, avec une perte de masse de 6.6 % et 9.4 %, respectivement (**Tableau 3.1**). Une explication possible réside dans une libération retardée et lente de l'humidité de la surface interne, due à une diffusion limitée de l'humidité à travers une structure compactée de l'argile chargée en MNP (Bouazizi *et al.*, 2017b).

3.2.6 Autre perte de masse et effet sur le caractère hydrophile

Une autre perte de masse (WL) a été observée à 470-480 °C et pourrait être attribuée à la dihydroxylation des groupes terminaux Métal-OH de possibles particules d'oxyde métallique. Ces oxydes métalliques peuvent inévitablement se former durant la synthèse, en raison d'une légère oxydation du métal au contact de l'air. Les deux pertes de masse ont été observées à des températures plus basses mais avec des valeurs plus élevées pour Ag⁰/NaMt, indiquant un caractère légèrement plus hydrophile. Cela suggère une formation moindre de AgNP et d'interactions [-HO:Ag⁰], ce qui se traduit par un plus grand nombre de groupes OH hydrophiles disponibles.

En revanche, les échantillons à base de CT présentaient une perte d'humidité beaucoup plus faible (**Fig. 3.9.b**), révélant un caractère hydrophile bien plus faible. Ceci est probablement dû à une faible densité de

groupes hydroxyle en surface du tissu cellulosique commercial non traité. L'incorporation de polyol a permis de surmonter cet inconvénient en introduisant des groupes OH hydrophiles, comme en témoigne l'augmentation notable de la teneur en humidité, passant d'environ 0.1 % à 0.277 % (**Tableau 3.1**). L'ajout ultérieur de MNP dans le CT ou dans H2O-CT a renforcé encore davantage le caractère hydrophile, comme l'indiquent les pertes de masse plus prononcées dans la plage de température de 47 à 200 °C, atteignant respectivement 8,25 % (Cu⁰/CT), 9.74 % (Ag⁰/CT), 4.675 % (Cu⁰/H2O-CT) et 8.525 % (Ag⁰/H2O-CT) (**Tableau 3.2**). Ici, malgré les interactions compétitives [-HO:Metal] et [-HO:H₂O], la simple présence de groupes OH à proximité des MNP semble améliorer l'affinité de surface envers l'eau (Zhu, 1995). Cette analyse confirme l'interdépendance étroite entre la teneur en humidité, qui reflète le caractère hydrophile et favorise la dispersion du matériau en milieu aqueux, et la basicité de surface, qui favorise la rétention des métaux.

3.2.7 Mise en évidence de la rétention des métaux sur la surface de l'argile

La dispersion des métaux dans NaMt a été démontrée par spectroscopie de photoélectrons à rayons X (XPS). Les modifications de l'énergie de liaison (BE) des électrons appartenant aux atomes du matériau avant et après dispersion métallique fournissent des informations précieuses sur la force de rétention des MNP et, par conséquent, sur l'activité antibactérienne. La valeur du déplacement de BE est considérée comme proportionnelle à la force d'interaction.

L'incorporation de métal dans NaMt a été révélée par l'apparition de nouveaux signaux XPS, notamment Cu2p_{3/2} à 931.42 eV pour Cu⁰/NaMt et Ag3d_{5/2} à 367.99 eV pour Ag⁰/NaMt (**Tableau 3.2**). D'autres signaux, tels que Cu2p_{1/2} à 953.00 eV et Ag3d_{3/2} à 373.89 eV, confirment la présence de particules Cu⁰ et Ag⁰. Aucun signal de perte n'a été détecté entre Ag3d_{5/2} et Ag3d_{3/2} ni pour des valeurs de BE plus élevées, ce qui suggère la présence de cations Ag⁺ et une réduction incomplète par NaBH₄, en accord avec les données SEM.

Tableau 3.2. Déplacements de l'énergie de liaison (eV) pour les éléments clés dans les matériaux synthétisés

Electron type	Binding energy (eV)								
	Theoretical data		NaMt			Cellulose tissue (CT)			
	Matrice	Alone	Alone	+Cu ⁰	+Ag ⁰	Alone	+H2O	+Cu ⁰ /H2O	+Ag ⁰ /H2O
O 1s	SiO ₂	532.9 ^a	532.60	531.48	531.59	532.71	532.71	531.65	531.74
	Al ₂ O ₃	531.1	-	-	-	-	-	-	-
	C=O	531.5	-	-	-	-	-	531.65	531.74
	C-O-H	532.9	-	-	-	-	-	533.54	533.66
	Unknown	-	-	-	-	-	-	536.11	535.85
C 1s	C-C	284.8 ^b	-	-	-	285.05	285.01	281.61	285
	C-O-C	286 ^c	-	-	-	286.45	286.16	282.96	
	O-C=O	288.5	285.05	285.03	289.49	288.98	288.96	285.71	
Al 2p	Alumino silicate	74.4 ^b	75.25	76.00 (low)	74.99	-	-	-	-
Si2s	149	-	154.55	152.00	149	-	-	-	-
Si 2p	SiO ₂	103.5	103.25	103.00	103.4	-	-	-	-
	Alumino-silicate	102.7	103.55			-	-	-	-
Ag 3d _{5/2} *		368.2	-	-	367.99	-	-	-	368
Ag 3d _{3/2} *		374.5	-	-	373.89	-	-	-	368
Cu2p _{3/2} **		933	-	931.42	-	932.65	-	932.97	-
Cu2p _{1/2} **		952.5	-	953.00	-	-	-	940	-
Cu satellite				943.50					

*XPS data for silver metal: Ag3d_{5/2}=368.2 eV; **XPS data for copper metal: Cu2p_{3/2}= 933 eV.

Un faible signal satellite a été à peine détecté autour de 943.50 eV, indiquant la présence de faibles quantités de Cu₂O. Les signaux C1s observés à 285.05 eV pour NaMt et 285.03 eV pour Cu⁰/NaMt ont été attribués aux groupes O-C=O et indiquent la présence de carbonates (CO₃²⁻) comme le confirment les motifs de diffraction des rayons X de la bentonite avec les familles de plans 113.202 et 018 entre 40 et 45 degrés (**Fig. S8**). L'augmentation marquée de l'énergie de liaison (BE) du signal C1s pour Ag/NaMt de 285.05 à 289.49 suggère une forte interaction entre le carbonate et l'argent, probablement par la formation de carbonate métallique.

3.2.8 Rôle de l'atome d'oxygène dans l'interaction métal-argile

Les résultats les plus importants de la spectroscopie XPS résident dans les déplacements de l'énergie de liaison (BE) des éléments clés (oxygène, silicium et aluminium), fournissant des preuves de l'interaction du métal avec la surface de l'hôte. Pour l'oxygène, la valeur de BE a diminué de 532.66 eV à 531.48 eV et 531.59 eV lors de l'incorporation de Cu⁰ et Ag⁰, respectivement. Le déplacement plus important du signal

O1s pour Cu/NaMt suggère une rétention plus forte de Cu^0 par la surface de l'argile par rapport à Ag^0 (**Fig. 3.5**). Un tel affaiblissement de la BE doit être dû à une attraction par les espèces voisines et peut être expliqué en termes d'interaction Acide-Base de Lewis (LAB) entre les oxygènes du réseau argileux et les nanoparticules métalliques (MNP). La forte interaction [Clay-O: Cu^0] a également été reflétée par un signal O1s plus large et asymétrique pour Cu/NaMt, comparé à Ag/NaMt.

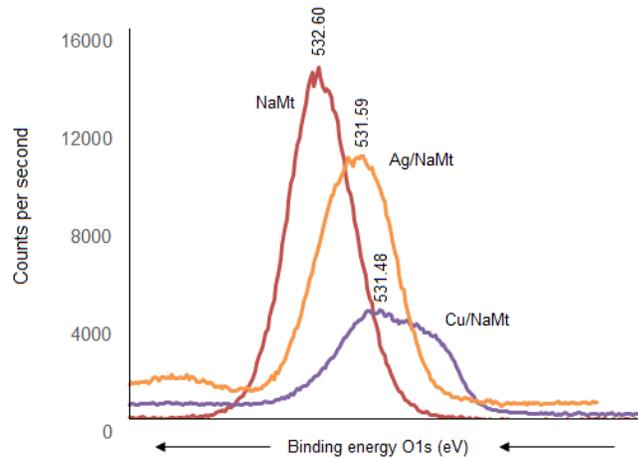


Figure 3.5. Signaux XPS pour les électrons O1s dans NaMt et leurs homologues chargés en métal.

La déconvolution du signal asymétrique pour Cu/NaMt a révélé trois signaux partiellement superposés O1s, probablement en raison de plusieurs interactions de Cu^0 avec au moins des silanols en plan et hors plan, des groupes Si-O-Si et, dans une moindre mesure, des groupes Al-OH (Aluminol). Cela explique en quelque sorte la meilleure dispersion de Cu^0 sur NaMt par rapport à Ag^0 . La confirmation à cet égard a été fournie par la diminution de BE pour les électrons Si2s de 154.55 eV à 152 eV, mais une légère augmentation de BE pour Al 2p de 75.25 eV à 76.00 eV après l'incorporation de Cu^0 . Cela indique que l'interaction Al-OH avec CuNP, le cas échéant, devrait avoir une contribution faible dans la rétention du cuivre. Fait intéressant, l'incorporation de Ag^0 a produit une diminution plus marquée de BE pour Si2s de 154.55 eV à 149 eV, mais à peine un déplacement détectable pour Al2p de 75.25 eV à 74.99 eV. Cela est un indicateur précis de l'occurrence d'une interaction plus forte [Ag^0 :Si] sans nécessairement favoriser la dispersion de l'argent sur NaMt par rapport à Cu^0 , mais avec une interaction presque négligeable avec les atomes d'aluminium.

3.2.9 Interaction des métaux dans les matrices organiques

CT, H2O et leur composite H2O-CT ont montré des profils XPS similaires avec des signaux C1s similaires à 288.91, 286.41 et 285.11 eV attribués respectivement aux groupes O-C=O, C-O-C et CC (**Fig. 3.6**).

L'intensité de chaque signal C1s pour H2O-CT semble être la somme de ceux des deux composants organiques. Aucun déplacement de BE n'a été détecté, ce qui suggère que l'interaction de CT avec H2O, si elle existe, devrait être négligeable.

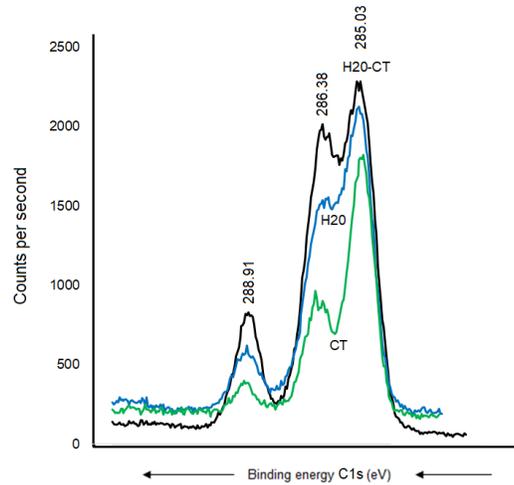


Figure 3.6. Signaux XPS C1s pour CT sans métal, H2O et H2O-CT

L'incorporation de Cu⁰ n'a également induit aucun déplacement de BE C1s dans CT (**Fig. 3.7a**), mais une diminution prononcée de BE jusqu'à 285.71, 282.81 et 281.61 eV, respectivement (**Fig. 3.7b**). Une séquence similaire a été enregistrée après l'insertion de AgNP, fournissant des preuves d'une forte interaction [AgNP:H2O-CT] à travers les atomes de carbone.

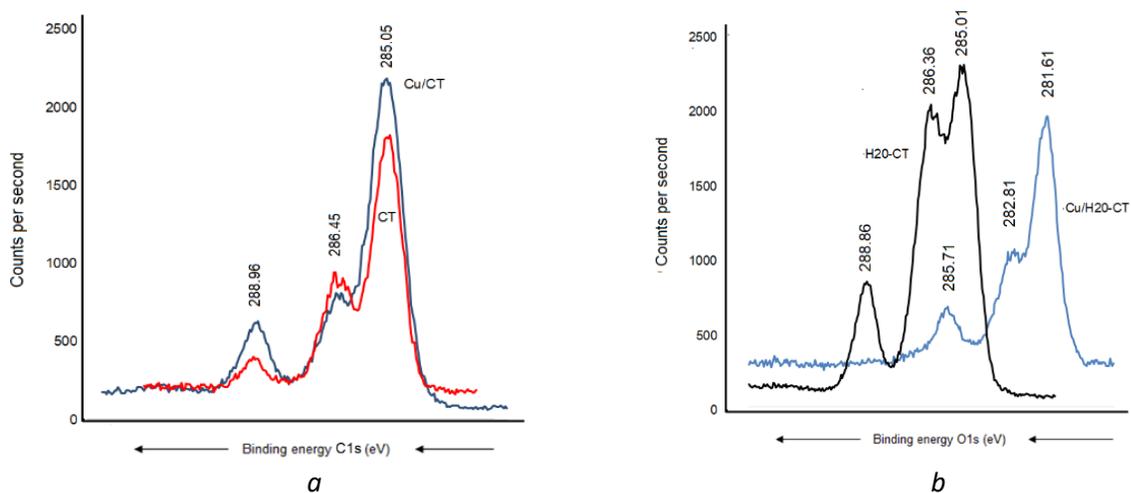


Figure 3.7. Signaux XPS C1s pour CT chargé de Cu (a) et H2O-CT chargé de Cu (b).

Ce déplacement marqué de BE pour le signal C1s de plus de 3 eV par rapport à l'absence presque totale de déplacement de BE dans CT seul explique une capacité plus élevée de H2O-CT à héberger les MNP (**Fig.**

3.6). Cela est dû à la contribution de l'enchevêtrement dendritique. La diminution notable de l'intensité pour le signal C1s des groupes C-O-C et C-C (**Fig. 3.7b**) suggère une compaction de l'enchevêtrement dendritique autour des MNP.

3.2.10 Rôle de l'atome d'oxygène dans l'interaction métal-polymère

L'interaction métal-matrices devrait également impliquer les atomes d'oxygène des polymères. Aucun pont-H ne semble se former entre CT et le dendrimère H2O, étant donné l'absence de déplacement détectable du signal O1s à 532.71 eV (**Fig. 3.8a**). Néanmoins, il a été observé que CT interagit avec le Cu incorporé, comme le montre le déplacement du signal O1s de 532.7 à 531.91 eV et l'apparition d'un nouveau signal à 533.31 eV attribué au groupe -C-O-H (**Fig. 3.8b**). Cela est vraisemblablement dû à l'émergence de l'interaction [-HO:Cu].

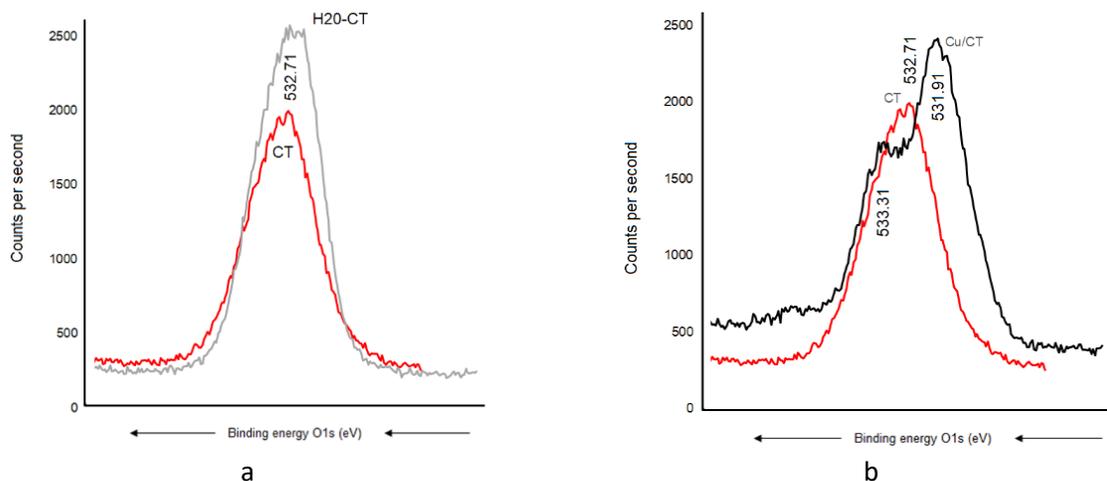


Figure 3.8. Signaux XPS O1s après chargement du CT par le dendrimer H2O (a) et CuNP (b).

Un déplacement de BE de 532.56 eV à 531.81 eV et un élargissement du signal ont été observés après l'incorporation de Cu⁰ dans le dendrimère H2O seul (**Fig. 3.9a**). La légère diminution du BE de 532.56 eV à 531.71 eV enregistrée après l'incorporation de Ag⁰ indique une interaction paradoxalement plus forte de l'argent avec les atomes d'oxygène du dendrimère. Un élargissement similaire du signal autour de 532.70 eV a été observé pour Cu⁰/H2O-CT avec l'apparition d'un second signal à 534.31 eV attribué au groupe -C-O-H (**Fig. 3.9b**).

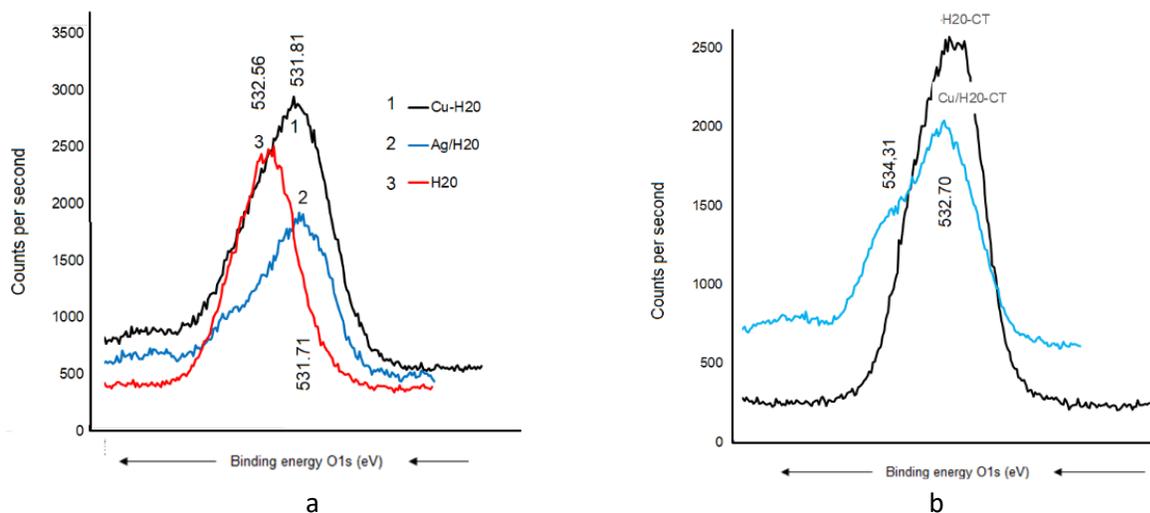


Figure 3.9. Signaux O1s pour les électrons O1s dans CT seul (a) et dendrimère H2O seul (b).

Étonnamment, la densité plus élevée de groupes hydroxyles dans H2O par rapport à CT a donné seulement un signal légèrement plus élevé. Cela peut être dû à l'atténuation du signal par l'effet de la compaction de l'enchevêtrement de H2O (Arus *et al.*, 2016a; Sennour *et al.*, 2017b; Tahir *et al.*, 2017). Ici, la force de l'interaction [-HO:MNP] devrait déterminer la compaction de l'enchevêtrement ou, au contraire, la libération des MNP en fonction des changements de pH dans les milieux aqueux.

3.2.11 Activité antibactérienne des NaMt chargés en métal

Des tests d'incubation en triplicat à 37 °C pendant 24 h sur des populations de 74.106 CFU/mL des souches *E. coli* et *B. subtilis* n'ont révélé aucune activité antibactérienne en présence de NaMt sans métal, de dendrimère H2O, H2O/NaMt et de tissu cellulosique. Comparé au NaMt de départ, les montmorillonites chargées en cuivre et en argent (Cu^0/NaMt et Ag^0/NaMt) ont montré une activité antibactérienne notable contre les deux souches bactériennes, comme l'illustrent les augmentations marquées du diamètre de la zone d'inhibition (**Fig. 3.10**). Cela fournit la preuve de l'effet bénéfique de l'incorporation des métaux (Gordon *et al.*, 2010; Potera, 2012; Vincent *et al.*, 2018; Yun'an Qing *et al.*, 2018). Un IZD plus faible a été enregistré pour Cu^0/NaMt (1.40 cm) par rapport à Ag^0/NaMt (1.87 cm) en présence d'*E. coli*, mais un IZD comparable (1.83 cm) a été obtenu pour Cu^0/NaMt et Ag^0/NaMt en présence de *B. subtilis* (**Tableau S1**). Cela suggère un effet antibactérien plus faible des CuNP sur *E. coli*.

L'ajout de dendrimère H2O sur NaMt a induit une amélioration visible de l'activité antibactérienne, comme l'illustre une zone d'inhibition plus grande (**Fig. S10**). Cela peut s'expliquer par une meilleure dispersion des métaux au sein de l'enchevêtrement de dendrimères portant des groupes OH qui agissent comme des

agents chélateurs (base de Lewis). Les valeurs plus élevées d'IZD enregistrées pour $\text{Cu}^0/\text{H}_2\text{O}-\text{NaMt}$ avec les deux souches (1.77 et 1.83 cm contre 1.07 et 1.50 cm pour $\text{Ag}^0/\text{H}_2\text{O}-\text{NaMt}$) indiquent que Cu^0 est plus efficace que Ag^0 , probablement en raison de : i. une meilleure dispersion par le dendrimère H_2O comme le révèle le TEM ; ii. une libération plus facile du cuivre dans les milieux liquides en raison d'une meilleure dispersion des particules du matériau.

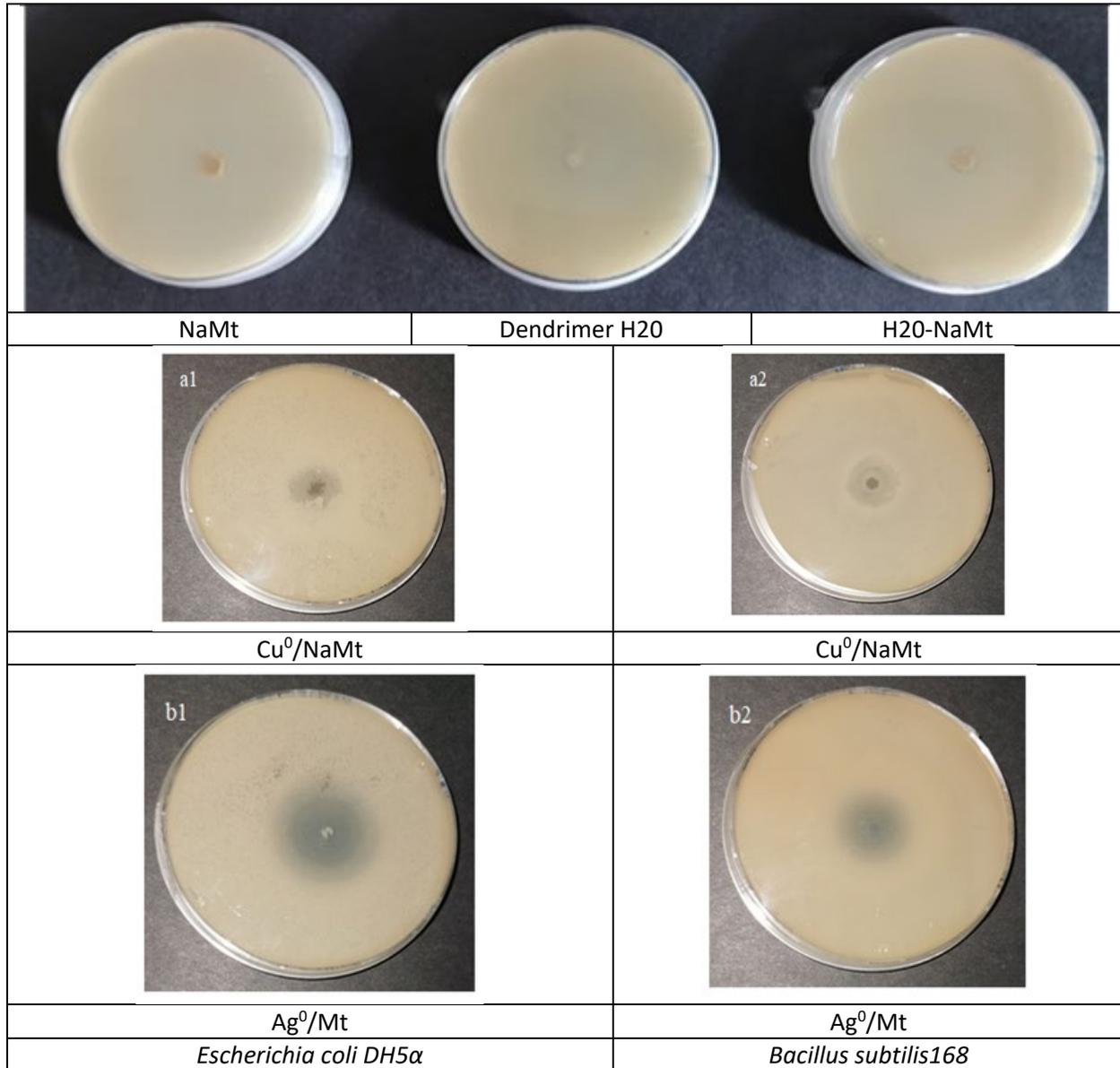


Figure 3.10. Zones d'inhibition de la prolifération des deux souches bactériennes en présence de NaMt et de leurs contreparties chargées en métaux.

De plus, le cuivre est également connu pour être plus réactif que l'argent, générant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme dans les processus de type Fenton et Haber-Weiss. D'autres explications

possibles peuvent concerner les quantités plus faibles d'atomes d'Ag⁰ insérés. Cela doit être dû au niveau de réduction plus faible des cations Ag⁺ en accord avec les données XPS et la grande quantité de cristaux de sel d'argent de forme de baguettes non dispersées, révélée par les images SEM (**Fig. 3.1a**). La tendance générale est que la forte capacité antibactérienne a été observée contre la souche Gram-positive *B. subtilis*, comme l'illustrent les plus grandes valeurs d'IZD (**Tableau S1**). Cela peut être dû à la structure même de la paroi cellulaire de *Bacillus*, composée de couches multiples de peptidoglycane et d'une abondante quantité de pores, ce qui les rend plus sensibles aux espèces réactives comparées aux *E. coli* Gram-négatifs (Fu *et al.*, 2015). La forte concordance entre les données de caractérisation des matériaux et l'activité antibactérienne permet de dire qu'une interaction judicieusement conçue [Métal-Matrice] permet de concevoir des agents antibactériens efficaces.

3.2.12 Effet de la dispersion de l'argile et de la taille des particules

La dispersion de l'argile dans l'eau devrait jouer un rôle clé dans l'activité antibactérienne, car on suppose qu'elle améliore la surface de contact disponible pour l'échange de MNP avec les milieux de culture. La dispersion du matériau argileux dans l'eau a induit des niveaux de pH intrinsèques spécifiques. Une tentative de corrélation à partir des données résumées dans le Tableau S1 a montré qu'une augmentation de la taille des particules de l'argile, avec un pH passant de 6.01 à 9.28, a entraîné une réduction marquée de la taille des particules, passant de 401.9 µm à 127.6 µm (**Fig. 3.11a**). Cela explique une dispersion significative du matériau argileux dans l'eau, probablement due à l'augmentation des forces répulsives entre les lamelles d'argile, comme le soutient la tendance croissante de la valeur négative du potentiel Zeta (**Fig. 3.11b**). Cependant, l'apparition d'une valeur maximale de 38.12 mV pour H₂O-NaMt indique que l'augmentation du potentiel Zeta n'est pas le seul facteur de dispersion de l'argile et que la structure modifiée de l'argile joue également un rôle à cet égard.

Fait intéressant, le plus haut degré de dispersion, c'est-à-dire les tailles de particules les plus petites, a été obtenu pour Ag⁰/H₂O-NaMt (127.6 nm) et Ag⁰/NaMt (152.7 nm), qui ont affiché un potentiel Zeta modéré de -27.21 et -28.31 mV, respectivement (**Fig. 3.11c**). Une explication possible réside dans une agrégation beaucoup plus faible des particules d'argile ou d'organoclay autour des AgNP. Comme prévu, la taille des particules a eu une influence favorable marquée sur l'activité antibactérienne, comme le soutient la tendance à la diminution de l'IZD avec l'augmentation de la taille des particules (**Fig. 3.11d**), confirmant ainsi l'affirmation précédente selon laquelle la surface de contact joue un rôle clé.

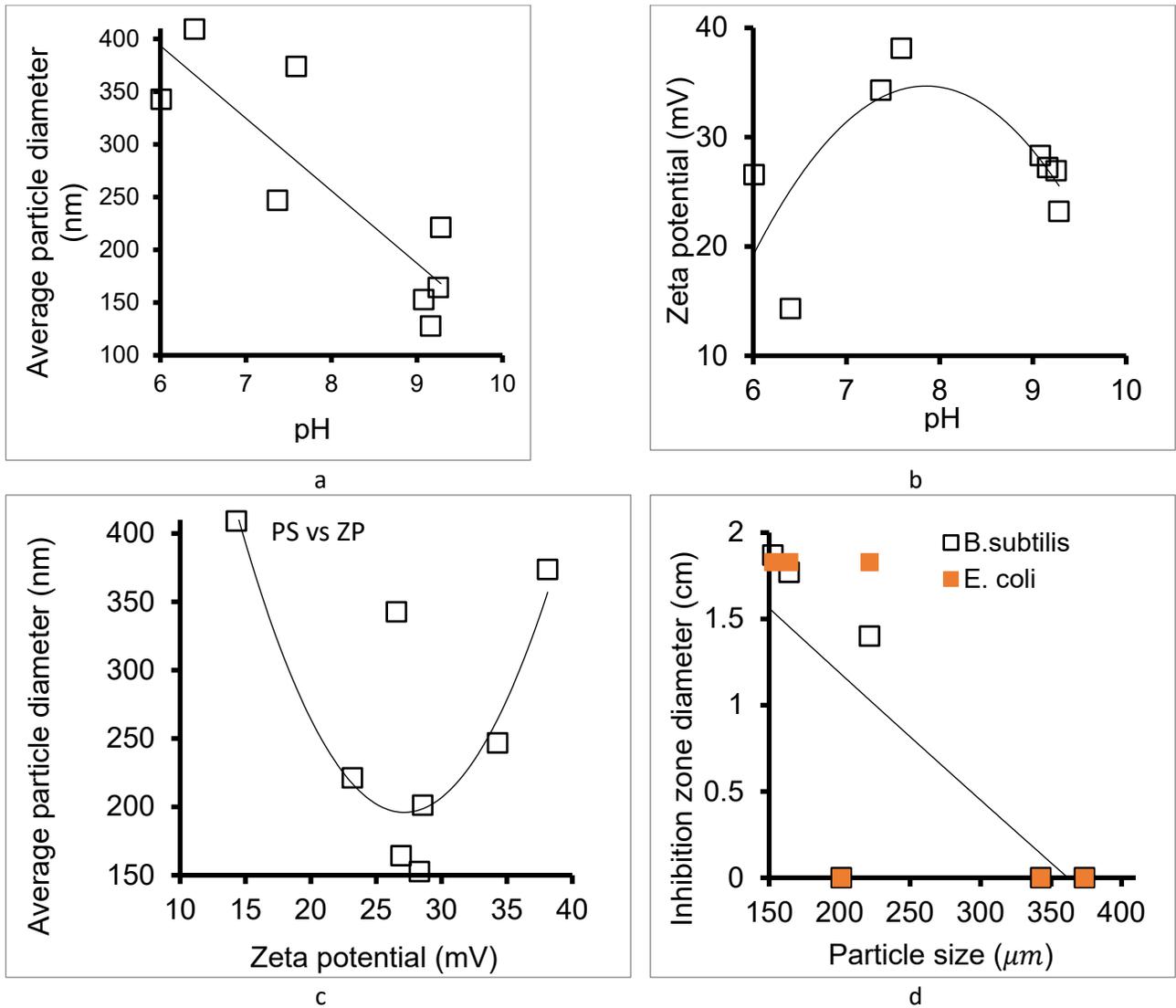


Figure 3.11. Effet du pH sur la taille moyenne des particules (a) et le potentiel Zeta (b), leur interdépendance (c) et l'influence de la taille des particules sur l'IZD pour les deux souches bactériennes (d).

Cela fournit des arguments supplémentaires en faveur du concept selon lequel un équilibre optimal entre la rétention et la libération du métal par les matrices hôtes est un facteur clé pour une activité antibactérienne élevée. En d'autres termes, une forte rétention du métal améliore la capacité de porteur des matrices hôtes, mais paradoxalement, une libération facile du métal dans les milieux de culture améliore l'activité antibactérienne. Cela nécessite simultanément : i. une forte dispersion et stabilisation

du métal (petite taille des particules) ; ii. une grande dispersion de la matrice (petite taille des particules de matériau) pour améliorer la surface de contact ; et iii. une rétention du métal modulable en fonction des caractéristiques des milieux aqueux.

3.2.13 Effet de la quantité de métal dans les échantillons d'argile

L'un des facteurs déterminants est sans aucun doute la quantité de métal incorporée, qui semble jouer un rôle clé dans l'efficacité de l'agent antibactérien. Une analyse approfondie de différentes quantités d'argiles organiques chargées en métal, allant de 1 à 9 mg, a révélé une augmentation presque proportionnelle de l'IZD pour les deux souches, *E. coli* et *B. subtilis*, avec l'augmentation des agents bactéricides jusqu'à un certain seuil (Fig. 3.12). Des valeurs maximales de 2.5 et 3.5 cm ont été atteintes pour 9 mg de $\text{Cu}^{2+}/\text{NaMt-H}_2\text{O}$ et de 2.4 et 3 cm pour la même quantité de $\text{Cu}^0/\text{NaMt-H}_2\text{O}$ contre *E. coli* et *B. subtilis*, respectivement (Tableau S2).

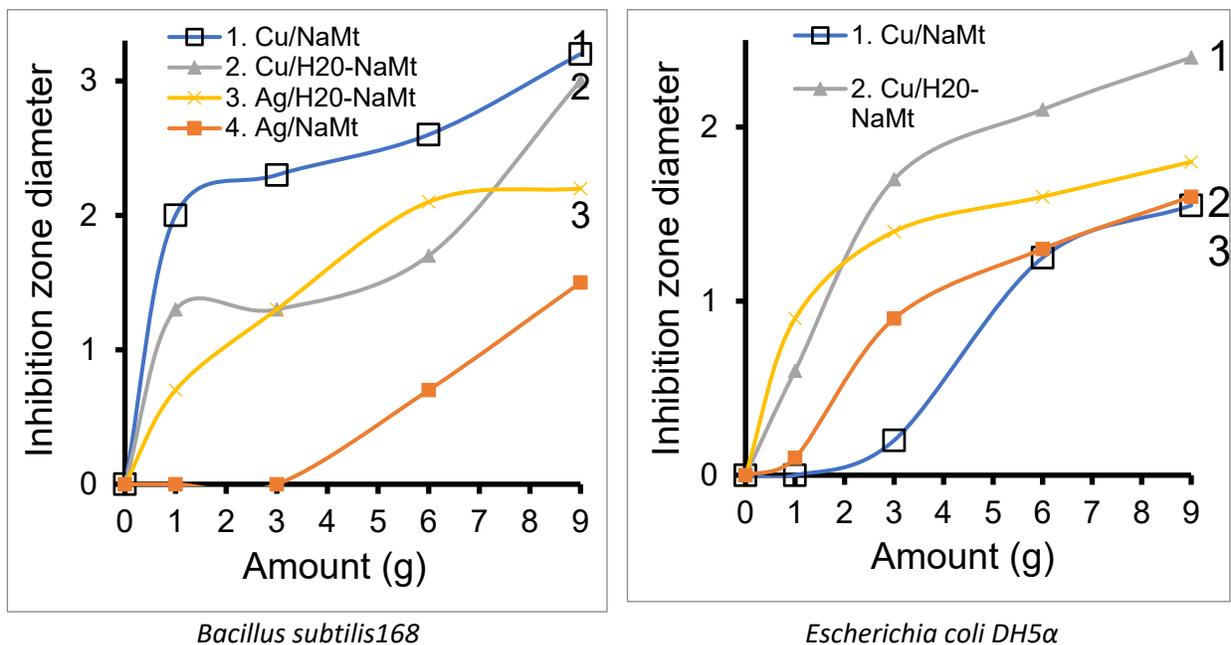


Figure 3.12. Effet de la quantité de matériau antibactérien sur le diamètre des zones d'inhibition dans des boîtes de Petri ensemencées avec environ 74×10^6 unités formatrices de colonies (UFC)/mL de chaque espèce bactérienne, avec une densité optique cellulaire de 0.5 à 600 nm.

La tendance générale montre que des valeurs d'IZD plus élevées ont été obtenues avec *B. subtilis* par rapport à *E. coli*. Cela confirme l'affirmation précédente concernant la plus grande sensibilité de *Bacillus subtilis* (Fu *et al.*, 2015) Il est également important de noter que Cu^0/NaMt a montré les valeurs d'IZD les

plus élevées pour *Bacillus subtilis* 168 mais les plus faibles pour *E. coli*, en accord avec les données précédentes (**Tableau S1**).

3.2.14 Effet de la surface solide

Afin d'examiner le rôle du support solide, des tests antibactériens similaires réalisés avec des échantillons à base de cellulose contre *E. coli* et *B. subtilis* ont révélé l'absence d'activité antibactérienne pour le tissu de cellulose (CT) et son équivalent polyol-fonctionnalisé (H2O-CT). En revanche, les matrices cellulosiques chargées en cuivre ont montré une forte activité antibactérienne, comme l'illustre l'augmentation significative de l'IZD (**Tableau 3.3**). Cela confirme clairement que l'activité antibactérienne est uniquement due à l'incorporation du métal, indépendamment de la matrice hôte.

Les valeurs d'IZD les plus élevées obtenues pour Cu⁰/H2O-CT (3.5 cm) doivent être attribuées au rôle bénéfique du dendrimère H2O ainsi qu'à la plus grande activité antibactérienne du cuivre par rapport à l'argent. Fait intéressant, cette valeur est supérieure à celles de 2,23 cm pour *E. coli* et 2.73 cm pour *B. subtilis* enregistrées en présence de Cu²⁺/H2O-NaMt (Tableau S1). Des observations similaires ont été faites pour Ag⁰/H2O-NaMt avec une IZD de 0.90 cm contre 2 cm pour Ag⁰/H2O@CT.

Tableau 3.3. Diamètre des zones d'inhibition (cm) pour les matériaux à base de cellulose chargés en métal.

Samples	Inhibition zone diameter (cm)	
	<i>B. subtilis</i> 168	<i>E. coli</i> DH5α
CT	0	0
Boltorn™H2O	0	0
H2O@CT	0	0
Ag ⁰ /CT	1	0
Cu ⁰ /CT	1,6	0,5
Cu ⁰ /H2O@CT	3,5	1
Ag ⁰ /H2O@CT	2	0,9

L'explication la plus plausible réside dans une dispersion plus élevée des métaux dans les échantillons de CT grâce aux groupes hydroxyles du dendrimère H2O. En effet, contrairement à la montmorillonite, les groupes OH de H2O interagissent préférentiellement avec les nanoparticules métalliques (MNP) plutôt qu'avec les rares groupes OH présents sur la surface de CT, comme le confirment les mesures TPD (**Fig. S7b**). Cela explique en partie l'absence totale d'interaction entre H2O et CT, en accord avec les données

XPS. Ce résultat est d'une grande importance, car il démontre clairement que l'interaction du dendrimère polyol avec la surface solide est défavorable à la dispersion des MNP et à l'activité antibactérienne.

L'effet de la charge de surface et, par conséquent, du potentiel Zêta sur l'activité antibactérienne doit également être pris en compte. La tendance générale montre qu'une augmentation de la valeur absolue du potentiel Zêta entraîne une nette diminution de l'activité antibactérienne, comme l'illustre la réduction visible du diamètre des zones d'inhibition (**Fig. 3.13**). Cela suggère un effet négatif d'une densité de charge négative plus élevée sur la surface solide, qui entrave l'interaction [Matériau : Paroi bactérienne] en raison de forces répulsives. Il est bien établi que la face externe de la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives et Gram-négatives porte des charges négatives (Ashmore *et al.*, 2018; Stensberg *et al.*, 2011).

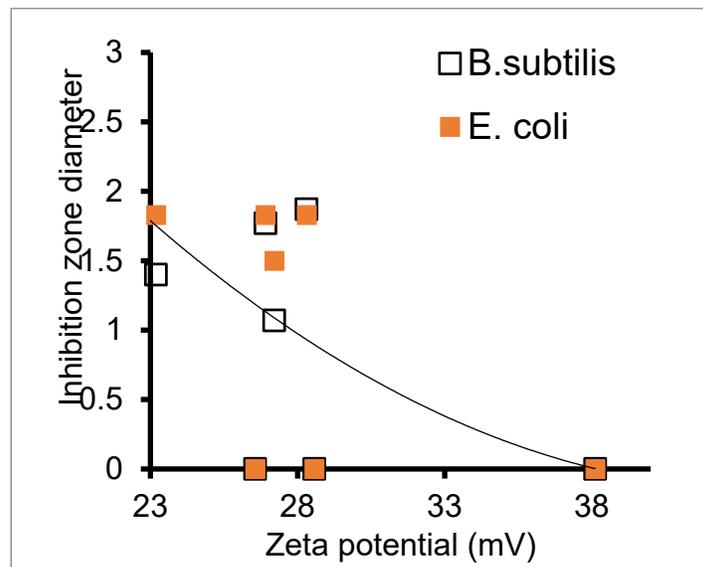


Figure 3.13 montre clairement l'effet du potentiel Zêta sur le diamètre des zones d'inhibition (IZD) pour les deux souches bactériennes.

Contrairement aux interactions avec les cations, les parois cellulaires bactériennes chargées négativement n'interagissent pas efficacement avec les particules également chargées négativement en raison de forces électrostatiques répulsives. Une diminution du potentiel Zêta est donc supposée améliorer le contact entre les bactéries et la surface solide, favoriser la libération des nanoparticules métalliques (MNP) grâce aux sites basiques de Lewis présents sur la paroi bactérienne, et faciliter leur diffusion à l'intérieur de la cellule (Stensberg *et al.*, 2011). À l'intérieur de la cellule, les nanoparticules métalliques (MNP) peuvent générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion

superoxyde ($\cdot\text{O}_2^-$) et le radical hydroxyle ($\cdot\text{OH}$). (Gordon *et al.*, 2010; Yun'an Qing *et al.*, 2018) qui altèrent la stabilité cellulaire (Dakal *et al.*, 2016) par une large variété de processus contre les bactéries. (Dakal *et al.*, 2016; Losasso *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2018). Malgré leur activité antibactérienne (Ávalos *et al.*, 2013), il a été constaté que les nanoparticules d'argent (AgNP) étaient moins efficaces que les cations (El Badawy *et al.*, 2011), qui sont beaucoup plus attirés par les charges négatives des parois bactériennes (Losasso *et al.*, 2014; Slavin *et al.*, 2017b; Yun'an Qing *et al.*, 2018). Des observations similaires peuvent être faites pour les CuNP (Chatterjee *et al.*, 2014; Sistemática *et al.*, 2016) dont la concentration et la dissolution dans la membrane bactérienne sont connues pour induire des changements de potentiel et de perméabilité, ainsi qu'une altération de la membrane (Amro *et al.*, 2000; Azam *et al.*, 2012), production de ROS et d'autres processus oxydatifs nuisibles (Applerot *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2007), diminution de la production d'ATP intracellulaire et perturbation de la réplication de l'ADN (Kim *et al.*, 2007; Sondi et Salopek-Sondi, 2004), Cela devrait conférer une activité plus élevée aux CuNP contre les deux bactéries par rapport aux AgNP (Chudobová et Kizek, 2015), expliquant ainsi la performance supérieure du cuivre dispersé dans le polyol rapportée ici.

3.3 Conclusion

La dispersion des métaux sous forme de AgNP et CuNP avec un dendrimère polyol a induit une activité antibactérienne sur la montmorillonite et le tissu cellulosique. L'incorporation préalable du polyol n'a entraîné aucune activité antibactérienne détectable, mais a fourni des groupes hydroxyles supplémentaires jouant le rôle d'agents chélatants pour les nanoparticules métalliques (MNP). Une interaction forte [-HO:Métal] réduit l'accessibilité des MNP et affecte l'activité antibactérienne. Une interaction faible [-HO:Métal] atténue la rétention des MNP et favorise l'activité antibactérienne. Une quantité optimale de polyol chargé en métal permet une forte activité biocide grâce à un compromis entre la compaction de la structure et l'accessibilité des MNP aux cellules bactériennes. L'interaction du dendrimère polyol avec la surface solide semble être préjudiciable à la dispersion des MNP. Une activité antibactérienne élevée repose sur un compromis judicieux entre une forte rétention du métal, qui améliore la capacité de transport des matrices hôtes, et une libération facile du métal dans le milieu de culture. Cela nécessite une dispersion élevée et une faible taille des particules métalliques ainsi que des grains de matériau pour améliorer la surface de contact. Une rétention modulable du métal, en fonction des caractéristiques du milieu aqueux, apparaît comme un facteur clé dans ce domaine. Une densité de

charge négative plus élevée sur la surface solide entrave l'interaction [Matériau : Paroi bactérienne] en raison des forces répulsives. Ces résultats constituent des exigences essentielles pour la conception de matrices antibactériennes efficaces à partir de matériaux naturels et à faible coût, dotés d'une porosité modulable par enchevêtrement.

Remerciements

Ce travail a été soutenu par le CRSNG (au Pr. Mircea A. Mateescu). Les auteurs remercient pour leur assistance technique le Dr G. Chamoulaud (Nanoqam), le Dr Alain Adnot (Université Laval) et Dainelys Guadarrama Bello (UdeM). Une bourse CRIPA-FRQNT accordée à F. Noori est également chaleureusement remerciée.

CHAPTER 4

SYNTHÈSE DE BIOPOLYMÈRES CARBOXYLÉS CHARGÉS EN MÉTAUX AVEC UNE ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE PAR INCORPORATION DE SOUS-NANOPARTICULES MÉTALLIQUES

Farzaneh Noori,^a Meriem Megoura,^a Marc-André Labelle,^a Mircea Alexandru Mateescu,^{a*} Abdelkrim
Azzouza,^{b*}

^a Nanoqam, Département de Chimie, Université du Québec à Montréal, QC, Canada H3C 3P8.
^b École de Technologie Supérieure, Montréal, Québec, H3C 1K3, Canada.

Auteurs correspondants

Pr. Abdelkrim Azzouz & Pr. Mircea Alexandru Mateescu

E-mail : azzouz.a@uqam.ca ; Tél. : 1 514 987 3000 Poste 4119, Fax : 1 514 987 4054

E-mail : mateescu.m-alexandru@uqam.ca ; Tél. : 1 514 987 4319

Contributions des auteurs

Farzaneh Noori : Investigation, traitement des données, rédaction du brouillon original.

Meriem Megoura : Investigation, traitement des données et contribution aux tests antibactériens et de viabilité.

Marc-André Labelle : Investigation, traitement des données et contribution à la détermination du DS.

Mircea Alexandru Mateescu : Supervision, conceptualisation, méthodologie, révision, auteur correspondant.

Abdelkrim Azzouz : Supervision, conceptualisation, méthodologie, rédaction du manuscrit, révision et édition, auteur correspondant.

Publié par la revue Antibiotics le 24 mars 2022.

Résumé

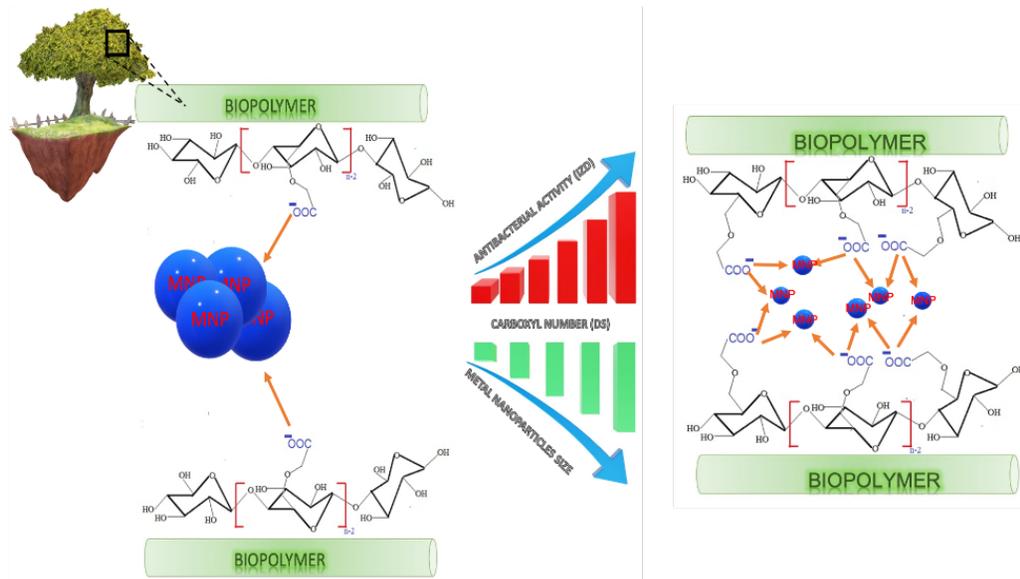
L'amidon carboxyméthylé (CMS) et la carboxyméthylcellulose (CMC) chargés en sous-nanoparticules métalliques hautement dispersées (MSNP) ont montré une activité antibactérienne contre les souches *E. coli* et *B. subtilis*. Le cuivre et l'argent agissent à la fois sous forme cationique et sous forme de valence zéro. L'activité antibactérienne dépend de la quantité de métal incorporée, mais seulement jusqu'à un certain seuil. Le cation argent (Ag^+) a montré une activité antibactérienne plus élevée par rapport à Ag^0 , qui s'est cependant révélé plus efficace que Cu^0 en raison d'une rétention plus faible. Le nombre de groupes carboxyles des biopolymères régit la dispersion du matériau en milieu aqueux, la force de rétention du métal et sa dispersion dans les matrices hôtes. La rétention des cations et des métaux dans les biopolymères implique des interactions avec les atomes d'oxygène des groupes hydroxyles et carboxyles. Il existe une interdépendance ternaire entre le potentiel Zêta (ZP), le pH induit par l'agent biocide et la taille des particules (PS). Cette interdépendance est un facteur clé dans les échanges avec les espèces environnantes, y compris les bactéries. L'incorporation de minéraux argileux a été trouvée pour atténuer la dispersion du matériau en raison d'une interaction concurrentielle néfaste Argile:Polymère. Cette avancée des connaissances ouvre des perspectives prometteuses pour la fabrication de matériaux chargés en métal à des fins biomédicales.

Mots-clés : Amidon carboxyméthylé ; Carboxyméthylcellulose ; Sous-nanoparticules métalliques ; Activité antibactérienne.

Points forts

1. Les biopolymères fonctionnalisés par carboxyméthylation servent de matrices hôtes pour les particules métalliques.
2. La densité des groupes carboxyméthyles influence la dispersion des métaux et la taille des particules.
3. La dispersion et la stabilisation des métaux impliquent des interactions avec les atomes d'oxygène des matrices.
4. Le type de métal, sa dispersion, sa valence et sa quantité sont des facteurs clés de l'activité antibactérienne.
5. Les sous-nanoparticules de cuivre et d'argent hautement dispersées présentent une activité antibactérienne.

Résumé graphique



4.1 Introduction

L'utilisation excessive des antibiotiques organiques conventionnels a déjà été reconnue comme favorisant la résistance des micro-organismes pathogènes, avec un impact négatif sur la santé animale et humaine (Capita et Alonso-Calleja, 2013; Jansen *et al.*, 2006; Penesyan *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2015). De nos jours, cela est considéré comme un problème environnemental majeur. Les nanoparticules métalliques (MNP) ont une activité à large spectre, étant efficaces contre les micro-organismes Gram-positifs et Gram-négatifs (Noori *et al.*, 2021; Sánchez-López *et al.*, 2020). Leur toxicité non sélective provient de la production d'une grande variété de espèces réactives de l'oxygène (ROS) à travers le stress oxydatif induit sur les micro-organismes. Le cuivre et l'argent ont déjà montré une activité antibactérienne (Bondarenko *et al.*, 2013; Harikumar et Aravind, 2016; Keshari *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2011; Noori *et al.*, 2021; Ramyadevi *et al.*, 2012) et des propriétés anticancéreuses. (Faedmaleki *et al.*, 2014). Ces caractéristiques ont été améliorées par une grande surface de contact avec les micro-organismes, mais leur tendance à s'agréger (Allen *et al.*, 2017; Kalsin *et al.*, 2006; Keller *et al.*, 2010) est connue pour affecter leur toxicité envers les bactéries. (De Souza *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2009). Une dispersion élevée en tailles de particules aussi petites que possible peut permettre de surmonter cet inconvénient en utilisant soit des matrices hôtes appropriées, soit des tensioactifs portant des groupes hautement chélatants (Diaz *et al.*, 2016; Furukawa *et al.*, 2009; Iqbal *et al.*, 2020; Kosakowska *et al.*, 2018; Le Ouay et Stellacci, 2015; Noori *et al.*, 2021; Pathak *et al.*, 2019; Tang et Zheng, 2018; Ujihara et Imae, 2010; Xiu *et al.*, 2012). La biocompatibilité est une exigence essentielle pour de tels agents dispersants, et l'amidon carboxyméthylé (CMS) et la cellulose

carboxyméthylée (CMC) sont des polysaccharides intéressants et peu coûteux à cet effet. Ils sont couramment utilisés comme vecteurs de médicaments et dans d'autres applications biomédicales en raison de leur capacité de modification, de leur non-toxicité, de leur haute biodégradabilité, de leur biocompatibilité et de leur sensibilité au pH (Javanbakht *et al.*, 2018; Javanbakht *et al.*, 2019; Labelle *et al.*, 2020; Ogushi *et al.*, 2007; Ounkaew *et al.*, 2020; Pal *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2017). Lors de la fonctionnalisation chimique, ils acquièrent un nombre variable de groupes carboxyméthyl (CM) capables de capturer les cations métalliques par échange d'ions. Les atomes d'oxygène des groupes CM devraient également fournir des paires d'électrons capables de stabiliser les nanoparticules métalliques (MNP) en empêchant leur agrégation grâce à des interactions acide-base de Lewis (Farrokhpay, 2009). Des interactions similaires ont déjà été rapportées pour les groupes hydroxyles des dendrimères polyols et des minéraux argileux (Arus *et al.*, 2016b; Bouazizi *et al.*, 2017a, 2018a; Noori *et al.*, 2021; Sennour *et al.*, 2017a; Tahir *et al.*, 2017).

Cependant, contrairement aux hydroxyles, qui présentent un caractère amphotère à faiblement basique, les groupes CM sont plutôt légèrement acides et affichent un comportement dépendant du pH. Ce dernier est à son tour censé influencer la force de rétention des métaux et la dispersion du métal au sein des matrices hôtes, ainsi que celle du biopolymère dans les milieux aqueux. Ces facteurs clés devraient influencer non seulement la surface de contact du biopolymère chargé de métal avec les milieux aqueux et les micro-organismes dispersés, mais aussi une possible libération de métal qui semble gouverner l'activité antibactérienne (Noori *et al.*, 2021). L'étude de ces influences est l'objectif principal du présent travail. L'augmentation du DS (degré de substitution : défini comme le nombre de groupes carboxyles par unité de glucose) devrait favoriser la dispersion des métaux par réduction de la taille des particules. Parallèlement, un nombre élevé de carboxyles est supposé renforcer l'effet du pH sur l'agrégation-distribution de l'enchevêtrement du biopolymère dans les milieux infectés par des bactéries. L'interaction métal-cellule est connue pour entraîner un stress oxydatif qui produit inévitablement des espèces acides et des fluctuations dans le degré de compaction-porosité du biopolymère chargé de métal, contrôlant ainsi la surface de contact. Cette interaction doit également être influencée par des interactions concurrentes induites par toute espèce portant des groupes hydroxyles, y compris les molécules d'eau et les membranes cellulaires. C'est pourquoi un intérêt particulier a été accordé au rôle des particules solides portant des groupes hydroxyles à la surface. À cet effet, le CMS, le CMC et leurs combinaisons avec la montmorillonite sodique (NaMt) ont été chargés de particules de cuivre ou d'argent. Une caractérisation complète, par des mesures du potentiel zêta et de la taille des particules, des analyses par spectroscopie photoélectronique X (XPS), microscopie électronique à transmission (TEM) et fluorescence X à dispersion d'énergie (ED-XRF),

semble être une approche judicieuse à cet égard. Les activités antibactériennes des matrices hôtes avant et après leur combinaison avec le minéral argileux et l'incorporation des nanoparticules Cu⁰ et Ag⁰ ont été évaluées en termes de diamètre de zone d'inhibition (IZD) sur des souches bactériennes Gram-positives (*B. subtilis* S168) et Gram-négatives (*E. coli* DH5α) et corrélées aux caractéristiques des matériaux. De plus, des tests de viabilité ont été réalisés sur *E. coli* en tant que modèle représentatif.

4.2 Résultats et Discussion

4.2.1 Effets de la structure des biopolymères et de l'ajout d'argile

Le CMC de départ affichait une valeur de potentiel zêta (ZP) plus élevée (-33.83 mV) par rapport au CMS (-26.11 mV) en raison d'un nombre plus élevé de groupes CM faiblement acides, exprimés en termes de degré de substitution (DS), ce qui se reflétait également par un pH légèrement plus bas (6.37 contre 6.50) (Tableau 4.1).

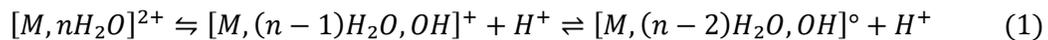
Tableau 4.1. Quelques caractéristiques physico-chimiques des matériaux étudiés

	Sample	Zeta potential (mV)	Particle size (nm)	Degree of substitution	pH
Carboxymethyl cellulose	CMC	-33,83	289.30	0.3 (0.9/3)	6.37
	Cu ²⁺ /CMC	-13.82	526.20		5.60
	Ag ⁺ /CMC	-30.39	441.70		5.28
	Cu ⁰ /CMC	-44.05	123.10		6.37
	Ag ⁰ /CMC	-54.53	75.42		6.00
	CMC/NaMt	-48.36	266.60	-	6.32
	Cu ²⁺ /CMC-NaMt	-23.74	605.50		5.66
	Ag ⁺ /CMC-NaMt	-39.21	450.20		5.90
	Cu ⁰ /CMC-NaMt	-48.36	206.25		6.90
	Ag ⁰ /CMC-NaMt	-47.35	128.10		6.00
Carboxymethyl Starch	CMS	-26.11	350.20	0.17 (0.5/3)	6.56
	Cu ²⁺ /CMS	-13.28	670.60		5.67
	Ag ⁺ /CMS	-17.90	451.40		5.73
	Cu ⁰ /CMS	-31.36	221.73		6.47
	Ag ⁰ /CMS	-40.16	120.65		6.21
	CMS/NaMt	-33.42	299.00	-	6.41
	Cu ²⁺ /CMS-NaMt	-17.89	596.30		5.90
	Ag ⁺ /CMS-NaMt	-32.34	537.10		5.83
	Cu ⁰ /CMS-NaMt	-34.12	213.10		6.37
	Ag ⁰ /CMS-NaMt	-33.54	165.15		6.00

Comme prévu, cela a entraîné une meilleure dispersion du CMC en raison de forces de répulsion électrostatiques plus fortes, comme le suggère la taille de particule plus faible (289.3 nm pour CMC contre 350.2 nm pour CMS). L'incorporation de montmorillonite a permis d'augmenter le ZP jusqu'à -48.36 pour CMC/NaMt et jusqu'à -33.42 pour CMS/NaMt, et, par conséquent, de réduire la taille des particules à 266.6 nm et 299 nm, respectivement. Cela peut s'expliquer par les contributions supplémentaires des sites échangeables et des groupes silanols déprotonés du minéral argileux. Cela est en accord avec la légère diminution du pH, passant de 6.37 et 6.56 à 6.32 et 6.41 respectivement.

4.2.2 Effet de l'incorporation de métaux

L'incorporation des cations de cuivre et d'argent dans le CMC et le CMS a induit une diminution marquée du potentiel zêta (ZP), passant de -33.83 mV (CMC) et -26.11 mV (CMS) à -13.82 mV pour Cu²⁺/CMC et -13.28 mV pour Cu²⁺/CMS, contre -30.39 mV pour Ag⁺/CMC et -17.9 mV pour Ag⁺/CMS. La diminution simultanée du pH, plus prononcée avec les ions Cu²⁺, doit être due à l'acidité de Brønsted induite par les deux cations retenus par échange d'ions et/ou par des interactions acide-base de Lewis (LAB) avec les paires d'électrons des atomes d'oxygène des groupes CM. L'effet plus fort du cation Cu²⁺ peut être expliqué par sa capacité plus élevée à dissocier les molécules d'eau environnantes par rapport à Ag⁺ (**Réaction 1**). La libération consécutive de H⁺ conduit inévitablement à la protonation des carboxyles et à une diminution du ZP (**Réaction 2**).



Cela est en accord avec la plus grande puissance de polarisation (PP) de Cu²⁺ (**Tableau S1**). Ce facteur a été trouvé pour réduire le ZP pour les deux biopolymères chargés en métal, quel que soit le cation incorporé (**Fig. 4.1**). Des diminutions de pH moins accentuées, allant de 5.66 à 6.00 et de 5.9 à 6.00, ont été observées après l'incorporation de cations dans les échantillons CMC/NaMt et CMS/NaMt, probablement en raison d'un effet compensatoire de la protonation des groupes CM à cette valeur de pH proche de la valeur pKa.

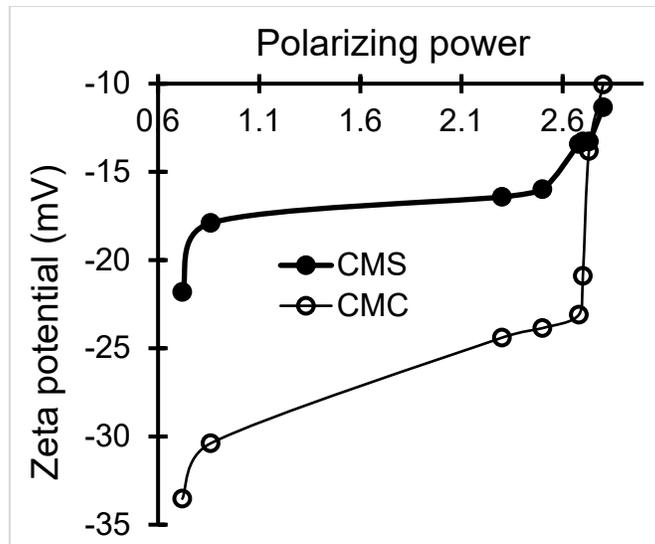


Figure 4.1 : Influence de la puissance de polarisation du cation métallique incorporé sur le potentiel Zêta des CMC et CMS chargés en métal. Le potentiel Zêta a été mesuré pour des suspensions aqueuses de CMC et CMS traitées avec des solutions aqueuses de différents cations métalliques (Cu^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+} , Co^{2+} , Pt^{2+} , Ti^{2+} ou Au^+).

Des diminutions de pH moins accentuées, allant de 5.66 à 6.00 et de 5.9 à 6.00, ont été observées après l'incorporation de cations dans les échantillons CMC/NaMt et CMS/NaMt, probablement en raison d'un effet compensatoire de la protonation des groupes CM à cette valeur de pH proche de la valeur pKa. Contrairement aux cations, les Métaux Zéro-Valent (MZV) ont plutôt induit une augmentation du ZP de -33.83 à -44.05 pour Cu^0/CMC et -54.53 pour Ag^0/CMC , et de -26.11 à -31.36 pour Cu^0/CMS et -40.16 pour Ag^0/CMS . Ici, l'interaction des MNP avec les paires d'électrons des atomes d'oxygène dans les groupes CM devrait atténuer la libération de protons, comme le reflètent les diminutions de pH moins marquées jusqu'à 6.0 ($\text{Cu}^0/\text{CMC}/\text{NaMt}$), 6.0 ($\text{Ag}^0/\text{CMC}/\text{NaMt}$), 6.37 ($\text{Cu}^0/\text{CMS}/\text{NaMt}$) et 6.0 ($\text{Ag}^0/\text{CMS}/\text{NaMt}$).

4.2.3 Interdépendance du potentiel Zêta - pH - taille des particules du matériau

Les variations du ZP et du pH sont presque linéairement interdépendantes (**Fig. 4.2A**). En même temps, l'augmentation du ZP renforce les forces de répulsion et la dispersion du matériau, ce qui entraîne une diminution de la taille des particules du matériau (**Fig. 4.2B**). Par la suite, un pH intrinsèque élevé des milieux aqueux semble favoriser la dispersion du matériau par une diminution de la taille des particules, comme le montre la **Fig. 4.2C**.

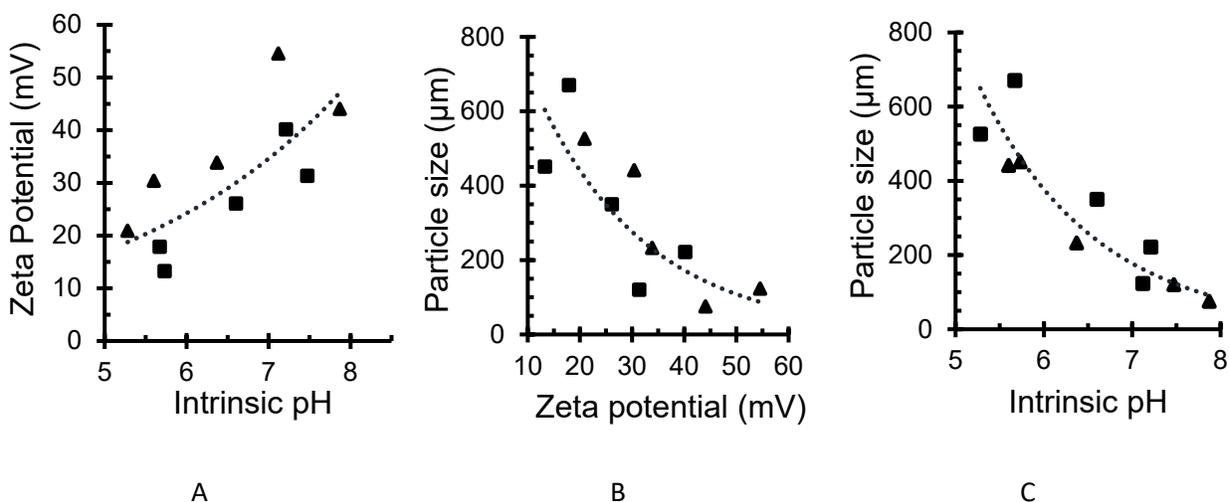


Figure 4.2. Relation entre le potentiel Zêta et le pH (A), la taille des particules du matériau et le potentiel Zêta (B) et la taille des particules du matériau et le pH (C) des milieux de dispersion. En carré noir : échantillons à base de CMC, y compris CMC, Cu²⁺/CMC, Cu⁰/CMC, Ag⁺/CMC et Ag⁰/CMC. En triangle noir : échantillons à base de CMS, y compris CMS, Cu²⁺/CMS, Cu⁰/CMS, Ag⁺/CMS et Ag⁰/CMS.

Cette interdépendance ternaire est d'une grande importance car elle démontre clairement que la basicité de surface de l'agent antibactérien est un facteur clé dans l'amélioration de la surface de contact et des processus d'échange avec les micro-organismes ciblés. Le CMC et le CMS, ainsi que leurs composites à base de NaMt, possèdent des fonctions chimiques sensibles au pH. Le caractère acido-basique peut être modulé par la densité de surface des groupes CM, des atomes d'oxygène du réseau, des silanols en plan et hors plan grâce à des cations échangeables appropriés.

4.2.4 Preuves XPS des interactions cation-matrice

Les mesures XPS ont révélé des changements notables dans le signal O1s après l'incorporation des cations métalliques et des MNP dans les deux biopolymères carboxyméthylés. Les changements se sont reflétés par une intensité de signal plus élevée de 40000-100000 counts par seconde (CPS) pour le CMC chargé en métal (**Fig. S2-S3**) par rapport à 15000-75000 CPS pour le CMS chargé en métal (**Fig. S4-S5**). Cela peut être expliqué par le DS plus élevé de 0.92 + 0.01 pour le CMC contre 0.51 + 0.01 pour le CMS, fournissant des preuves de l'implication des atomes d'oxygène des groupes CM dans la capture et la stabilisation des métaux. Une intensité de signal O1s plus faible a été observée après l'incorporation de Cu²⁺ par rapport à Ag⁺, suggérant une compaction plus forte de l'enchevêtrement polymère qui empêche la libération d'électrons. Cela peut être expliqué par l'effet de sandwich des charges positives des cations bivalents

partagées entre deux groupes CM voisins. Des analyses plus approfondies des signaux O1s XPS ont révélé un décalage de BE pour l'interaction H-O-C:Cu²⁺ de 1.3 eV dans le CMC (**Tableau S2**) et de 1.0 eV dans le CMS (**Tableau S3**), c'est-à-dire une rétention plus forte de Cu²⁺ par les groupes H-O-C des carboxyles du CMC (**Tableau 4.2**). Ces valeurs sont au moins trois fois plus élevées que celles enregistrées avec le cation Ag⁺ (0.3 dans les deux CMC et CMS), indiquant une rétention beaucoup plus forte de Cu²⁺ dans les deux biopolymères par rapport à l'argent.

En règle générale, les signaux C1s des groupes C-O-C du noyau de glucose, C-C et O-C=O ont montré un décalage BE à peine détectable ne dépassant pas -0.3 eV dans le CMC (**Tableaux S2**) et -0.5 eV dans le CMS (**Tableaux S2**). Ce résultat est d'une grande importance car il démontre que : i. les atomes de carbone n'interagissent pas directement avec les espèces métalliques incorporées ; ii. les faibles décalages BE, s'ils existent, sont induits par les atomes d'oxygène voisins des groupes OH et carboxyles des deux biopolymères.

Table 4.2. Déplacement de l'énergie de liaison (eV) pour les éléments clés dans les matériaux synthétisés

XPS signal	Binding energy (eV)										
	CMC- Based samples						CMS-Based samples				
	Matrix	Alone	+ Cu ²⁺	+Cu ⁰	+Ag ⁺	+Ag ⁰	Alone	+ Cu ²⁺	+Cu ⁰	+Ag ⁺	+Ag ⁰
O _{1s}	O=C	530.68	530.28	529.89	530.18	529.38	530.78	530.08	529.88	530.28	529.98
	H-O-C	532.58	531.28	530.89	532.28	531.08	532.58	531.58	531.18	532.28	532.11
C _{1s}	C-O-C	286.18	286.28	287.08	286.38	286.22	286.18	286.28	285.98	286.29	286.37
	C-C	284.58	284.78	284.90	284.68	284.78	284.58	284.78	284.48	284.78	284.68
	O-C=O	287.58	287.88	287.98	287.68	287.78	287.68	288.18	288.10	287.98	287.78
Cu2p _{3/2} *	-	-	965.08	965.08	-	-	-	965.08	965.08	-	-
Ag3d _{5/2} *	-	-	-	-	380.08	380.08	-	-	-	380.08	380.08

* Données XPS pour le cuivre pur à zéro-valence : Cu2p_{3/2} = 933 eV et pour le cation Cu²⁺ : Cu2p_{3/2} = 934.4 eV ; XPS pour l'argent pur à zéro-valence : Ag3d_{5/2} = 368.2 eV.

Ici aussi, la diminution de l'intensité des signaux C1s XPS dans le CMC doit être due à la compaction de la structure qui réduit la libération d'électrons, étant donné que la compaction des enchevêtrements semble entraîner une atténuation du signal (Arus *et al.*, 2016a; Sennour *et al.*, 2017b; Tahir *et al.*, 2017).

De manière surprenante, le CMS a montré une décroissance plus marquée de l'intensité des signaux C1s malgré une densité de groupes CM plus faible, suggérant un enroulement accentué du biopolymère autour du cation métallique ou des MNP encapsulés. La rétention et la stabilisation des cations par les groupes

carbonyles (C=O), si elles existent, devraient impliquer uniquement des interactions plus faibles. Cela est soutenu par le faible déplacement de l'énergie de liaison (BE) observé pour les signaux O1s des interactions $\text{Cu}^{2+}:\text{O}=\text{C}$ (0.4 eV dans le CMC et 0.7 eV dans le CMS) et $\text{Ag}^+:\text{O}=\text{C}$ (0.5 eV dans le CMC et 0.5 eV dans le CMS).

4.2.5 Interaction du biopolymère avec les MNP et la montmorillonite

La rétention des MNP par les biopolymères semble impliquer une interaction plus forte -O:Metal par rapport aux cations métalliques, étant donné que l'insertion de CuNP a induit un déplacement de BE plus élevé de 0.79 eV et 1.69 eV pour les interactions $\text{Cu}^0:\text{O}=\text{C}$ et $\text{Cu}^0:\text{H}-\text{O}-\text{C}$ dans le CMC et de 1.3 eV et 1.50 eV pour les interactions $\text{Ag}^0:\text{O}=\text{C}$ et $\text{Ag}^0:\text{H}-\text{O}-\text{C}$ dans le CMS (**Tableau S3**). Ces valeurs indiquent également une interaction plus forte de Cu^0 et Ag^0 par les groupes hydroxyles que par les groupes C=O des carboxyles. Un phénomène similaire a été observé pour Cu^0 , mais la séquence inverse a été observée pour Ag^0 dans le CMS, vraisemblablement en raison d'une affinité plus forte des hydroxyles pour les CuNP par rapport au C=O dans les deux polymères. Fait intéressant, AgNP semble interagir sélectivement plus avec les hydroxyles dans le CMC, mais avec le C=O dans le CMS, confirmant ainsi le rôle clé de la structure du biopolymère.

Les échantillons NaMt/CMC et NaMt/CMS n'ont montré aucun déplacement significatif des signaux XPS Si2s, Si2p et Al2p après incorporation de Cu^{2+} et Ag^+ , ce qui est en accord avec les données sur la cellulose rapportées précédemment (Noori et al., 2021). Cela est vraisemblablement dû au fait que la rétention des cations implique principalement un échange ionique. Cela est d'autant plus plausible que la quantité de cation incorporée (1 mmol/g dans les échantillons CMC et 0.4 mmol/g dans les échantillons CMS) est bien inférieure à la capacité totale d'échange cationique des biopolymères modifiés par NaMt. Cependant, l'ajout de NaMt au CMC et au CMS induit de nouveaux signaux XPS, provenant principalement de l'interaction des MNP avec les silanols et les groupes Si-O-Si, comme déjà rapporté (Noori et al., 2021). Cela a été illustré par un déplacement de BE du signal O1s de 532.6 (NaMt) à 531,5 eV (Cu^0) et 531,6 (Ag^0). Un déplacement plus prononcé de BE a été enregistré pour le signal Si2s XPS de 154,55 eV à 152 eV (Cu^0) et 149 eV (Ag^0). Aucun déplacement de BE n'a été remarqué pour le signal Al2p XPS, suggérant une interaction MNP:Al-OH négligeable.

4.2.6 Dispersion des métaux zéro-valent

L'image TEM de Cu^0/CMC a montré une dispersion uniforme de CuNP pseudo-sphériques de 1-3 nm (**Fig. 4.3A, C**) et de particules subnanométriques ne dépassant pas 0.3 nm (**Fig. 4.3D, B**). Ag^0/CMC a montré

une taille de particule inférieure à 6 nm, principalement (environ 95%) inférieure à 4,0 nm, dont 40% de particules de 1.0–2.0 nm (**Fig. 4.4A, B**). Une telle haute dispersion doit être attribuée à la densité élevée de sites de chélation potentiels dans le CMC. Des analyses plus approfondies par spectroscopie X-ray à dispersion d'énergie (ED-XRF) de deux points différents situés dans une zone apparemment vide entre les AgNP (**Fig. 4.4A, C**) ont révélé des teneurs en AgNP de 84.3% en poids dans le point 1 et de 28% en poids dans le point 2. Cela fournit une preuve claire de la présence de sous-nanoparticules d'Ag⁰ (AgNP) à peine détectables par TEM. L'évaluation de la taille des particules à l'aide du logiciel Image-J sur le point agrandi eds2 a confirmé l'existence de AgNP subnanométriques dans la plage de 0.08 – 0.1 nm (**Fig. 4.4D**). Ici, la densité plus élevée de groupes CM du CMC semble être responsable de sa capacité de dispersion plus élevée par rapport au CMS.

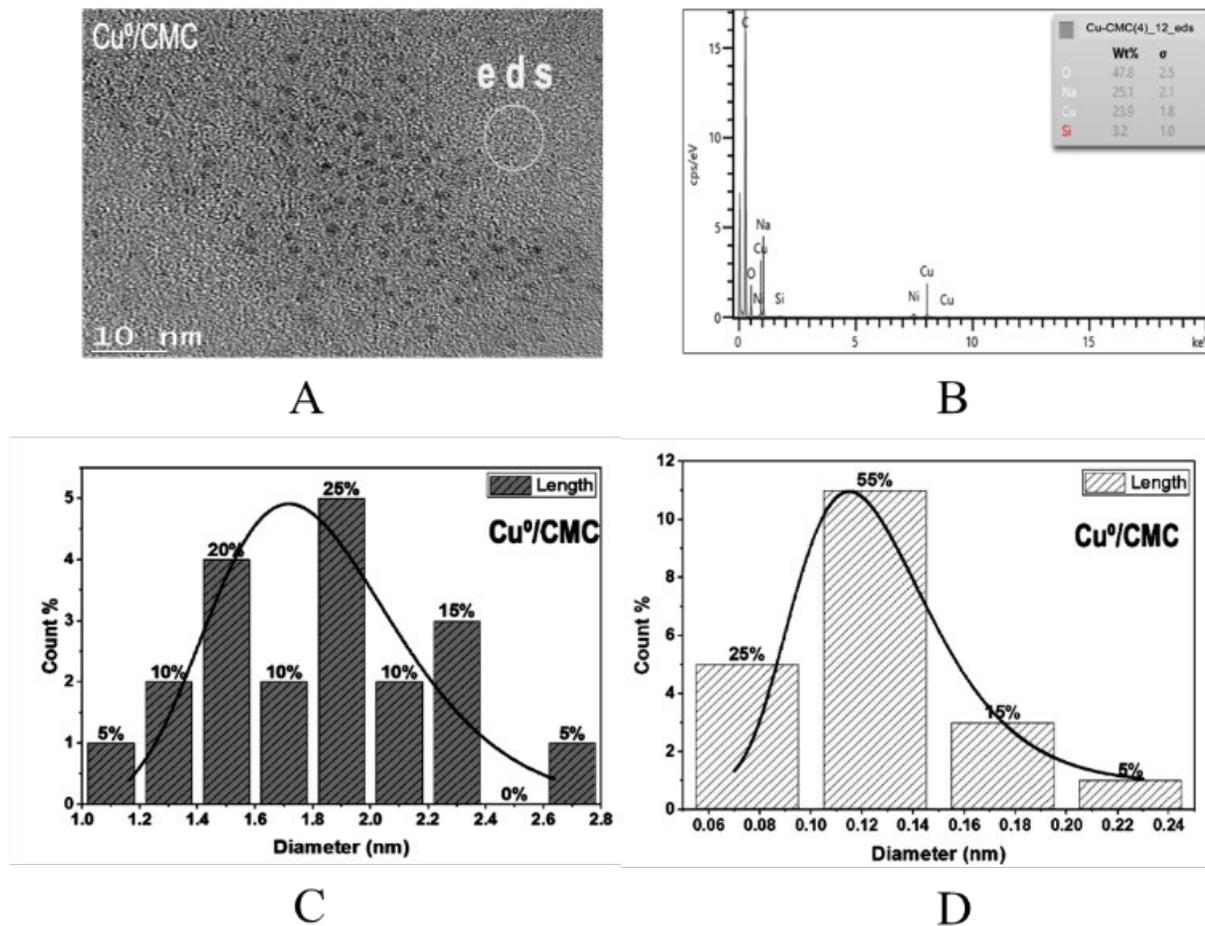


Figure 4.3. Image TEM (A), spectre ED-XRF (B) et distribution de la taille des particules Cu⁰ dans le CMC (C,D)

Comme prévu, des MNP plus volumineuses ont été obtenues dans le CMS, puisque environ 25 % des AgNP incorporés affichaient une taille de particule variant de 40 à 70 nm (**Fig. 4.4E**). Il a été observé que l'incorporation de NaMt affectait légèrement la capacité de dispersion de la matrice hôte, comme l'illustre le léger accroissement de la taille des particules (**Fig. 4.5**). Une explication possible consisterait en l'apparition d'une interaction concurrente Clay:Polymer qui réduit le nombre de groupes CM disponibles. Plus de 90 % des AgNP dispersées affichaient une taille moyenne de particule ne dépassant pas 4 nm dans CMC/NaMt (**Fig. 4.5A**) et 6 nm dans CMS/NaMt (**Fig. 4.5B**). Cela confirme, encore une fois, les rôles clés de la structure du biopolymère et de la densité des groupes de chélation dans la dispersion et la stabilisation des métaux.

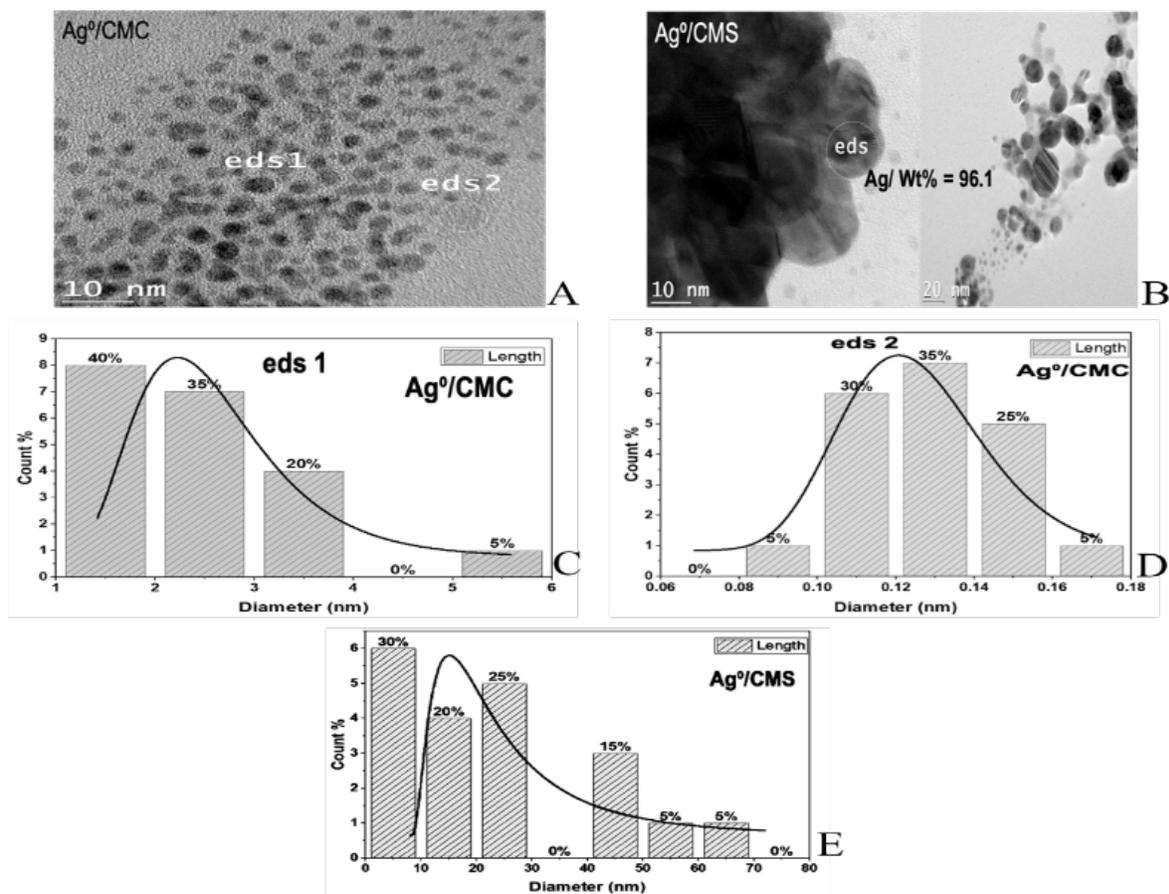


Figure 4.4. Images TEM (A, B) et distribution de la taille des particules Ag⁰ dans le CMC (C, D) et le CMS (E).

4.2.7 Effet de la structure du biopolymère et de l'incorporation des métaux sur l'activité Antibactérienne

Les tests antibactériens réalisés en triplicat n'ont révélé aucune activité antibactérienne pour les biopolymères de départ, CMC et CMS. Un aperçu qualitatif rapide des données obtenues pour les biopolymères modifiés (**Fig. S7-S8**) a révélé une amélioration significative de l'activité antibactérienne. La zone d'inhibition n'était pas circulaire (en raison de la fluidité des poudres de MNP), ce qui a entraîné une faible précision dans les mesures graphiques du diamètre de la zone d'inhibition (IZD) (**Fig. S6**). Toutefois, l'utilisation du logiciel Image-J a permis de réduire l'écart-type à 1 % (**Table S4**). L'évaluation quantitative du diamètre de la zone d'inhibition a montré une augmentation significative, apportant ainsi une preuve de l'effet bénéfique de la simple incorporation des formes métalliques, en accord avec les données précédentes (Gordon *et al.*, 2010; Noori *et al.*, 2021; Potera, 2012; Vincent *et al.*, 2018; Yun'an Qing *et al.*, 2018). Les valeurs d'IZD relativement plus élevées mesurées sur *B. subtilis* S168 indiquent une activité antibactérienne plus forte par rapport à *E. coli* DH5 α pour les deux métaux sous leurs différentes formes étudiées (**Tableau 4.3**). *B. subtilis* a présenté un IZD relativement plus élevé que *E. coli*, ce qui suggère une activité antibactérienne accrue sur *Bacillus*. Cela pourrait être attribué à la structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif, caractérisée par une couche épaisse de peptidoglycane, qui empêche la fuite de l'agent antibactérien une fois absorbé (Fu *et al.*, 2015).

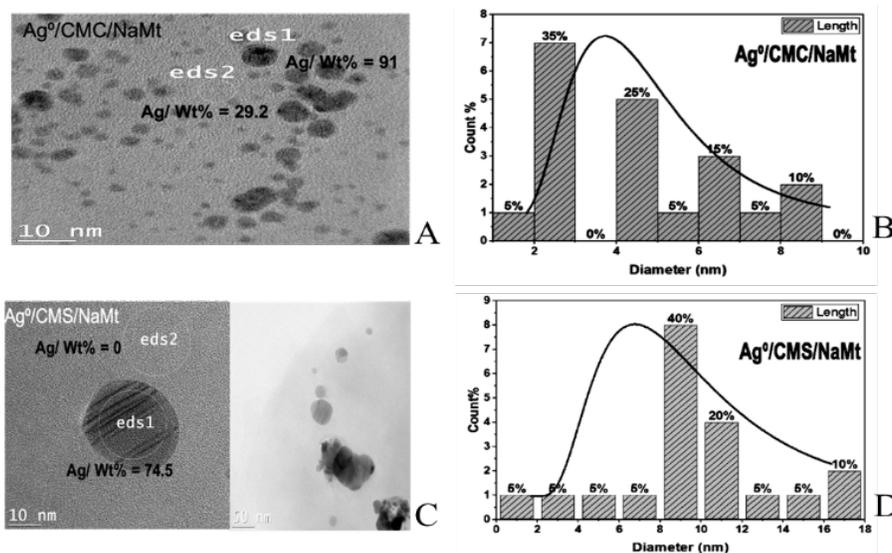


Figure 4.5. Images TEM et distribution de la taille des particules d'Ag⁰ dans CMC/NaMt (A, B) et CMS/NaMt (C, D).

L'IZD pour les souches *E. coli* DH5 α et *B. subtilis* S168 en présence de Ag⁺/CMC a atteint des valeurs maximales de 4.36 cm et 5.40 cm, respectivement. Ces valeurs ont diminué à 3.81 cm et 4.70 cm, respectivement, pour Ag⁰/CMC. Des diminutions similaires ont été enregistrées, passant de 3.06 cm et 5.00 cm pour Ag⁺/CMS à 2.54 cm et 3.81 cm pour Ag⁰/CMS.

Cette tendance générale observée pour les échantillons modifiés à l'argent, indépendamment de la structure et de la composition de la matrice, révèle une activité antibactérienne plus forte de l'argent oxydé par rapport à sa forme zéro-valent, et ce, quel que soit le biopolymère hôte.

Pour les échantillons modifiés au cuivre, cette tendance ne s'est pas maintenue, et l'activité antibactérienne semble dépendre du type et de la composition de l'échantillon. La valeur d'IZD presque deux fois plus élevée enregistrée pour Ag⁰/CMC (3.81 cm) par rapport à Cu⁰/CMC (1.7 cm) témoigne d'une plus grande efficacité antibactérienne de l'argent métallique, probablement en raison d'une libération plus facile dans le milieu liquide.

Cela est en accord avec la plus faible force de rétention des nanoparticules d'argent (AgNP), comme prédit par les mesures XPS (**Tableaux 4.2, S2-S3**). Ces données suggèrent que les valeurs d'IZD obtenues lorsque les nanoparticules sont formulées avec des polymères carboxyliques (entre 1 et 5 cm) sont supérieures à celles rapportées dans une étude précédente (Noori *et al.*, 2021) Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'association des nanoparticules métalliques subnanométriques avec des biopolymères polycarboxyliques entraîne une augmentation significative de l'efficacité antibactérienne par rapport aux mêmes nanoparticules associées uniquement à la montmorillonite ou à de la cellulose non carboxylée, comme rapporté par Noori et al. (2021). En effet, la zone de diffusion presque deux fois plus grande (1-5 cm) par rapport à la plage de 1-3 cm observée dans l'étude précédente indique un rôle clé des groupes carboxyliques dans l'amélioration de la biodisponibilité et de l'efficacité antimicrobienne des nanoparticules.

Tableau 4.3. Diamètre de la zone d'inhibition (IZD) pour les échantillons à base de CMC et CMS.

Biopolymer	Incorporated species	Samples	Inhibition zone diameter (IZD) (cm)*	
			<i>E. coli DH5α</i>	<i>B. subtilis S168</i>
CMC	None	CMC	0.00	0.00
	Metal cation	Cu ²⁺ /CMC	2.12	3.81
		Ag ⁺ /CMC	4.36	5.40
	Zero-valent metal	Cu ⁰ /CMC	1.70	4.06
		Ag ⁰ /CMC	3.81	4.70
	Montmorillonite	CMC/NaMt	0.00	0.00
	Metal cation	Cu ²⁺ /CMC/NaMt	1.50	3.90
		Ag ⁺ /CMC/NaMt	2.29	1.70
	Zero-valent metal	Cu ⁰ /CMC/NaMt	1.27	3.81
		Ag ⁰ /CMC/NaMt	2.11	1.27
CMS	None	CMS	0.00	0.00
	Metal cation	Cu ²⁺ /CMS	1.82	3.80
		Ag ⁺ /CMS	3.06	5.00
	Zero-valent metal	Cu ⁰ /CMS	3.12	4.06
		Ag ⁰ /CMS	2.54	3.81
	Montmorillonite	CMS/NaMt	0.00	0.00
	Metal cation	Cu ²⁺ /CMS/NaMt	1.00	4.50
		Ag ⁺ /CMS/NaMt	2.17	1.70
	Zero-valent metal	Cu ⁰ /CMS/NaMt	1.52	3.30
		Ag ⁰ /CMS/NaMt	1.20	0.20

* Le diamètre de la zone d'inhibition a été évalué à l'aide du logiciel Image-J.

4.2.8 Effets de la quantité de cation et du pH sur l'activité antibactérienne

L'efficacité antibactérienne plus élevée des échantillons Ag⁺/CMC et Ag⁺/CMS a nécessité une analyse approfondie de l'effet de la teneur en cations sur leur activité antibactérienne (**Fig. 4.6**). Cette dernière a été observée à travers l'augmentation du diamètre de la zone d'inhibition (IZD) avec l'augmentation de la teneur en cations. Cette augmentation a atteint un plateau à 0.2 mol/L pour Ag⁺/CMC et Ag⁺/CMS, correspondant à une activité antibactérienne maximale pour les deux souches bactériennes. Ce résultat surprenant démontre clairement qu'une faible teneur en Ag⁺ est suffisante pour compenser l'effet néfaste de la faible capacité de rétention du CMS. Cependant, cette observation ne peut pas être généralisée à d'autres métaux ou valences métalliques.

Une étude plus approfondie sur le rôle du pH a révélé un effet bénéfique de l'augmentation du pH initial sur l'activité antibactérienne, comme en témoigne l'augmentation du diamètre de la zone d'inhibition pour les biopolymères modifiés par l'argent (**Fig. 4.7A**). Ce résultat était prévisible, étant donné que l'élévation du pH avait déjà été associée à une augmentation du potentiel Zêta et à une réduction de la taille des

particules du matériau. Cela démontre sans équivoque que la haute dispersion de l'agent antibactérien est un facteur clé et que l'activité antibactérienne repose sur des échanges entre la surface solide, le milieu aqueux et la membrane bactérienne.

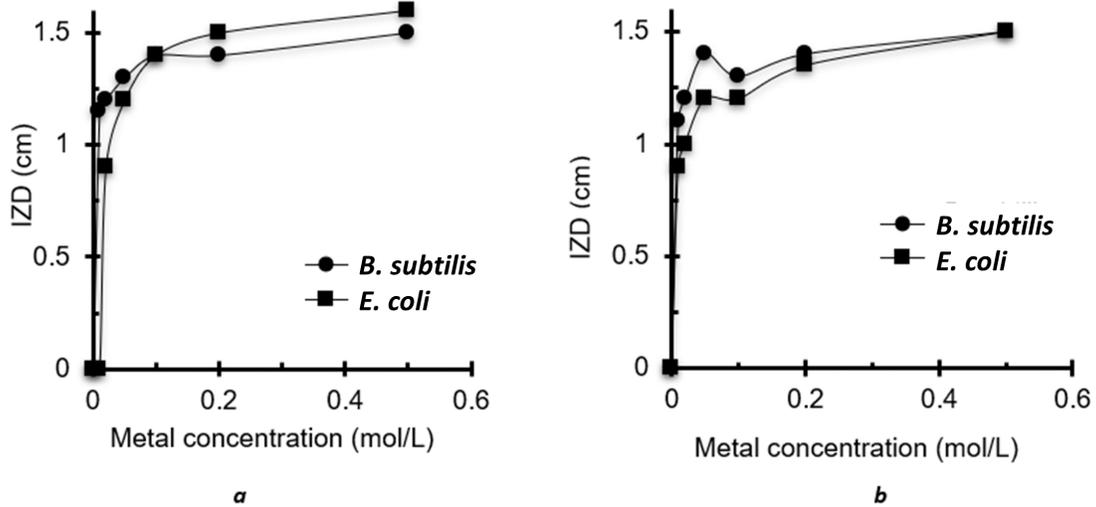


Figure 4.6. Diamètre de la zone d'inhibition en fonction de la quantité d'Ag⁺ chargée sur CMC (A) et CMS (B).

Cette observation a été confirmée en corrélant le pH initial intrinsèque induit par chaque échantillon antibactérien avec le diamètre de la zone d'inhibition (IZD) (Fig. 4.7B). En effet, mis à part quelques exceptions liées aux rôles de la structure et de la composition chimique des échantillons étudiés, il apparaît clairement que les échantillons induisant un pH plus élevé dans le bouillon de culture présentent une activité antibactérienne plus marquée. Ce phénomène peut au moins partiellement expliquer l'effet du pH, dont l'augmentation favoriserait une ionisation accrue des groupes carboxyliques.

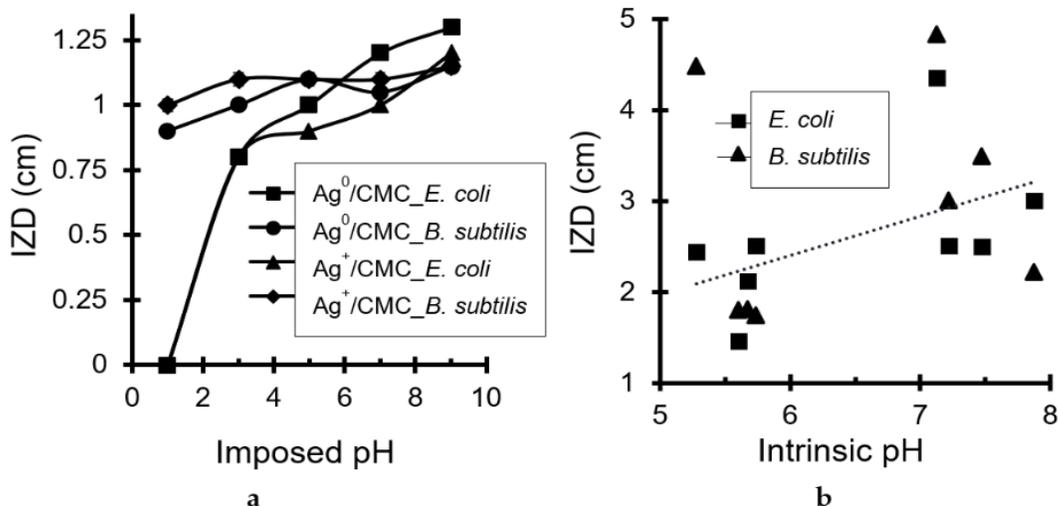


Figure 4.7. Dépendance du diamètre de la zone d'inhibition (IZD) en fonction du pH initial imposé (A) et du pH intrinsèque des biopolymères chargés en métal (B).

4.2.9 Effets de la dispersion des matériaux et des métaux sur l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne dépend fortement de la taille des particules des échantillons, du degré de substitution (DS) des polymères et des charges de surface. Comme prévu, les valeurs les plus élevées de IZD ont été obtenues pour les échantillons de CMC présentant les tailles de particules métalliques et de matériaux les plus fines (**Fig. 4.8A**). Une augmentation de la taille des particules entraîne une diminution des valeurs de IZD. L'explication la plus probable réside dans la capacité supérieure du CMC à disperser les nanoparticules métalliques (MNP), même à l'échelle subnanométrique, comme l'ont montré les analyses TEM/ED-XRF (**Fig. 4.3-4**). Cela concorde avec la tendance générale d'augmentation de IZD avec l'augmentation de la charge de surface (**Fig. 4.8B**).

Des tests de viabilité supplémentaires réalisés sur *E. coli* avec des concentrations d'échantillons de 0.1 et 1 mg/mL ont montré une évolution marquée de l'activité antibactérienne au fil du temps (**Fig. 4.9**). Il apparaît clairement que l'augmentation de la concentration en matériau dans le bouillon de culture de 0.1 mg/mL à 1 mg/mL a entraîné une quasi-élimination des bactéries après 24 heures d'incubation.

La combinaison NaMt-biopolymère a montré une activité antibactérienne plus faible que les échantillons à base de biopolymères seuls, comme en témoignent les valeurs de IZD plus basses. Cela s'explique par les interactions compétitives entre le minéral argileux et le polymère, impliquant une participation partielle des groupes CM dans la formation de ponts hydrogène.

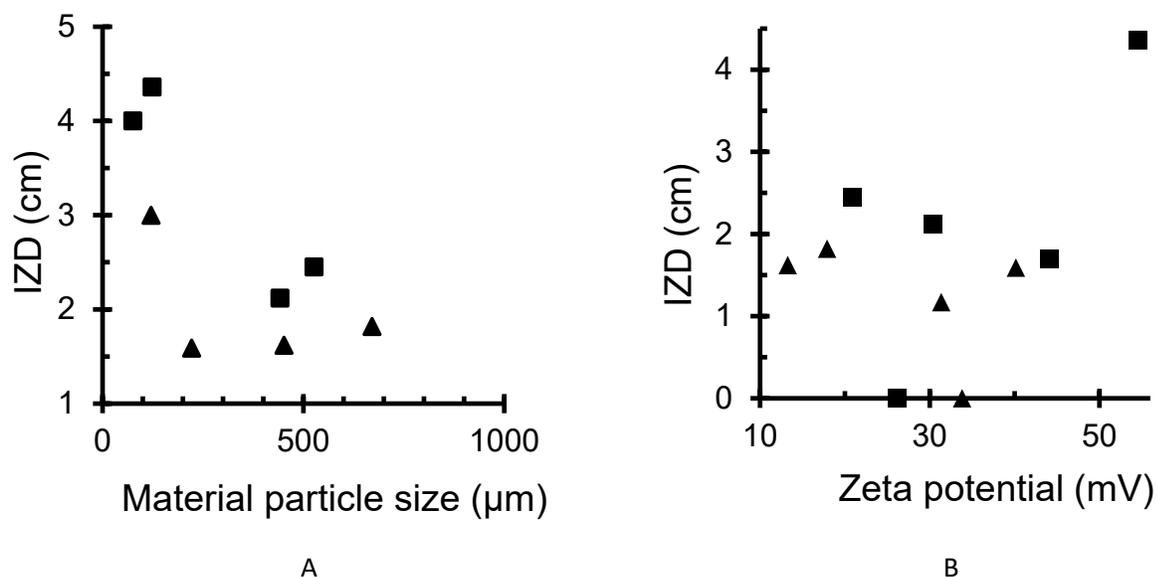


Figure 4.8. Effet de la taille des particules du matériau (A) et du potentiel zêta (B) sur le diamètre de la zone d'inhibition (IZD). En carré noir : Échantillons à base de CMC, incluant Cu²⁺/CMC, Cu⁰/CMC, Ag⁺/CMC et Ag⁰/CMC. En triangle noir : Échantillons à base de CMS, incluant Cu²⁺/CMS, Cu⁰/CMS, Ag⁺/CMS et Ag⁰/CMS.

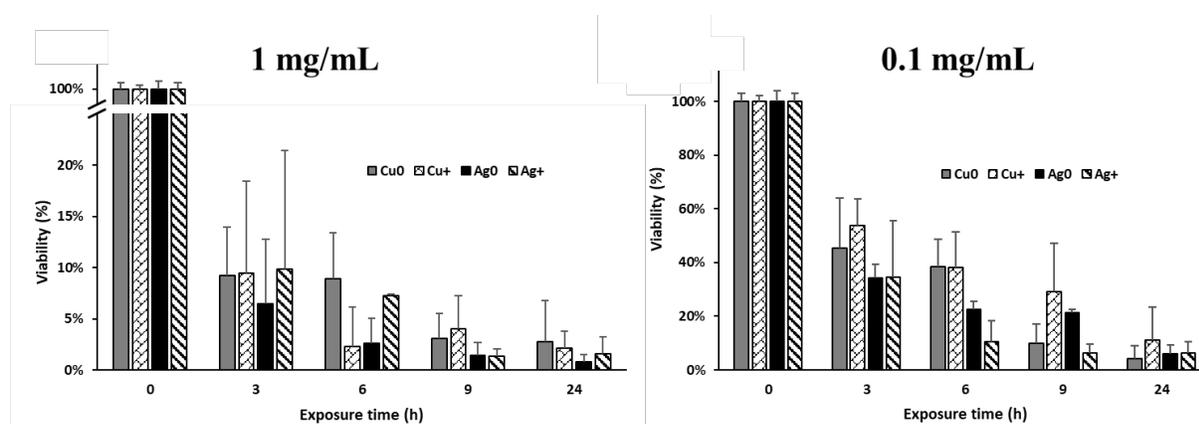


Figure 4.9. Évolution de la viabilité d'E. coli en présence des échantillons CMC.

Cela devrait entraîner une expansion favorable de la structure qui permet un échange facile avec le milieu imprégnant. Cependant, cet effet doit être atténué par la formation nuisible de MNPs plus volumineux, comme déjà montré par TEM (Fig. 4.5). Un phénomène presque similaire a été observé pour les échantillons à base de CMS, mais avec quelques exceptions. Ces exceptions peuvent être dues au faible

nombre de groupes CM, montrant ainsi la dépendance étroite entre la valeur du DS du biopolymère et les quantités de métal et de minéral argileux incorporés. Cela reste à élucider davantage par des recherches plus approfondies dans cette direction.

4.3 Conclusion

Les nanoparticules de cuivre et d'argent, sous forme de cation et de zéro-valent, lorsqu'elles sont formulées avec la cellulose CM ou l'amidon CM, présentent une efficacité antibactérienne nettement plus élevée par rapport aux nanoparticules du même métal lorsqu'elles ne sont pas formulées avec les biomatériaux polycarboxyliques. Les fonctions carboxyméthyl gouvernent les charges de surface qui déterminent la dispersion du biopolymère dans les milieux aqueux en fonction du pH. La densité de ces groupes chélatants influence fortement la force de rétention des métaux et leur dispersion dans les matrices hôtes. Les interactions Cation:Biopolymère et MNP:Biopolymère impliquent les atomes d'oxygène des groupes OH et carboxyles. La dispersion des biopolymères modifiés dans les milieux de culture s'est également révélée être un facteur clé, favorisant les processus d'échange avec les bactéries environnantes. L'incorporation de minéraux argileux a été trouvée pour affecter la capacité de dispersion de la matrice hôte en raison de l'apparition d'interactions concurrentes Clay:Polymer. L'activité antibactérienne dépend fortement de la quantité de métal incorporé, mais uniquement jusqu'à un certain niveau. Le cation argent a montré une activité antibactérienne supérieure à celle de sa forme zéro-valente, ce qui s'est avéré plus efficace que le cuivre zéro-valent en raison d'une rétention plus faible. Ces résultats offrent des bases prometteuses pour la conception de biopolymères chargés de métaux efficaces à des fins biomédicales et biotechnologiques.

Remerciements

Ce travail a été soutenu par le NSERC (au Pr. Mircea A. Mateescu). Les auteurs remercient Dr. Lihong Shang (Université McGill) pour l'assistance technique pour les XPS et Dr. Jean-Philippe Massé (Polytechnique Montréal) pour les TEM et ED-XRF.

CHAPTER 5

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les résultats de la présente recherche doctorale ont permis de conclure que l'objectif principal, consistant en la synthèse de matériaux antibactériens chargés en métal, a été atteint et que l'étude de l'interaction métal-matrice (IMM) et du comportement des matériaux en milieu aqueux s'est avérée être une approche judicieuse pour comprendre le rôle des métaux dans l'activité antibactérienne. Ces résultats ont également fourni des preuves que l'incorporation des formes cationiques et de valence zéro des métaux (cuivre et argent) est responsable de l'activité antibactérienne induite, et que l'IMM optimale et la dispersion des matériaux dans les milieux liquides améliorent la surface de contact. Cette dernière semble jouer le rôle le plus important dans l'activité antibactérienne. Plus la taille des particules des métaux dispersés dans la matrice et du matériau dans le milieu aqueux est petite, plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand. Les deux métaux étudiés, sous leurs formes cationiques et de valence zéro, ont montré une interaction en tant qu'acides de Lewis avec les paires d'électrons libres des atomes d'oxygène appartenant aux groupes fonctionnels $-OH$ ou CO_2H de la matrice hôte. Un effet biocide optimal devrait être favorisé par une meilleure accessibilité des métaux à la surface de contact dans le milieu aqueux infecté. L'activité antibactérienne est expliquée en termes de force optimale de rétention des métaux par la matrice hôte, afin d'éviter simultanément l'agrégation des métaux en amas plus gros et de permettre une libération facile des métaux. Par conséquent, un compromis judicieux entre une interaction forte [$-HO:metal$] favorisant la stabilité du matériau pour le stockage et une interaction suffisamment forte [$H_2O:metal$] permettrait une meilleure dispersion du matériau dans le milieu aqueux de culture et un meilleur contact avec la paroi cellulaire des bactéries. À ce stade de la recherche, des investigations sont toujours en cours pour déterminer si l'activité antibactérienne nécessite la libération de métaux au niveau de la paroi cellulaire, dans la mesure où les résultats actuels montrent déjà l'effet bénéfique d'une faible force de rétention des métaux par la matrice. La découverte de la morphologie de surface et des propriétés physico-chimiques de la Na-montmorillonite et du tissu de cellulose utilisés comme matrices hôtes a constitué une étape clé pour corrélérer la libération des métaux, le cas échéant, avec l'activité antibactérienne.

Plus précisément, la première étape de cette recherche doctorale a permis d'en tirer des conclusions précieuses, parmi lesquelles les plus importantes sont les suivantes :

- Le changement de couleur de la suspension des matériaux chargés en métal et la spectroscopie photoélectronique à rayons X ont fourni des preuves claires de la conversion des cations métalliques en formes de valence zéro en présence de NaBH_4 .
- La dispersion des métaux dans NaMt et CT a également été confirmée par une transition de la morphologie de surface de la matrice hôte, passant de douce à l'apparition de grains sphériques avec une taille de particules inférieure à 100 nm.
- La dispersion non uniforme des grains métalliques dans CT a confirmé la présence d'une interaction faible entre CT et MNP en raison de la faible densité de surface des groupes hydroxyles.
- Les échantillons à base d'argent ont montré une activité antibactérienne inférieure à celle des échantillons de cuivre.
- L'incorporation du dendrimère Boltorn H20 dans NaMt a induit une amélioration marquée de la dispersion des métaux grâce aux groupes OH de la surface de l'argile et à l'enchevêtrement du dendrimère, ainsi qu'à la formation d'interactions ternaires [NaMt–polyol–MNP].
- Les CuNP ont montré une capacité de dispersion plus élevée que les AgNP avec des particules de taille inférieure à 1 nm.
- La contribution de NaMt à la stabilisation des métaux implique une interaction acide-base de Lewis entre les MNP et les atomes d'oxygène du réseau ($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$ ayant une forte basicité de Lewis) ainsi que les groupes OH des silanols ($\text{Si}-\text{OH}$) de la surface, comme l'indiquent les mesures XPS.
- L'interaction forte entre les AgNP et les groupes OH et leur activité antibactérienne plus faible par rapport aux CuNP suggèrent une tendance plus faible à la libération d' Ag^0 .
- La dispersion des métaux réduit la basicité et le caractère hydrophile de la surface hôte en raison de l'implication des groupes OH dans la stabilisation des métaux.
- L'interaction métal-NaMt implique les paires d'électrons des atomes d'oxygène du réseau dans les groupes siloxy ($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$) et silanol ($\text{Si}-\text{OH}$).
- Le signal asymétrique XPS pour CuNP/NaMt a révélé une interaction multiple de Cu^0 avec les groupes fonctionnels de NaMt.

- Les CuNP montrent une meilleure dispersion et une taille de particules plus petite sur NaMt par rapport aux AgNP.
- La diminution plus prononcée de l'énergie de liaison O1s induite par l'incorporation d'Ag⁰ dans H2O indique une rétention plus forte dans l'enchevêtrement du dendrimère par rapport aux CuNP.
- Les deux métaux, sous leurs deux formes, n'ont induit aucun décalage de l'énergie de liaison C1s et O1s dans le composite CT-H2O, suggérant que les interactions MNP:CT et MNP:H2O, le cas échéant, doivent être négligeables.
- La diminution de l'intensité du signal C1s des groupes C–O–C et C–C témoigne d'une compaction de l'enchevêtrement dendritique autour des MNP.
- L'incorporation de CuNP dans CT et Boltorn H2O réduit l'énergie de liaison O1s en raison de l'interaction [–HO:Cu⁰].
- L'insertion de MNP dans le dendrimère Boltorn H2O induit une intensité de signal XPS plus élevée que dans CT en raison d'une densité plus élevée de groupes hydroxyles.
- L'interaction [–HO:MNP] semble gouverner simultanément la stabilisation des MNP via la compaction de l'enchevêtrement et la libération des MNP via la « relaxation » de l'enchevêtrement sous l'interaction compétitive [–HO:Eau] en fonction du pH du milieu aqueux.
- La NaMt sans métal, H2O et NaMt-H2O ne montrent aucune activité antibactérienne, mais l'incorporation de MNP s'avère bénéfique à cet égard.
- Les Cu⁰/NaMt et Ag⁰/NaMt montrent une activité antibactérienne presque comparable contre *B. subtilis*, mais inférieure pour Cu⁰/NaMt en présence de *E. coli*.
- Le composite H2O-NaMt chargé en MNP montre une activité antibactérienne plus améliorée par rapport à ses composants séparés, en raison d'un effet synergique de la dispersion du dendrimère sur la surface de l'argile et de la dispersion des MNP sur les deux composants.
- Une activité antibactérienne plus élevée a été observée contre le *B. subtilis* Gram-positif par rapport à l'*E. coli* Gram-négatif, probablement en raison de la structure spécifique de la paroi cellulaire de *Bacillus* avec une couche épaisse de peptidoglycane et une quantité abondante de pores.
- La dispersion des matériaux chargés en métal dans l'eau est un facteur clé pour améliorer la surface de contact entre les métaux stabilisés et les milieux infectés.

- Les petites tailles de particules des MNP et de la suspension du matériau chargé en métal dans les milieux aqueux semblent être une exigence essentielle pour l'amélioration de l'activité antibactérienne.
- Un ZP élevé améliore les forces de répulsion entre les particules d'argile et améliore la dispersion du matériau ainsi que l'activité antibactérienne.

Ces résultats ont ouvert la voie à une compréhension plus approfondie de l'effet de la taille des matériaux et des particules pour d'autres matrices hôtes chargées en métal à base de biopolymères carboxylés. À cet égard, la première étape de cette recherche doctorale a non seulement permis de confirmer la plupart des conclusions précédentes, mais aussi de fournir des résultats supplémentaires, parmi lesquels les plus importants sont les suivants :

- La cellulose carboxyméthylée (CM-cellulose) et l'amidon carboxyméthylé (CM-starch) agissent comme des matrices hôtes efficaces pour des SMNPs fortement dispersés, induisant une amélioration plus marquée de l'activité antibactérienne par rapport à NaMt, CT et CT-NaMt. Cela semble être dû à la structure particulière des biopolymères CM qui contient à la fois des groupes carboxyméthyle et des groupes hydroxyles.
- Le degré de substitution du biopolymère, défini comme le nombre de groupes CM, régit la quantité de métal incorporé, les charges de surface et la dispersion des métaux avec l'enchevêtrement du biopolymère ainsi que du biopolymère chargé en métal dans les milieux aqueux.
- La dispersion des biopolymères chargés en métal dans les milieux aqueux s'est révélée être un facteur clé qui favorise l'activité antibactérienne.
- La combinaison de biopolymères avec la montmorillonite semble affecter la dispersion du matériau dans les milieux aqueux, probablement en raison des interactions compétitives nuisibles entre l'argile et le polymère.
- Le potentiel zêta plus élevé observé pour la CMC par rapport à la CMS est dû à la densité de surface élevée des groupes CM. Cela induit une dispersion plus élevée des métaux au sein de l'enchevêtrement du biopolymère et une taille de particules plus petite pour la CMC en raison de forces de répulsion électrostatiques plus fortes.
- L'insertion du cation cuivre et, dans une moindre mesure, du cation argent, réduit le potentiel zêta et le pH en raison du pouvoir de polarisation plus élevé de Cu^{2+} pour dissocier les molécules d'eau environnantes, générant des protons supplémentaires.

- La dispersion nulle des métaux augmente le potentiel zêta en raison de l'augmentation induite du ZP. L'interaction LAB des métaux avec les atomes d'oxygène des groupes CM conduit à leur déprotonation.
- Il existe une proportionnalité presque linéaire entre le potentiel zêta et le pH, mais une proportionnalité inverse avec la taille des particules grâce aux forces de répulsion renforcées et à la dispersion du matériau.
- L'augmentation de l'intensité du signal O1s XPS induite par l'incorporation des deux métaux sous leurs deux formes de valence est un indicateur précis de l'implication des atomes d'oxygène des groupes CM dans la stabilisation des métaux. Ce décalage a été plus prononcé pour CMC que pour CMS en raison de sa densité plus élevée de groupes CM.
- Le fait que les déplacements de l'énergie de liaison des signaux C1s pour les deux CMC et CMS aient été négligeables suggère qu'il n'y a pas de contribution directe des atomes de carbone dans la dispersion des métaux.
- La diminution prononcée de l'intensité C1s observée pour CMS suggère une compaction marquée du biopolymère autour du cation métallique encapsulé ou des MNP.
- La dispersion des MNP a induit un déplacements l'énergie de liaison plus prononcé pour les électrons O1s et une interaction plus forte [-O:Métal-Zéro-Valent] par rapport aux cations métalliques.
- Les données XPS ont permis de conclure que les CuNP présentent une plus grande affinité pour les hydroxyles par rapport au C=O dans les deux polymères, tandis que les AgNP ont interagi sélectivement avec les hydroxyles dans CMC et avec les groupes C=O dans CMS.
- La densité plus élevée de groupes CM dans le biopolymère CMC a entraîné une plus grande dispersion des métaux zéro, même à une échelle sub-nanométrique.
- La combinaison NaMt-Biopolymère a induit une légère augmentation de la taille des particules métalliques en raison de l'augmentation de l'interaction compétitive [Clay:Biopolymère] au détriment de l'interaction [Métal:Biopolymère].
- L'incorporation d'Ag⁰ et de Cu⁰ dans le biopolymère a induit une activité antibactérienne.
- En règle générale, les deux biopolymères chargés en métal ont montré une activité antibactérienne plus élevée contre B. subtilis S168 que contre E. coli DH5a. Cette activité semble être renforcée par l'augmentation de la teneur en métal.

- Les cations ont montré une activité antibactérienne plus élevée par rapport à Ag^0 , quel que soit le biopolymère.
- La rétention plus faible des AgNP par la CMC, évaluée par les données XPS, a produit une activité antibactérienne plus élevée par rapport aux CuNP.
- La plus grande activité antibactérienne des biopolymères chargés en métal par rapport aux NaMt chargés en métal et aux NaMt-cellulose chargés en métal peut être expliquée par la taille plus fine des particules métalliques, principalement inférieure à 1 nm.
- L'augmentation du pH initial dans les milieux infectés en présence de biopolymères chargés en métal a permis d'améliorer l'activité antibactérienne, mais des recherches plus approfondies sont nécessaires pour éclaircir la contribution de la diminution de la taille des particules et/ou d'un effet biocide des changements de pH.
- Une concentration optimale de 1 mg/mL de biopolymères chargés en métal a permis d'obtenir une élimination totale des deux souches bactériennes.

Par conséquent, l'activité antibactérienne des matrices chargées en métal s'avère être un phénomène de surface impliquant des processus d'échange entre une surface solide, un milieu aqueux et la membrane bactérienne. De tels processus d'échange nécessitent des surfaces de contact plus grandes qui dépendent fortement de la structure et du comportement du matériau dans les milieux aqueux. Toutes ces découvertes précieuses, publiées sous forme de deux articles, ainsi que des aspects plus approfondis sur des processus d'échange de surface, devraient fournir des connaissances fondamentales pour concevoir des matrices hôtes chargées en métal efficaces, à faible coût et biodégradables pour des applications biomédicales et biotechnologiques spécifiques. Des recherches plus poussées devraient être poursuivies dans cette direction.

ANNEXE A

Informations complémentaires pour l'article 1

Aperçus sur le rôle de la rétention des métaux dans le comportement antibactérien des nanoparticules de cuivre et d'argent soutenues par de la montmorillonite et du tissu de cellulose

Farzaneh Noori et al.

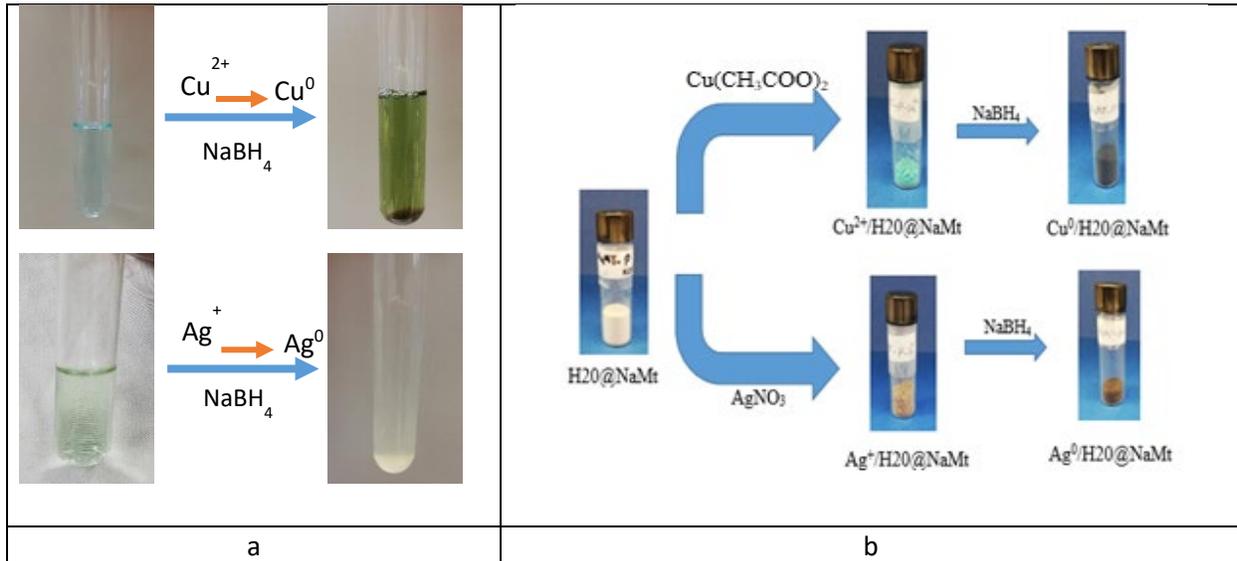


Fig. S1. Changements de couleur après la réduction de Cu^{2+} et Ag^+ en présence de NaBH_4 (a) et changements de couleur des composites $\text{H}_2\text{O}@\text{NaMt}$ après l'incorporation de MNPS et de cations (b).

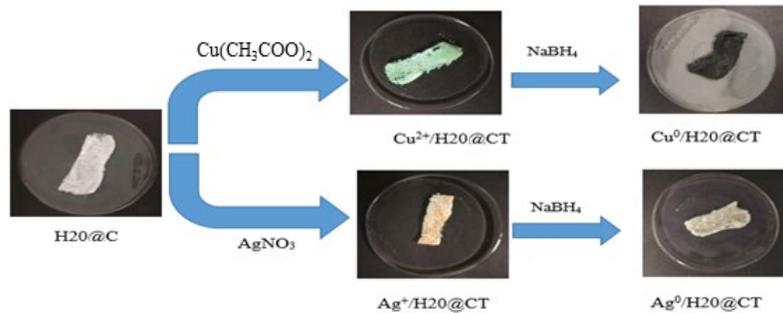


Fig. S2. Changements de couleur des échantillons à base de cellulose après la dispersion des cations métalliques et des nanoparticules métalliques, avec ou sans la présence de NaBH_4 respectivement.

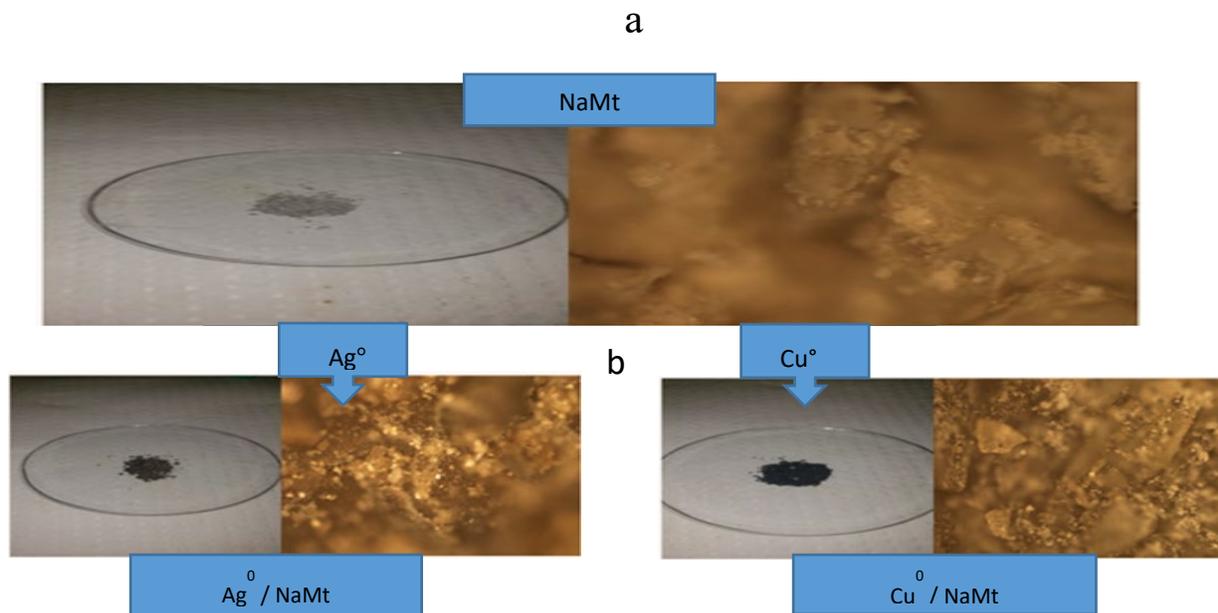


Fig. S3. Changements de couleur et images de microscopie optique de NaMt non traité (a) et de NaMt chargé de MNP (b).

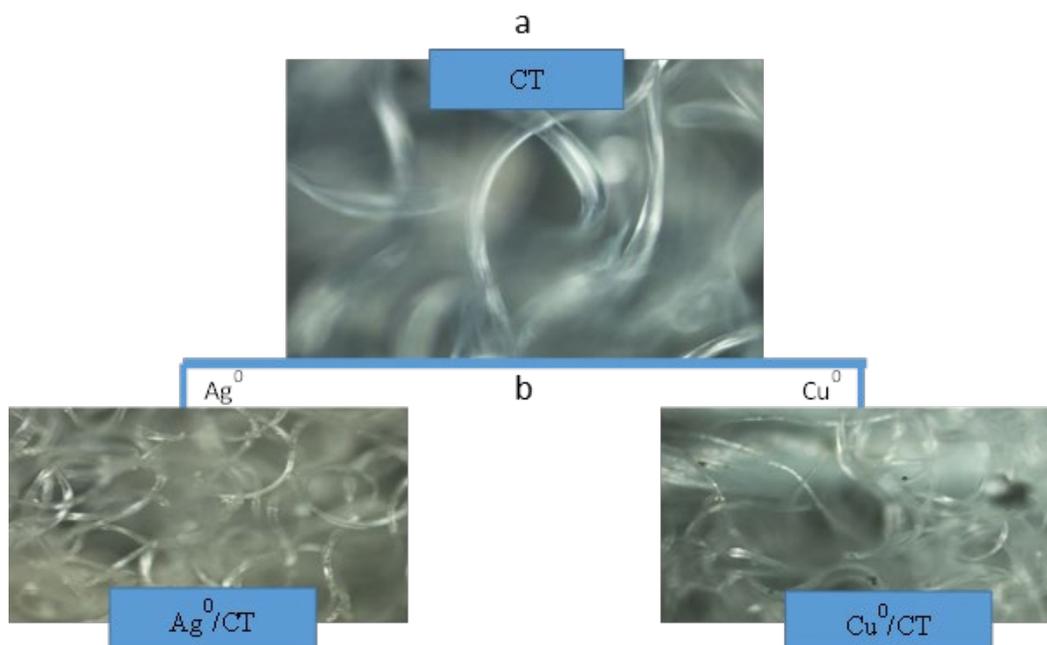


Fig. S4. Changements de couleur et image de microscopie optique de CT non traité (a) et de CT chargé de MNP (b).

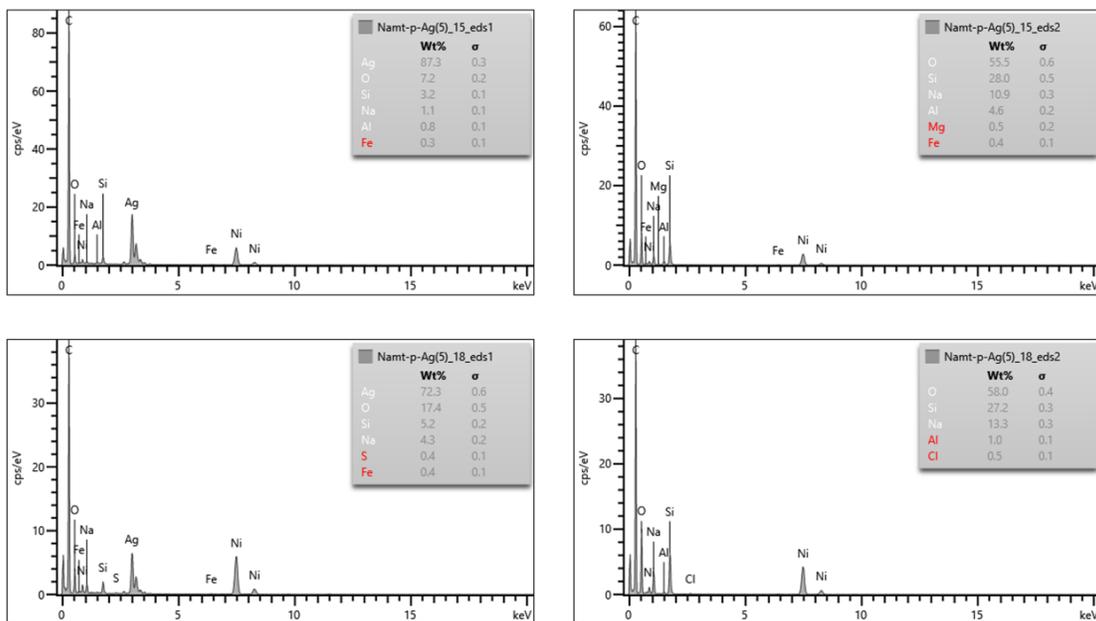


Fig. S5. Spectres ED-XRF de certains points sur les images SEM de Ag⁰/Boltorn H2O-NaMt.

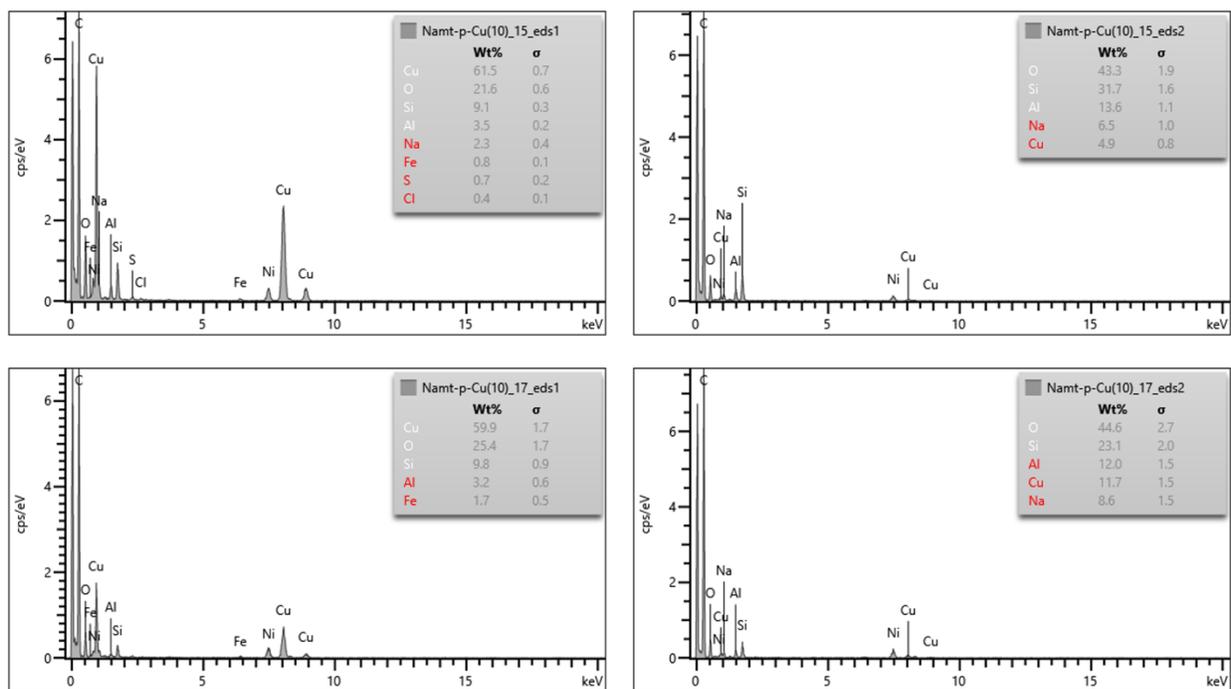


Fig. S6. Spectres ED-XRF de certains points sur les images SEM de Cu⁰/Boltorn H2O-NaMt.

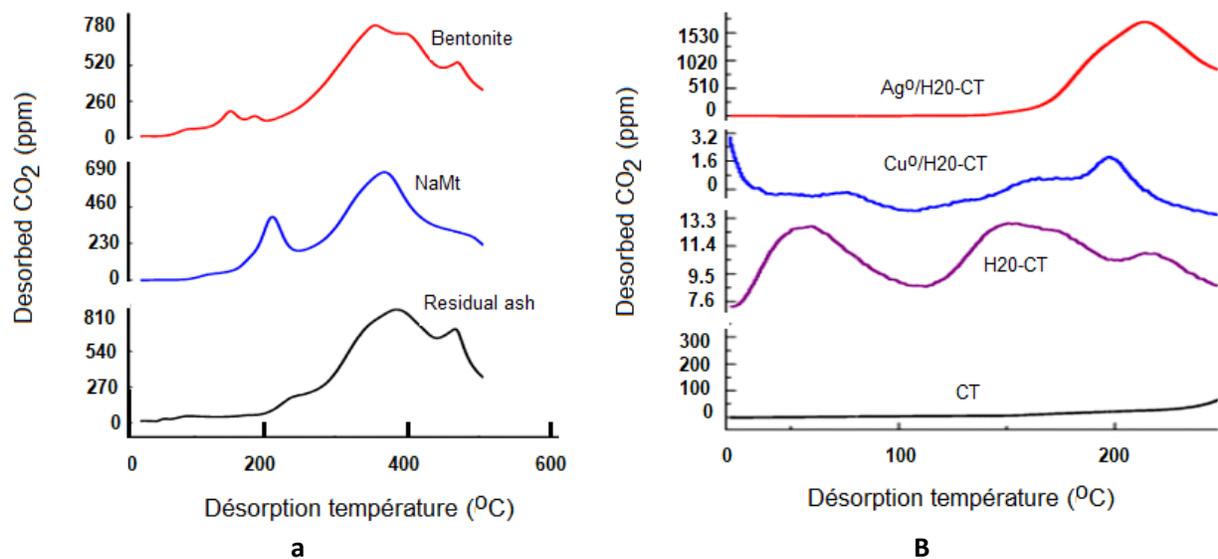


Fig. S7. Profils CO₂-TPD des échantillons à base d'argile (a) et des échantillons à base de CT (b).

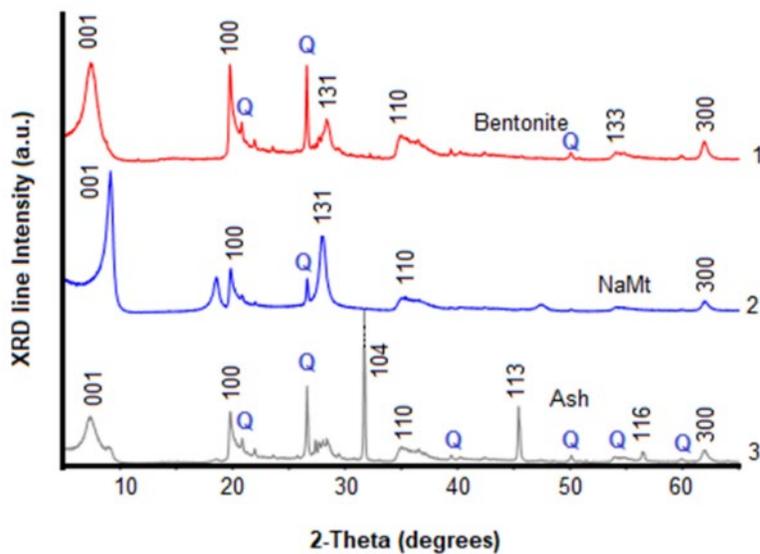


Fig. S8. Profils XRD de la bentonite (1), du NaMt (2) et des cendres résiduelles issues de la purification de la bentonite (3).

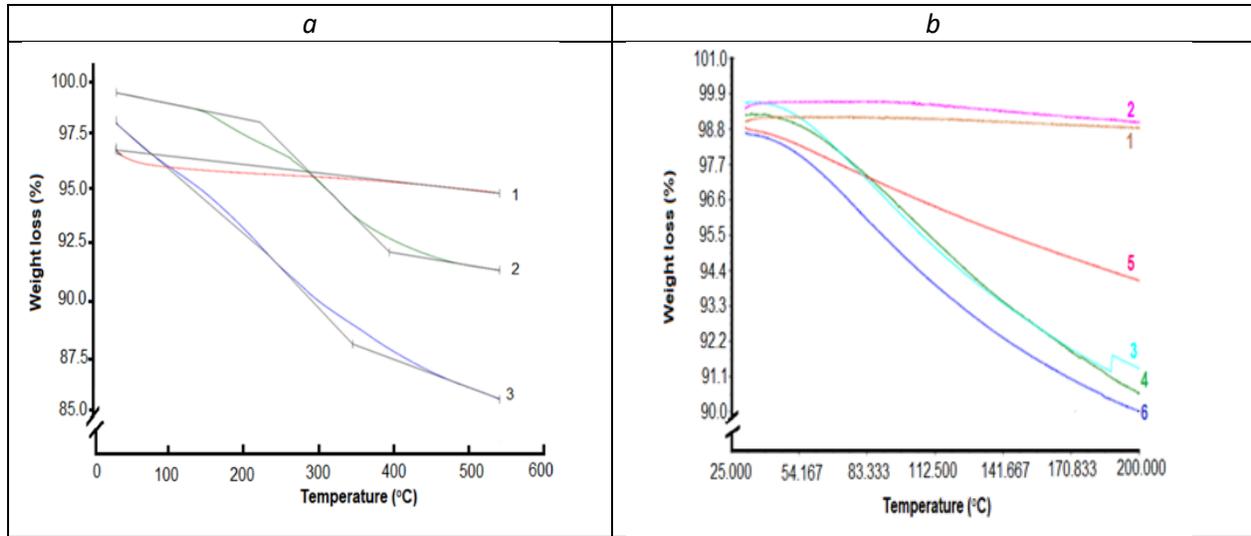


Fig. S9. Profils TGA de (a) échantillons à base d'argile : NaMt (1), CuO/NaMt (2) et AgO/NaMt (3) et de (b) matériaux à base de cellulose : CT (1), H2O-CT (2), CuO/CT (3), AgO/CT (4), CuO/H2O-CT (5) et AgO/H2O-CT (6). Les profils TGA ont été enregistrés entre 25 et 700 °C pour les échantillons à base d'argile et entre 25 et 200 °C pour les matériaux à base de CT.

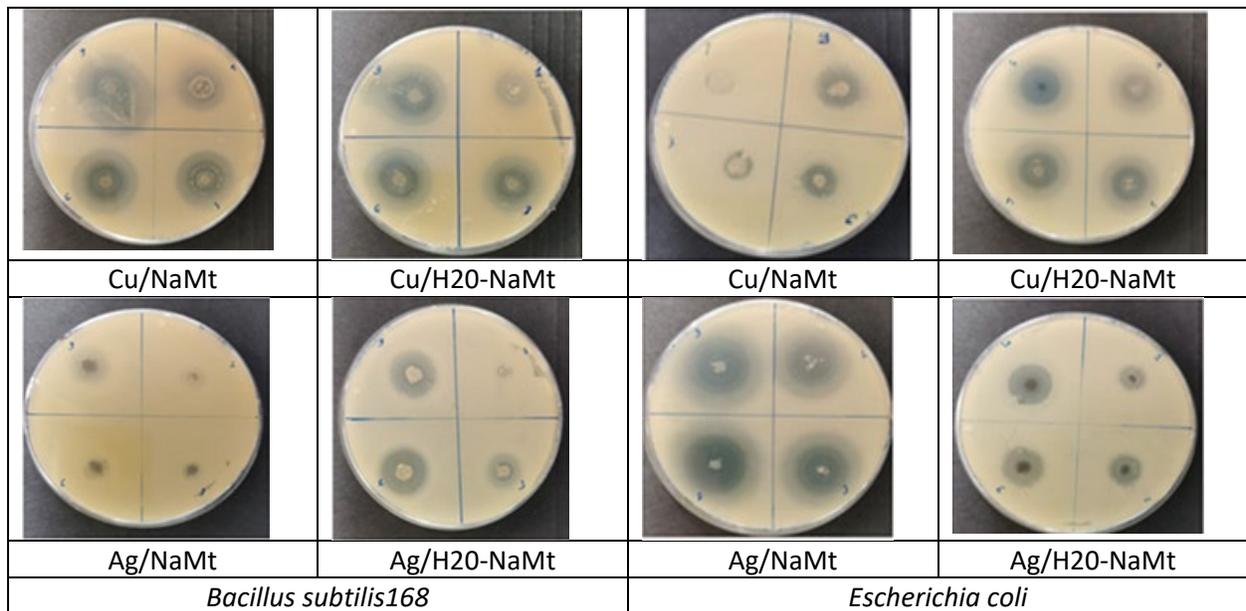


Fig. S10. Inhibition zones in *Bacillus subtilis168* proliferation in the presence of NaMt (a) and metal-loaded H2O/NaMt composites (b).

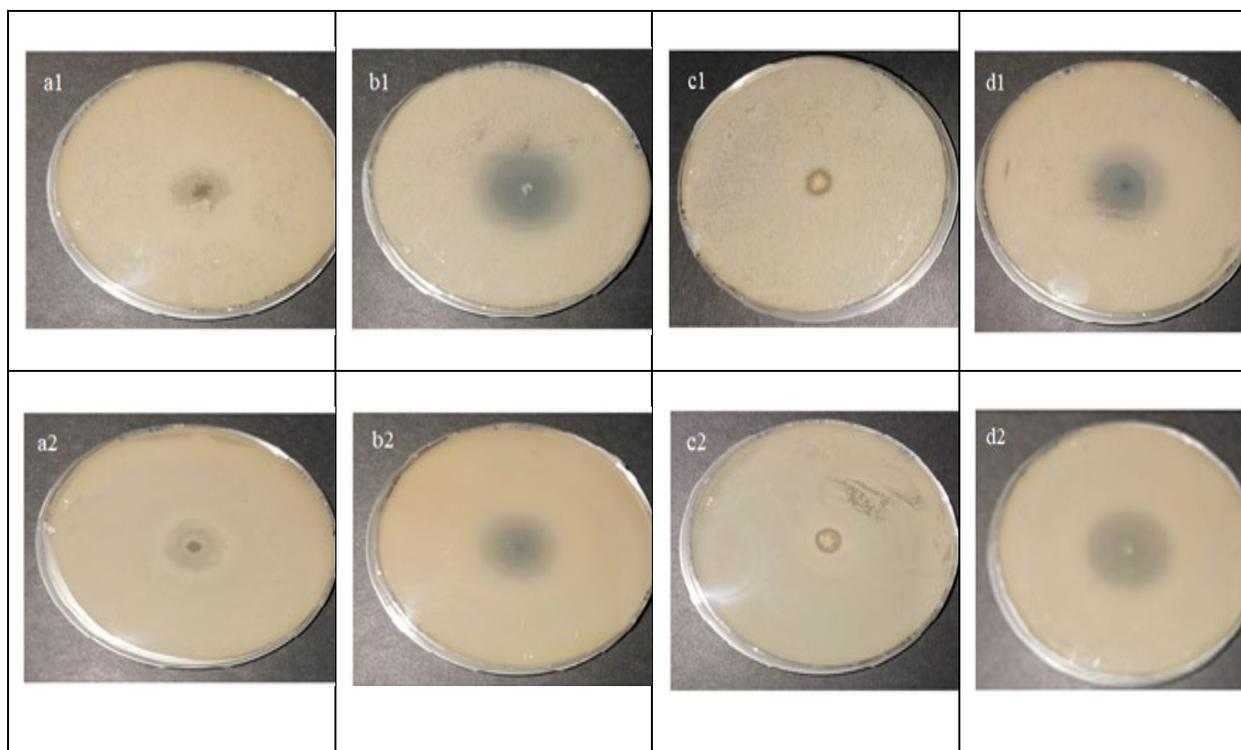


Fig. S11. Test antibactérien des échantillons à base d'argile organique chargés en MNP. *Escherichia coli* (a1, b1, c1 et d1), *Bacillus subtilis* 168 (a2, b2, c2 et d2) ont été incubés pendant 24 h à 37 °C avec 5 mg de Ag⁰/H2O@NaMt (a1-2) ; Cu⁰/H2O@NaMt (b1-2) ; Ag⁺/H2O@NaMt (c1-2) et Cu²⁺/H2O@NaMt (d1-2).

Tableau S1. Potentiel Zeta, taille des particules et diamètre de la zone d'inhibition des échantillons à base d'argile.

Samples	Zeta potential (mV)*	Particle size (nm)**	pH	Inhibition zone diameter (cm)	
				<i>E. coli</i> DH5α	<i>B. subtilis</i> 168
NaMt	-26.56	342.7	6.01	0	0
Boltorn H2O	-28.57	201.2	4.62	0	0
Cu ⁰ /NaMt	-23.19	221.2	9.28	1.40	1.83
Ag ⁰ /NaMt	-28.31	152.7	9.08	1.87	1.83
H2O-NaMt	-38.12	373.7	7.59	0	0
Cu ⁰ /H2O-NaMt	-26.91	164.2	9.25	1.77	1.83
Ag ⁰ /H2O-NaMt	-27.21	127.6	9.16	1.07	1.50

* L'erreur moyenne sur le potentiel Zeta = 6.7 % ; **l'erreur moyenne sur la taille des particules = 5.7 %.

Tableau S2. Diamètres des zones d'inhibition (cm) pour différentes quantités d'échantillons d'argile chargés en métal.

Samples	<i>B. subtilis</i> 168				<i>E. coli</i> DH5 α			
	1	3	6	9	1	3	6	9
Concentrations (mg powder)								
NaMt-Cu ⁰	2.0	2.3	2.6	3.2	0	0.2	1.3	1.6
NaMt-Ag ⁰	0	0	0.7	1.5	0	0.9	1.3	1.6
Cu ⁰ /NaMt@H2O	1.3	1.3	1.7	3.0	0.6	1.7	2.1	2.4
Ag ⁰ /NaMt@H2O	0.7	1.3	2.1	2.2	0.9	1.4	1.6	1.8
Cu ²⁺ /NaMt@H2O	2.3	2.8	3.4	3.5	2.0	2.4	2.5	2.5
Ag ⁺ /NaMt@H2O	2.0	2.8	3.3	3.3	0.8	1.1	1.2	1.7

ANNEXE B

Informations complémentaires pour l'article 2

Synthèse de biopolymères carboxylés chargés en métal avec activité antibactérienne par incorporation de sous-nanoparticules métalliques

Farzaneh Noori et al.

Tableau S1. Pouvoir polarisant (PP), rayon ionique et potentiel Zeta des biopolymères chargés de différents cations métalliques.

Cations	Polarizing power*	Ionic radius/pm	ZP (mV)	
			CMC	CMS
Ni ²⁺	2.80	70.	-10.05	-11.34
Cu ²⁺	2.73	73	-13.82	-13.28
Zn ²⁺	2.70	74.5	-20.90	-13.28
Co ²⁺	2.68	74	-23.10	-13.42
Pt ²⁺	2.50	80	-23.86	-15.98
Ti ²⁺	2.30	86	-24.40	-16.42
Ag ⁺	0.86	115	-30.39	-17.90
Au ⁺	0.72	137	-33.53	-21.81

* Le pouvoir polarisant est la capacité d'un cation à polariser l'anion contre-ion, c'est-à-dire la capacité à attirer le nuage électronique de l'anion. Ce facteur augmente avec l'augmentation de la charge et la diminution de la taille du cation.

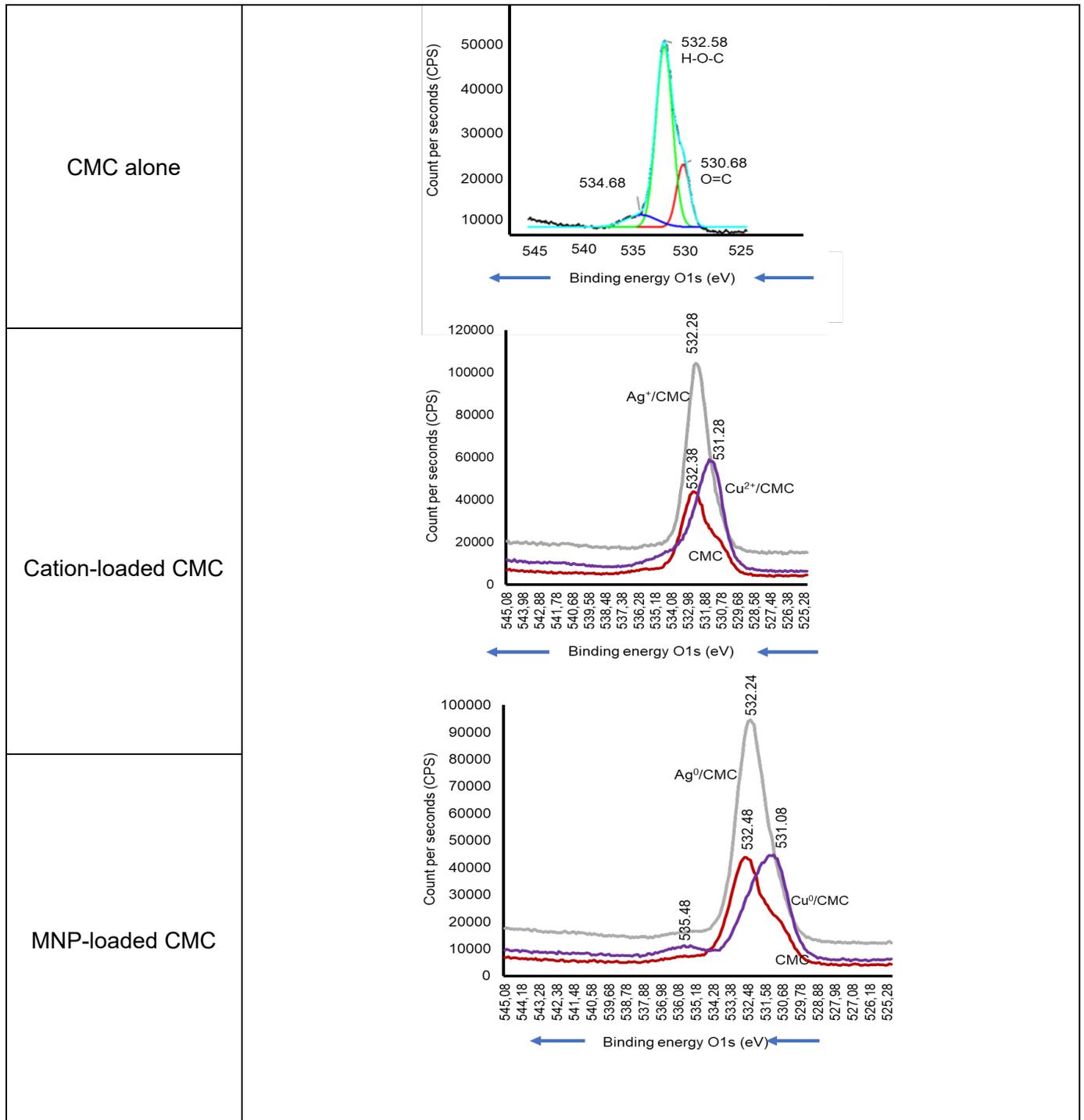


Fig. S2. Spectres XPS O1s des échantillons à base de CMC. Les spectres XPS des biopolymères de départ sont illustrés par des profils rouges. * L'énergie de liaison a été évaluée avec une erreur absolue inférieure à 0,05 eV.

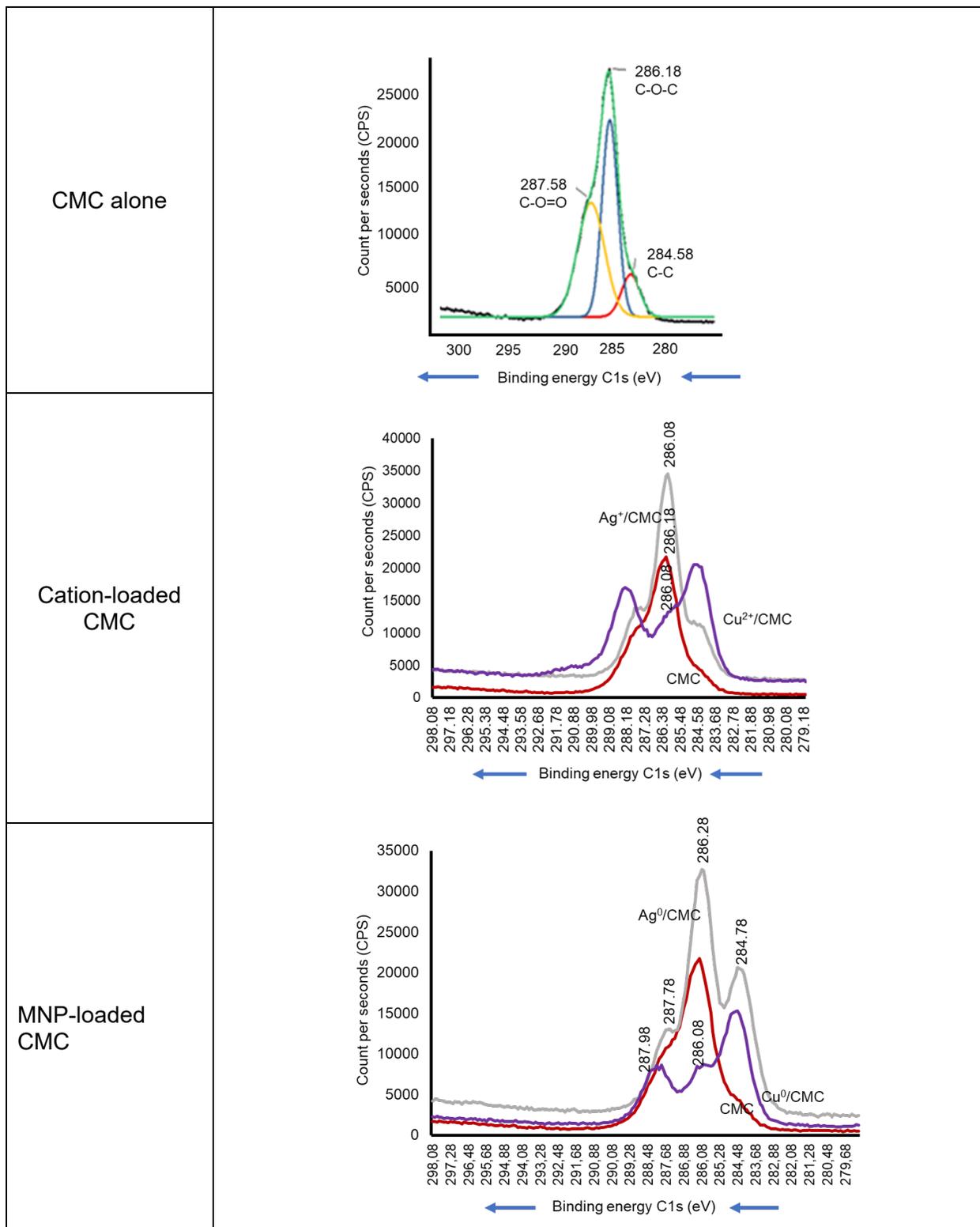


Fig. S3. Spectres XPS C1s des échantillons à base de CMC. Les spectres XPS des biopolymères de départ sont illustrés par des profils rouges. * L'énergie de liaison a été évaluée avec une erreur absolue inférieure à 0,05 eV.

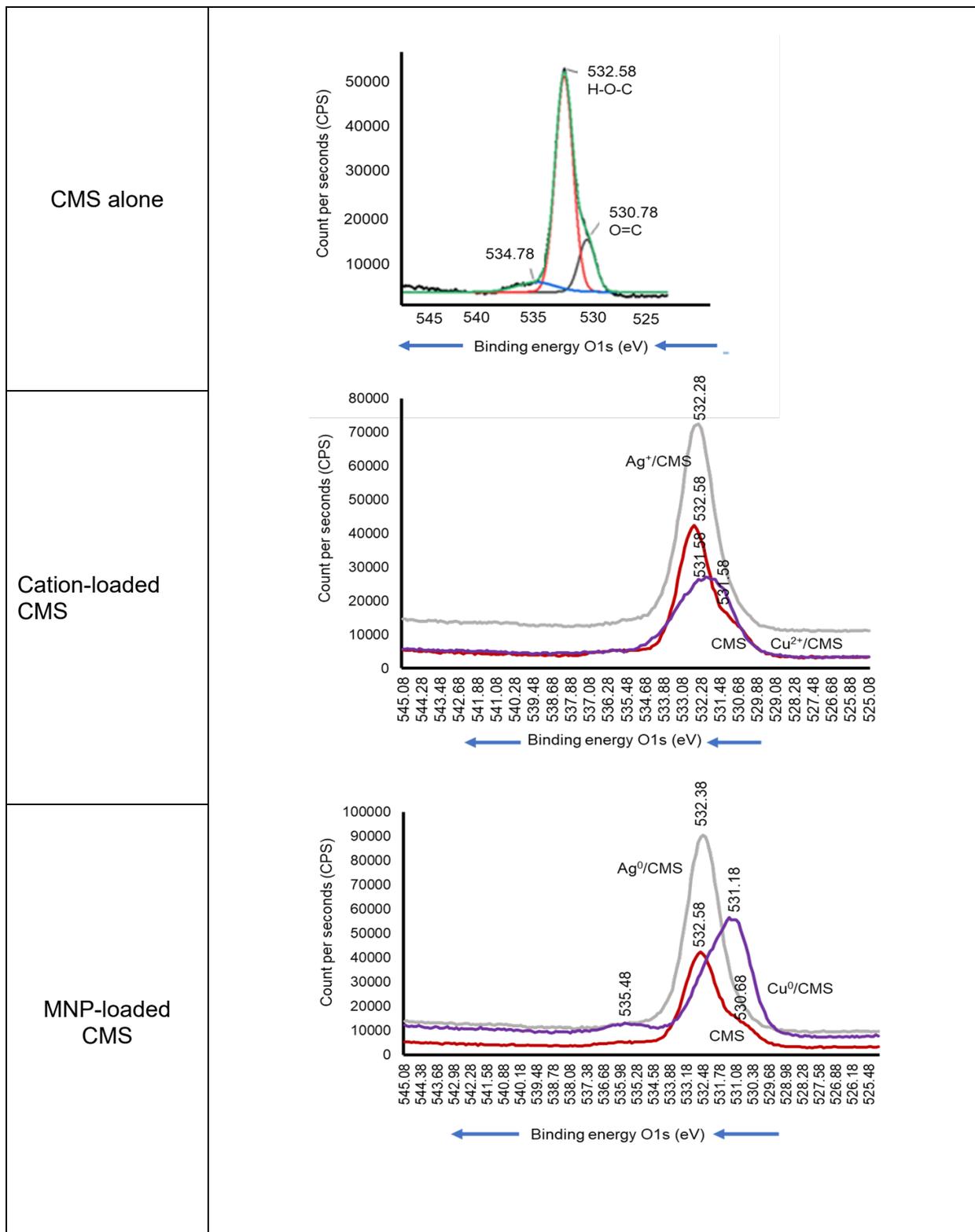


Fig. S4. Spectres XPS O1s des échantillons à base de CMS. Les spectres XPS des biopolymères de départ sont illustrés par des profils rouges. * L'énergie de liaison a été évaluée avec une erreur absolue inférieure à 0,05 eV.

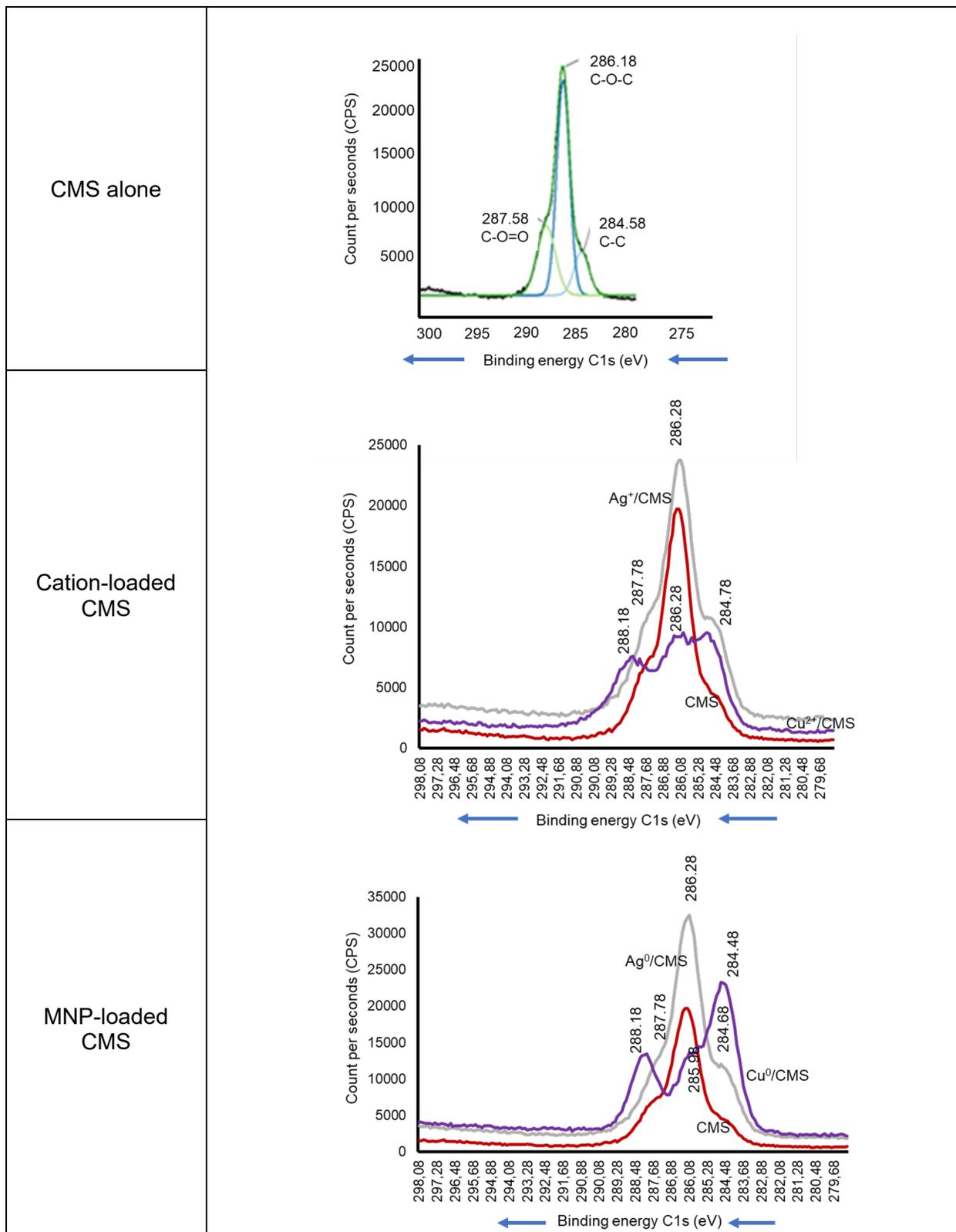


Fig. S5. Spectres XPS C1s des échantillons à base de CMS. Les spectres XPS des biopolymères de départ sont illustrés par des profils rouges. * L'énergie de liaison a été évaluée avec une erreur absolue inférieure à 0,05 eV.

Tableau S2. Déplacements de l'énergie de liaison (BE) XPS des échantillons à base de CMC.

XPS signal	Matrix	Binding energy (eV) of CMC- Based samples (± 0.05 eV)								
		Alone	+ Cu ²⁺	Shift* (eV)	+Cu ⁰	Shift* (eV)	+Ag ⁺	Shift* (eV)	+Ag ⁰	Shift* (eV)
O _{1s}	O=C	530,68	530.28	0.40	529.89	0.79	530.18	0.50	529.38	1.30
	H-O-C	532.58	531.28	1.30	530.89	1.69	532.28	0.30	531.08	1.50
C _{1s}	C-O-C	286.18	286.28	-0.10	287.08	-0.90	286.38	-0.20	286.22	-0.04
	C-C	284.58	284.78	-0.20	284.9	-0.32	284.68	-0.10	284.78	-0.20
	O-C=O	287.58	287.88	-0.30	287.98	-0.40	287.68	-0.10	287.78	-0.20

*Le déplacements de l'énergie de liaison (BE) a été évalué comme la différence entre les valeurs de BE avant et après le chargement en métal.

Tableau S3. Décalage de l'énergie de liaison (BE) XPS des échantillons à base de CMS.

XPS signal	Matrix	Binding energy (eV) of CMC- Based samples (± 0.05 eV)								
		Alone	+ Cu ²⁺	Shift* (eV)	+Cu ⁰	Shift* (eV)	+Ag ⁺	Shift* (eV)	+Ag ⁰	Shift* (eV)
O _{1s}	O=C	530.78	530.08	0.70	529.88	0.90	530.28	0.50	529.98	0.80
	H-O-C	532.58	531.58	1.00	531.18	1.40	532.28	0.30	532.11	0.47
C _{1s}	C-O-C	286.18	286.28	-0.10	285.98	0.20	286.29	-0.11	286.37	-0.19
	C-C	284.58	284.78	-0.20	284.48	0.10	284.78	-0.20	284.68	-0.10
	O-C=O	287.68	288.18	-0.50	288.1	-0.42	287.98	-0.30	287.78	-0.10

*Le décalage de l'énergie de liaison (BE) a été évalué comme la différence entre les valeurs de BE avant et après le chargement en métal.

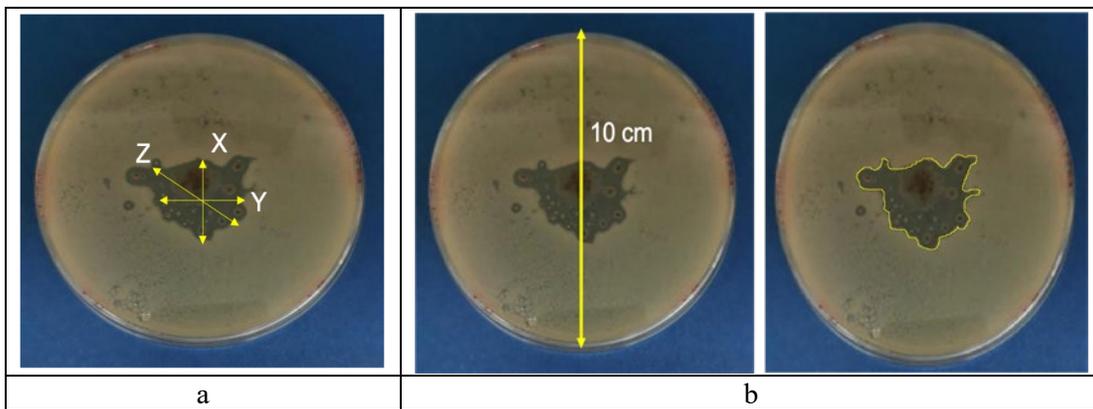


Fig. S6. Mesure de la zone d'inhibition (IZD) graphiquement (a) ou en utilisant le logiciel ImageJ (b).

Tableau S4. Écart-type relatif des mesures de la zone d'inhibition (IZD) par deux méthodes différentes.

Samples	Standard deviation (%)			
	<i>E. coli</i> DH5 α		<i>B. subtilis</i> 168	
	Graphically	Image-j	Graphically	Image-j
Ag/CMS	7.5	0.5	15.5	2.5
Ag ⁰ /CMS	5.0	1.0	9.5	2.3
Ag/CMS/NaMt	6.5	0.5	4,0	1.5
Ag ⁰ /CMS/NaMt	0.0	0.0	0.0	0.0
Cu ² /CMS	6.0	1.5	2.0	1.0
Cu ⁰ /CMS	2.5	0.5	1.3	0.5
Cu ² /CMS/NaMt	5.0	0.5	15.5	2.5
Cu ⁰ /CMS/NaMt	0.0	0.0	4.5	0.6

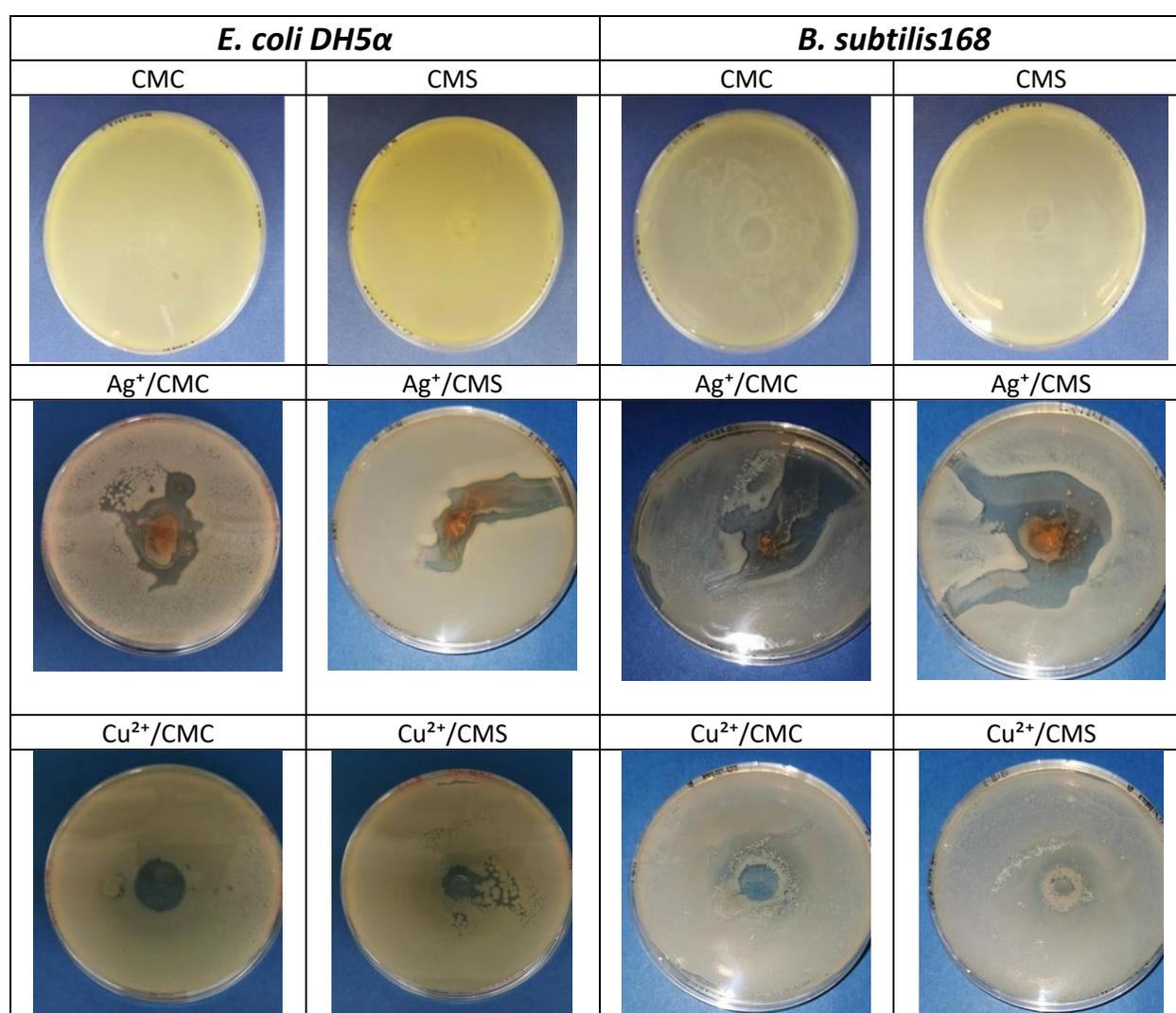


Fig. S7. Zones d'inhibition de la prolifération des deux souches bactériennes en présence de CMC, de CMS et de leurs homologues chargés en cations métalliques. La forme irrégulière de la zone d'inhibition (IZD) est due à l'écoulement hétérogène des poudres.

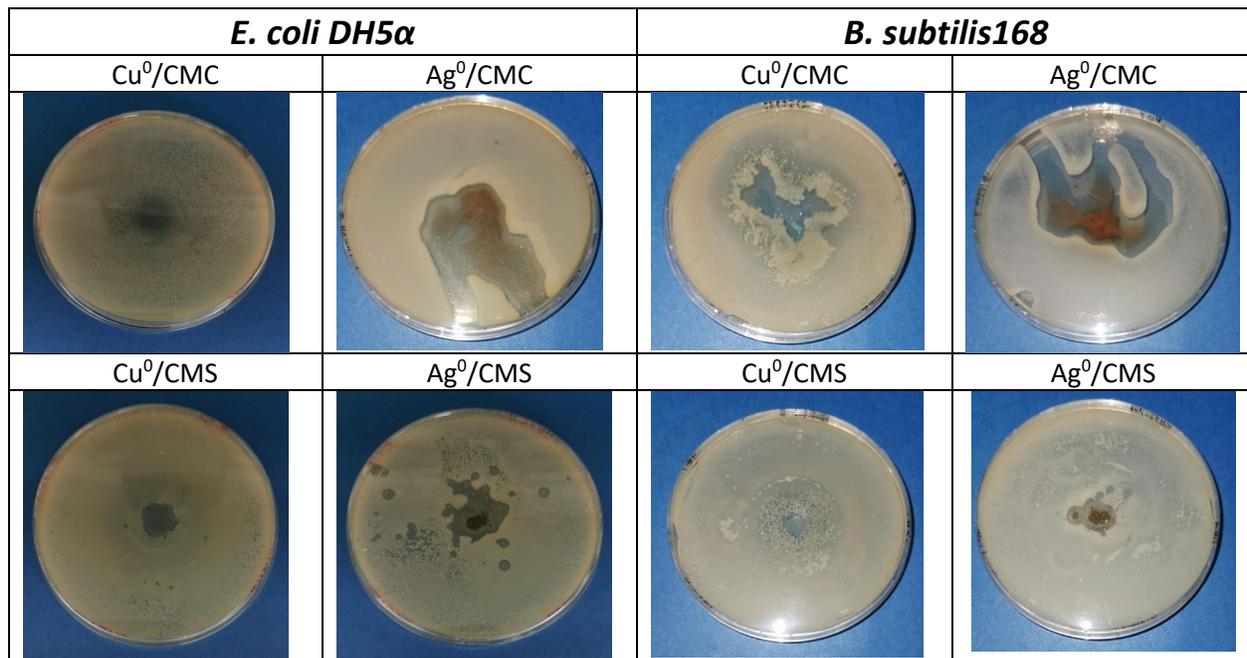


Fig. S8. Zones d'inhibition de la prolifération des deux souches bactériennes en présence de CMC, de CMS et de leurs homologues non chargés en métal. La forme irrégulière de la zone d'inhibition (IZD) est due à l'écoulement hétérogène des poudres.

ANNEXE C

Preprint

Publié par Authorea le 7 juillet 2020

Posted on Authorea 7 Jul 2020. The copyright holder for this preprint (which was not certified by peer review) is the author/funder. All rights reserved. No reuse allowed without permission. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-45037337/v1>. This preprint and its associated metadata have not been peer reviewed. Data may be preliminary.

Metal-loaded porous polyhydroxylic matrices with improved antibacterial properties

Farzaneh Noori¹, Neree-Armelle Tchoumi², Meriem Megoura², Mircea Alexandu Mateescu², and Abdelkrim Azzouz¹

¹University of Quebec in Montreal

²University of Quebec at Montreal Department of Chemistry

July 7, 2020

Abstract

Metal-loaded porous matrices based on clay and cellulose materials displayed appreciable antibacterial activity against *Escherichia coli* DH5 α and *Bacillus subtilis* 168. BoltomTMH20 polyol dendrimer supported by montmorillonite and cellulose turned out to be effective porous matrices for Cu0 and Ag0 nanoparticles dispersion. The resulting organoclay and polyol-coated cellulose were found to stabilize Cu0 and Ag0 nanoparticles through their terminal hydroxyl groups. This was explained in terms of Lewis Acid-Base interaction between the electron pair of the oxygen atom belonging to the terminal hydroxyl and metal species as supported by XPS data. The metal retention strength was found to correlate with the antibacterial activity, surface basicity and hydrophilic character. These findings are of great importance, because they open promising prospects for vegetal fibers and clay-supported drugs to treat dermatological and gastro-intestinal infections.

Keywords

Organoclays; Cellulose; Metal Nanoparticles, Porous Polyhydroxylic Matrices; Antibacterial Properties; X-ray Photoelectron Spectroscopy

Short running title

Novel metal-polyol-based antibacterial agents

Introduction

Resistance of pathogenic bacteria against antibiotics has become a major medical and pharmaceutical issue. Overuse of antibiotics has been identified as a main cause of pathogenic adaptation of bacteria. Numerous outbreaks of infectious diseases have been reported as a direct effect of antibiotic resistance (Levy, 1998), which still remains a major challenge to be addressed (Cragg & Newman, 2013). Metals are known as metabolism disturbing agents, some of them being harmful for animals and human (Martin & Griswold, 2009). Certain zero-valence metals (metal-zero) such as silver in high dispersion state have long been used in treating skin bacterial infections (Rai, Yadav, & Gade, 2009). Nanoparticles of gold, zinc and titanium have showed high bioactivity. In this context, silver (Ag) and copper (Cu) are also promising nanoparticles that have shown broad-spectrum activity against many species of Gram positive and Gram-negative bacteria (Carretero, 2002; Čik, Bujdaková, & Šeršeň, 2001; Čik et al., 2006; Costa, Conte, Buonocore, & Del Nobile, 2011; Dizman, Badger, Elasri, & Mathias, 2007; Gupta, Maynes, & Silver, 1998; Herrera, Burghardt, & Phillips, 2000).

Higher performant antibacterial activity is obtained if Ag and Cu nanoparticles are finely and uniformly sized (España, Sarkar, Biswas, Rusmin, & Naidu, 2019). When highly dispersed, metal nanoparticles (MNP) can

be active against pathogenic bacteria without inducing bacterial resistance (España et al., 2019). However, MNPs have a strong tendency to aggregate into bulky inactive clusters (Rees, Zhou, & Compton, 2011). Polyhydroxylated compounds and polyamines bear specific chemical groups that confer them chelating and stabilizing properties for metals (Crooks, Zhao, Sun, Chechik, & Yeung, 2001). Functionalized polymers could exhibit higher effectiveness when supported on solid surfaces (Hellmann et al., 1998). The resulting inorganic-organic matrices hosting metal nanoparticles (**Scheme 1**) are a novel class of antibacterial agents displaying high surface-to-volume ratio, chemical stability, thermal resistance, non-toxicity and recyclability (Bragg & Rainnie, 1974). Their synthesis has become the main target of the present research.

Scheme 1

The interest of this research consists in using inorganic natural aluminosilicates such as clay minerals, known to be harmless for human health and biodiversity. Among these, smectite-type sodium montmorillonite (NaMt) could be an interesting host matrix for metals due to its natural abundance, cost effectiveness, non-toxicity, chemical inertness, sorptive capabilities, large specific surface area (Komadel, 2016) and even beneficial medicinal effects (Carretero, 2002; Nadziakiewicz, Kehoe, & Micek, 2019).

To overcome this problem, inorganic carriers such as clay minerals for metal nanoparticles have been investigated (Kim et al., 2007). Successful attempts against bacteria were already achieved using other clay minerals such as allophane and imogolite doped with metals like Ag, Cu, Co, Zn (Stavitskaya et al., 2019; Williams et al., 2011). Attempts were also achieved using functionalized clay minerals and vegetal fibers for the dispersion of silver and copper ions (Joshi, Purwar, Udakhe, & Sreedevi, 2015).

High adsorptive capabilities for metal nanoparticles in NaMt are largely responsible for the antimicrobial properties of the metal-clays. The adsorptive properties in NaMt are governed by a large specific surface area with increased net negative charges on the sheets that can be obtained by intercalation of NaMt with dendritic polyols like BoltornTM H20 (Vdović, Jurina, Škapin, & Sondi, 2010). Reportedly, eco-friendly and cost-effective cotton fabric-based composite materials doped with copper oxide showed antibacterial action against *Staphylococcus epidermis* and *Escherichia coli* (Nabil, Christine, Julien, & Abdelkrim, 2018). The aim of this work was to prepare organoclays and/or natural polymers for hosting metal nanoparticles with long-term antibacterial effects.

Deeper insights in metal-matrix interaction will allow tailoring optimal interactions with MNPs by modifying the type and number of chemical functions of the organic moiety. This is expected to influence the metal to be released, the release velocity and desired antibacterial activity. This concept allows envisaging diverse applications for controlled release of a wide variety of drugs and other medicinal molecules.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

All chemicals were of analytical grade and used without previous purification. Crude bentonite (Sigma-Aldrich, Oakville, Canada), sodium chloride (NaCl) (ACP chemicals, Montreal, Canada), copper acetate ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) (Fisher chemicals, Ottawa, Canada), silver nitrate (AgNO_3) (Fisher chemicals), sodium borohydride 98% (NaBH_4) (Acros organics, Ottawa, Canada), copper nitrate ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) (Anachemia VWR company, Montreal, Canada), Boltorn H20 (Perstorp, Malmo, Sweden), absolute methanol (MeOH) (Sigma-Aldrich), toluene (Sigma-Aldrich) were used. All experiments were performed in distilled water. Non-woven cellulose tissue (gauze) denoted as CT was purchased from PJC, Canada.

2.2. Polyol and metal dispersion

Sodium-montmorillonite (NaMt) was obtained through combined ion-exchange of crude bentonite (Aldrich) in aqueous NaCl solution using an effective procedure fully described elsewhere (**Scheme S1**) (Abdelkrim Azzouz et al., 2010; Thuc et al., 2010). This was followed by adding 200 g of NaMt to a 41.2:58.8 volume ratio MeOH/H₂O mixture containing 200 mg of Boltorn H20 polyol dendrimer under continuous stirring for 1h at 40-60°C. The resulting organoclay, denoted as H20@NaMt was dried overnight in a freeze-drying device.

Similarly, Boltorn H2O was also dispersed on cellulose tissue (CT) by impregnation in 20 mL of 0.01mol/L BoltornTMH2O aqueous solution at room temperature (RT) for 1h, resulting in a H2O@CT composite.

An amount of 0.2 g of NaMt-H2O was slowly mixed in a 50 mL beaker with 15 mL (33.33% and 66.66% toluene/water) aqueous solution of 0.12mol/L Cu (CH₃COO)₂ and (AgNO₃) under vigorous stirring for 2 h. Both organoclay suspensions were dried overnight at room temperature, resulting in a first series of cation-loaded organoclays denoted as Cu²⁺/H2O@NaMt and Ag⁺/H2O@NaMt. A second series of samples was prepared by dropwise adding 10 mL aqueous solution of NaBH₄(0.2mol/L) to both organoclay suspensions during 15 min under a nitrogen stream at ambient conditions (**Scheme S2**). The resulting metal-zero-loaded organoclays, denoted as Cu⁰/H2O@NaMt and Ag⁰/H2O@NaMt were further repeatedly washed with distilled water to eliminate the excess of Cu²⁺ and Ag⁺ cations and then dried overnight. Further, for the preparation of metal loaded H2O@CT samples, 0.8g of AgNO₃ or 1.24g of Cu(NO₃)₂ were each dissolved in 30 mL of distilled water and mixed with 1g and 1.5g of NaBH₄, respectively in order to reduce Cu²⁺ and Ag⁺ into Cu⁰ and Ag⁰ nanoparticles (denoted as AgNP_S and CuNP_S). This was achieved upon stirring for 5-6h at room temperature (RT), under nitrogen stream to prevent MNP oxidation. The resulting Ag⁰/H2O@CT and Cu⁰/H2O@CT samples were dried overnight at RT in a sealed enclosure containing dry O₂-free nitrogen dried with NaOH pellets.

2.3. Material characterization

The basicity and hydrophilic character of the as-prepared samples were assessed through TPD of CO₂ and water (A Azzouz et al., 2006; Beltrao-Nunes et al., 2019; Terrab et al., 2016). This was obtained by putting 45-50 mg of each sample at heating rate of 5 °C.min⁻¹ from 20 °C to 450 °C and under a nitrogen stream of 5 mL.min⁻¹ after saturation of each sample with CO₂ gas (**Scheme S3**). Deeper insights into the structure of the as-synthesized MNP_S/H2O@NaMt and MNP_S/H2O@CT materials were achieved through TG Analysis (TA Instruments TGA (Q500)/Discovery MS equipment). For this purpose, 4-7 mg samples were heated in platinum (Pt) pan at a temperature range of 20-500 °C and 10 °C/min heating rate under 30 mL/min dry argon stream (**Fig. S1**). The particle morphology of the material was screened by SEM (Jeol JCM-6000 PLUS instrument). The samples were spread as powder on conductive double adhesive carbon tapes (**Fig. S2**). The SEM analysis of non-conductive samples was performed at 1.0 kV voltage, versus 15 kV for metal-containing materials (conductive). The crystalline structure was investigated by XRD in 2-Theta range 10-80, using CuK_{alpha} radiation (1.5406 Å) and XRD D8 Advance device (**Fig. S3**). Metal-matrices interactions were assessed through XPS of 7800 × 300 μm spots by means of an AXIS-ULTRA instrument (by KRATOS Analytical Ltd, UK) and a monochromatic Al-based X-ray source (260 watts in constant pass energy mode in two 160eV and 1eV steps).

2.4. Antibacterial tests

Approximately 74 × 10⁶ colony forming units CFU.mL⁻¹ of each bacteria species (*E. coli* and *B. subtilis* 168) with a cell density of 0.5 at 600 nm was loaded on LBA plates. The antimicrobial behavior of the as-prepared samples was evaluated by diffusion and zone Inhibitory tests towards *E. coli* and *B. subtilis* bacterial strains. The assay is a semi-quantitative method where samples (1-9 mg) containing silver or copper metal were put in direct contact on LBA plate pre-seeded by bacteria strains. Negative controls were included in each assay. After 24 h of incubation at 37 °C, the diffusion zone where bacteria proliferation was inhibited was measured. The antibacterial property was evaluated by the application of 5 mg (Organoclays) or 1 × 0.5 mm² (CT) of the synthesized clay-based materials or tissue of cellulose-based samples, respectively. All experiments were performed in triplicate (three independent growth cultures) with at least two technical replicates.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Changes upon metal incorporation

The formation of CuNPs and AgNPs dispersed into polyol-modified matrices was illustrated by marked color changes. The most visible changes took place from blue to black and accounts for Cu²⁺ conversion into Cu⁰ in the presence of NaBH₄ as a reduction agent. However, a less visible color change was noticed for Ag⁺

conversion into Ag^0 in the solution (**Fig. S4.a**). These changes are much more pronounced in dry powders of H20@NaMt modified by Cu^0 and Ag^0 and their cationic forms (**Fig. S4.b**). The same results were observed for similar metal insertion in the presence of H20@CT -based samples. (**Fig. S5**).

Metal incorporation was confirmed by visible modification of the morphology of surface of the host-material. Preliminary observation through optical microscopy revealed a transition from a clean and almost soft surface of NaMt to the appearance of grains on the surfaces of both Cu^0/NaMt and Ag^0/NaMt (**Fig. S6**). This provides evidence of the formation of metal particles. Similar observations were made on CT -based materials (**Fig. S7**). This was confirmed by additional analysis through of SEM images of MNP-loaded NaMt and H20@CT (**Fig. 1.a**). The appearance of grains smaller than 100 nm indicates that metal salt reduction using NaBH_4 effectively produced spheroidal nanoparticles with and without polyol as dispersing agent, as illustrated by the behavior of NaMt alone and H20 -coated CT material. This can also be seen with CT alone (**Fig. S8**). The SEM images of NaMt showed specific morphology changes of lamellar structure according to the metal inserted (**Fig. 1.a**). Larger crystalline rods were observed on NaMt-Cu , presumably due to residual Cu^{2+} salt.

Figure 1

3.2. Effect polyol incorporation on metal dispersion

The non-uniform dispersion of MNPs must be due to the heterogeneous density of the small amount of hydroxyl groups belonging to the incorporated H20 poly dendrimer on the CT surface. Incorporation of polyol appears to act as the main dispersing agent of MNP, favoring complete metal entrapment by surrounding OH groups. This must take place through stronger Polyol-HO: Metal interaction that consumes all available OH groups of the inserted dendrimer at the expense of H20@CT surface association. This explains the presence of Polyol:MNP composite scales unstuck on the CT surface (**Fig. 1.b**). Similar observations can be made with Ag -modified materials, except the fact that metal salt needles apparently occur in much higher density. This corresponds to a relatively higher amount of residual unreduced Ag salt, i.e. less Ag^0 compared to copper-loaded materials. This lower reduction level of Ag^+ cations suggests a lower amount of Ag^0 atoms. This could explain somehow the paradoxically weaker antibacterial activity of Ag -based materials as compared to their Cu counterparts, given that silver is expected to display higher performance in this regard. A partial explanation resides in the stronger capacity of copper to undergo oxidative processes as compared to silver. The involvement of the OH groups in metal stabilization can be explained by changes in the hydrophilic character and basicity of the host materials. Deeper insights in this regard were achieved through TPD measurements.

3.3. Changes in clay surface basicity

The TPD patterns revealed the occurrence of at least four basicity strengths, namely weakly (below 100°C), medium (between 100 and 250°C), medium-to-strong (between 300 and 450°C) and strong basicity (between 450 and 550°C). The slight shift of the desorption peak from 60 - 200°C towards higher temperatures (170 - 220°C) was noticed from bentonite to NaMt (**Fig. S9-a**). This indicates a slight strengthening of the surface basicity, presumably due to the removal of acidic silica phases (quartz, sand, cristobalite). This agrees with the slight increase in the CRC value after bentonite purification from 2101 to 2261mmol.g^{-1} (**Table 1**) which indicates that bentonite purification induces a slightly higher number of stronger basic sites.

Table 1

This is well supported by the marked depletion of the XRD belonging to Quartz in bentonite and montmorillonite patterns (denoted as Q), and the presence of the main XRD lines of crystalline silica in the pattern of the residual ash (**Fig. S10**). A shift of the 001 XRD line from a 2θ value of 7.357° for bentonite to 9.142° was noticed for NaMt , indicating a decrease in the interlayer spacing. This shift is a special feature of the lamellar structure and is due to the replacement of bulky impurity particles by sodium cations. This was confirmed by the noticeable sharpening and increased intensity of the main XRD lines, which is a special feature of homo-ionic form of montmorillonite and almost perfect parallel arrangements of the clay sheets.

The Na^+ cation has a lower polarizing power and thereby lower intrinsic acidity and weaker capacity to attract water molecules than multivalent cations. This somehow explains the lower WRC value observed for NaMt compared to bentonite. MNP incorporation induced a marked decrease in CRC, due to at least two kinds of competitive interactions. Some MNP interactions occur with the lattice oxygen atoms (-Si-O-Si- with strong Lewis basicity). Other interactions take place between the OH groups of both terminal in-plane silanols and out-of-plane Si-OH with weaker basicity and MNPs on the surface (Sulpizi, Gaigeot, & Sprik, 2012).

3.4. Changes in CT surface basicity

The TDP measurements revealed no CO_2 desorption peak for untreated cellulose in the temperature range 20-100°C. Polyol incorporation induced a marked change in the TPD profile, mainly characterized by the appearance of a wide desorption peak between 20 and 110 °C (**Fig. S9.b**). This accounts for the rise of weakly basic adsorption sites, most likely amphoteric to slightly basic OH groups belonging to the inserted polyol dendrimer. OH groups were found to dramatically decline after CuNP insertion and totally disappear after AgNP incorporation. This is a confirmation of the appearance rise of novel HO:MNP interaction that seems to be stronger with AgNPs compared to CuNPs. Thus, CuNPs seem to be less entrapped by the dendrimer entanglement than AgNPs and more effective as antibacterial agent being less retained in the solid phase.

3.5. Thermal assessment of the affinity towards aqueous media

The antibacterial activity of MNP-loaded materials is often determined by their affinity towards aqueous media where bacteria live. This affinity towards water can be evaluated by TGA (Fu et al., 2015). The TGA patterns (**Fig. S11.a**) revealed a single and small weight loss (WL) of at most 0.7-0.8% for NaMt between 20 and 120°C. This corresponds to reversible dehydration, as shown by repeated TGA analysis of rehydrated samples. The total absence of other weight losses and more particularly of dehydroxylation ($2\text{-Si-OH Si-O-Si-} + \text{H}_2\text{O}$) at higher temperature provided evidence that NaMt is stable throughout the entire range of temperature investigated. MNP insertion into NaMt gave rise to a marked endothermic process at ca. 140-480 °C for Cu^0/NaMt and 90-470 °C for Ag^0/NaMt . This accounts for 6.6 % and 9.4 % WL, respectively (**Table 2**).

Table 2

Within this temperature range, an initial mass loss was registered for NaMt-Cu^0 up to 180 °C, and must still be due to the dehydration process. This dehydration over a larger temperature range can be explained by an additional contribution of retained moisture on the incorporated metal. A second WL can be seen up to 470-480 °C and could be related to a dehydroxylation of terminal Metal-OH groups of possible metal oxide particles. The latter may unavoidably be produced during the synthesis procedure through slight metal oxidation when contacted to air. Another explanation should consist in a possible slow release of moisture from the internal surface the metal loaded clay mineral. Both WL were found to shift towards lower temperatures but with higher WL values in Ag^0/NaMt , indicating a higher hydrophilic character. In contrast, CT-based samples were mostly characterized by a much lower moisture loss (**Fig. S11.b**), which indicates a much weaker hydrophilic character. This must be due to the fact that commercial untreated CT displays negligible surface density of hydroxyl groups. Polyol incorporation appeared to slightly improve this feature, by introducing high amount of OH groups. Incorporation of MNPs alone or accompanied by polyol H₂O induced a marked enhancement of the hydrophilic character. This is supported by more pronounced weight loss in the temperature range of 47-200 °C up to 8.25 % (Cu^0/CT), 9.74 % (Ag^0/CT), 4.675 % ($\text{Cu}^0/\text{H2O@CT}$) and 8.525 % ($\text{Ag}^0/\text{H2O@CT}$) (**Table 2**).

3.6. Evidence of metal dispersion

Evidence of metal dispersion in the investigated materials was provided by X-Ray photoelectron spectroscopy (XPS). Changes in the binding energy (BE) of the electrons belonging to the material atoms involved in metal dispersion are expected to provide valuable information about the retention strength of MNP and

indirectly on the antibacterial activity. The presence of metal in the chemical compositions of NaMt and CT after metal incorporation was revealed by new XPS signals, i.e. Cu2p at 933 eV and Ag3d at 364 eV (**Fig. 2.a**).

Fig. 2

Table 3

The most important XPS results reside in the shifts of the binding energy (BE) of the key elements (oxygen, silicon and aluminum)(**Table 3**) providing evidence of the occurrence of metal interaction with the host surface. For oxygen, the BE value decreased from 532.55 eV down to 531.00 eV and 527.00 eV upon Cu and Ag incorporation in NaMt samples, respectively. Similar sequence was noticed in H20@CT, but with much weaker BE decrease from 533.00 eV down to 531.65 eV and 531.74 eV after Cu and Ag incorporation. This suggests weaker metal retention in this organic composite. Such a BE weakening indicates lower electron binding to their parent-atom due to an attraction by next-neighboring species, and can be explained in terms of Lewis-Acid-Base (LAB) interaction between lattice oxygen and MNPs. This indicates weaker interaction with CuNPs as compared to AgNPs in both materials, and weaker retention strength of both metals in H20@CT.

BE decay was also noticed for Si and Al atoms from 1383.20 to 103 and 1411.29 to 75, respectively, suggesting additional MNP interactions with the aluminosilicate surface (**Fig. 2.b**). The presence of a C1s signal in clay samples may be due to CaCO₃, as supported by the XRD pattern of bentonite with 113, 202 and 018 plane families between 40-45 degrees. XPS data, more particularly for cellulose-based samples (**Fig. S12**) showed no significant BE shift for C atom, indicating that carbon interaction with MNP, if any, is negligible.

3.7. Metal-induced antibacterial activity

E. coli DH5 α and *B. subtilis* 168 were used as model species to evaluate mass transfer from the clay to bacteria. The 24 hours of incubation at 37 °C of untreated host matrices (NaMt, BoltornTMH20 and H20@NaMt) with a population of 74.10⁶ CFU.mL⁻¹ revealed no antibacterial activity in three independent experiments with both *E. coli* and *B. subtilis* strains. For conciseness, only data obtained with *B. subtilis* were mentioned herein (**Fig. 3.a**). In contrast, copper-loaded (Cu/NaMt) and silver-loaded (Ag/NaMt) clays exhibited noticeable antibacterial activity (**Fig. 4**), demonstrating that clay minerals can behave as MNP-hosting matrices. This improvement would be due to metal incorporation (Gordon et al., 2010; Potera, 2012; Vincent, Duval, Hartemann, & Engels-Deutsch, 2018; Yum'an Qing et al., 2018) but the mechanisms remain to be elucidated..

Fig. 4

3.8. Effect of metal dispersion upon dendrimer incorporation

The effect metal dispersion in dendrimer and their antibacterial activity were investigated by incubating silver and copper organoclay samples with bacteria. The results showed that the mere incorporation of metals regardless to the oxidation state induces antibacterial activity, slightly higher for the cationic form (**Fig. 5**).

Fig. 5

The presence of dendrimer seems to play a key-role producing higher antibacterial activity as compared to Cu⁰/NaMt and Ag⁰/NaMt. This can be due to a higher metal dispersion within the dendrimer entanglement bearing OH groups that act as chelating agents (Lewis base) through their oxygen atoms. This was well supported by a marked increase in the inhibition zone diameter (**Table S1**). These data also revealed that both Cu⁰ and Cu²⁺ are more effective than both silver forms. This can be explained by an easier release of copper (both zero and bivalent forms) in the liquid media due to lower BE shifts (as measured by XPS), as compared to silver. Also, copper is more reactive than silver, generating oxygen reactive species (ROS) as in Fenton-like and Haber-Weiss processes. Other possible contributions should be ascribed to lower amounts: (i) of inserted Ag⁰ atoms probably because of the lower reduction level of Ag⁺ cations and (ii) of dispersed

Ag⁺ cation, chelated and stabilized by the polyol moiety. This was supported by SEM images (**Fig. 1.a**) that show large amount of non-dispersed rod-like silver salt crystals indicating a rigorous concordance between the material characterization data and antibacterial activity. Highest antibacterial ability was observed against Gram-positive *B. subtilis*, as illustrated by the largest inhibition zone diameter of 2.73±0.17cm (**Table S1**). This can be due to the very structure of the *Bacillus* cell wall with peptidoglycan multilayers and an abundant amount of pores that confers them more sensitivity to reactive species as compared to Gram-negative *E. coli* (Fu et al., 2015).

3.9. Effect of the amount of metal-loaded organoclay

Deeper insights through different amounts of metal-loaded organoclays ranging from 1 to 9 mg were achieved to confirm the effect of MNP insertion on their antibacterial activity. A first overview of the obtained results revealed that the bacterial growth was inhibited after an incubation with 1 mg antimicrobial agents (**Fig. 3.b**). The average diameter of the inhibition zone was of 2-2.3 cm for Cu²⁺/H2O@NaMt and 0.8-2 cm Ag⁺/H2O@NaMt (**Table S2**). This result can be ascribed to the strong antibacterial capacity of metal-loaded organoclay matrices on *E. coli* and *Bacillus*. The appearance of antibacterial activity seems due to the metal incorporation, regardless to its oxidation state. In other words, the mere presence of metal species appears to promote an antibacterial activity. This is well argued by the fact that no antibacterial activity was found for both clay mineral and polyol alone (**Fig. 3.a**). Therefore, the biocidal effect of the as-synthesized samples should be due to the action of both MNPs and metal cations. The diameter of the inhibition zone of both strains *E. coli* and *B. subtilis* increased almost proportionally with increasing amount of bactericidal agents up to a certain level. Maximal values of 2.5 and 3.5 cm for 9 mg of Cu²⁺/NaMt@H2O and of 2.4 and 3 cm for the same amount of Cu⁰/NaMt@H2O against *E. coli* and *B. subtilis*, were respectively attained (**Table S2**).

Fig. 3

3.10. Effect of metal dispersion upon polyol-functionalized cellulose

Similar antibacterial tests were also performed with cellulose-based samples against both *E. coli* and *Bacillus* (**Fig. S13**). Untreated cellulose denoted as CT and its polyol-functionalized counterpart (H2O@CT) showed no antibacterial activity. Here also, the mere insertion of metal in both oxidation states induced antibacterial properties. The strong activity of Cu-loaded cellulose matrices against bacteria can be illustrated by inhibition zone diameters of 1.6 cm for Cu⁰/CT and 1-3.5 cm for Cu⁰/H2O@CT (**Table 4**). This confirms once again the beneficial role of dendrimer H2O incorporation favoring CuNP dispersion. Silver-based samples are less effective as antimicrobial agents against both *B. subtilis* and *E. coli* $\Delta H5a$, which can be related to a stronger HO:Ag interaction compared to HO:Cu interaction as supported by TPD measurements

Table 4

3.11. Action of Metal NPs against bacteria

The external side of the cell wall of both Gram-positive and Gram-negative bacteria bears negative charges due to the presence of functional groups like carboxyl and phosphate and hydroxyl (Ashmore et al., 2018). Gram-positive bacteria possess a thick peptidoglycan layer, which resides in linear chains alternating residues of N-acetylglucosamine (NAG) and N-acetylmuramic acid (NAM) linked together by a sequence of 3 to 5 amino acids that cross-link each other, giving rise to a cohesive mesh. Additionally, negatively charged teichoic acids (with high levels of phosphate groups) are spread from the cell wall to the surface of most Gram-positive bacteria (**Scheme S4.a**). In contrast, Gram-negative bacteria display more complex structure with a thinner layer of peptidoglycan and a phospholipid outer membrane with partially phosphorylated lipopolysaccharides (LPS) that contribute to raise the negative surface charge (**Scheme S4.b**) (Stensberg et al., 2011).

Negatively charged bacterial cell walls interact with positively charged particles such as metal cations via electrostatic interactions. Cations may act through diverse pathways among which two seem to prevail in aqueous media: (i) strong electrostatic interaction that alter bacteria membrane equilibrium, and (ii) Lewis acid-base

interaction with water molecules that generates Bronsted acidity ($M^{n+} + xH_2O = [M(H_2O)_{(x-1)}OH]^{(n-1)+} + H^+$) that may alter bacteria membrane. The metal ions are then free to interact with cellular structures (*e.g.*, proteins, membranes, DNA), disrupting cell functions (Ashmore et al., 2018). In contrast, MNPs are supposed to interact via strong LAB interaction with atoms bearing available electron pairs (O, S, and N) that act as Lewis base. Such interactions are assumed to affect the normal cell exchange through bacteria membrane. Other mechanisms such MNP diffusion inside the cell and disrupt biological processes (Stensberg et al., 2011). Inside the cell, both metal cation and nanoparticles can generate reactive oxygen species (ROS) like hydrogen peroxide (H_2O_2 , superoxide anion ($\cdot O_2^-$), and hydroxyl radical $\cdot OH$ (Gordon et al., 2010; Yun'an Qing et al., 2018). These species are assumed to bind to phosphate groups inhibiting protein phosphorylation frequently involved in enzymatic activation. This is expected to inhibit bacterial growth and cell cycle through the dephosphorylation of some important proteins for enzymatic activities (Dakal, Kumar, Majumdar, & Yadav, 2016). Given that metals bind to biomolecules through non-specific interactions, MNPs generally exhibit a wide variety of processes against bacteria (**Scheme S4.c**) (Yuan, Ding, Yang, & Xu, 2018).

Once inside the cell, both AgNPs and Ag^+ ions interact with diverse species resulting in cell dysfunction. Reportedly, AgNPs can act through four main mechanism pathways: (i) attraction on bacterial surface; (ii) destabilization of the bacterial cell wall and increase in membrane permeability even for larger AgNPs (Losasso et al., 2014); (iii) genesis of ROS and free radicals that induce toxicity and oxidative stress; (iv) modification of signal transduction pathways (Dakal et al., 2016). AgNP adsorption on the bacterial surface can be followed by diffusion of smaller particle inside the cell and retention of larger ones on the external side of the bacteria membrane. In spite of their antibacterial activity (Avalos, Haza, Mateo, & Morales, 2013), AgNPs were found to be less performant than cations (El Badawy et al., 2011). The latter are much more attracted by the negative charges of bacterial walls (Slavin, Asnis, Hafeli, & Bach, 2017). However, AgNPs may also act through partial dissolution into Ag^+ cations, as reported by many works. The Ag^+ cations act differently by binding to the cell membrane inducing changes in the membrane potential and proton leakage (Losasso et al., 2014). Reportedly, Ag^+ cation may intercalate DNA segments generating complexes with nucleotides and disrupting H-bonds between base pairs (Yun'an Qing et al., 2018). Similar observations were made for CuNPs where a Cu^{2+} release was found to be the main contribution to the high antibacterial activity (Chatterjee, Chakraborty, & Basu, 2014; Sistemica, Gabriela, Daniela, & Helia, 2016). As for silver, CuNP action may also involve diverse mechanisms, the most reported by the literature being: (i) CuNP concentration and dissolution in the bacterial membrane inducing potential and permeability changes, with unavoidable leak in lipopolysaccharides, membrane proteins, intracellular biomolecules and protons (Amro et al., 2000; Azam, Ahmed, Oves, Khan, & Memic, 2012). (ii) production of ROS, MNPs oxidation and dissolution into Cu^{2+} cation, with other detrimental oxidative processes (Fenton, Harber-Weiss) processes (Apperrot et al., 2012; Fang, Lyon, Wiesner, Dong, & Alvarez, 2007); (iii) Accumulation of Cu^{2+} cation with decay in intracellular ATP production and disruption of DNA replication (Kim et al., 2007; Sondi & Salopek-Sondi, 2004). These pathways should confer higher activity to CuNPs against both bacteria compared with AgNPs (Chudobova & Kizek, 2015).

Conclusion

Metal dispersion in the form of AgNPs and CuNPs with polyol dendrimer resulted in higher antibacterial activity than merely spread on a solid surface of montmorillonite or cellulose fibers. Both cellulose and clay act as host matrices for MNP when previously coated by BoltornH20. Polyol dendrimer incorporation induces no detectable antibacterial activity but provides additional hydroxyl groups that act as chelating agents for both MNPs and metal cations. The strength of the $-HO: Metal$ interaction plays a key-role in metal retention/release processes and, subsequently, in the antibacterial activity of the metal loaded polyol-clay or polyol-cellulose composite against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. Weaker retention of CuNPs and its involvement in oxidative damage explains, at least in part, the higher antibacterial activity of CuNPs as compared to silver counterparts. The occurrence of an optimal amount of metal-loaded polyol composites for achieving a high biocidal effect is attributed to structure compaction and diffusion hindrance of metal species at abundant number of $-OH$ groups incorporated. Research is still in progress for designing

even more effective antibacterial matrices with natural and low-cost materials and modulable entanglement porosity.

Acknowledgements: *This work was supported by NSERC (To Pr. Mircea A. Mateescu). The authors appreciate the technical assistance of Dr. G. Chamoulaud (Nanoqam), Dr. Alain Adnot (Laval University) and Dainelys Guadarrama Bello (UdeM).*

References:

Amro, N. A., Kotra, L. P., Wadu-Mesthrige, K., Bulychev, A., Mobashery, S., & Liu, G.-y. (2000). High-resolution atomic force microscopy studies of the Escherichia coli outer membrane: structural basis for permeability. *Langmuir*, *16* (6), 2789-2796.

Apperlot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A., & Banin, E. (2012). Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress. *Small*, *8* (21), 3326-3337.

Ashmore, D. A., Chaudhari, A., Barlow, B., Barlow, B., Harper, T., Vig, K., . . . Pillai, S. (2018). Evaluation of E. coli inhibition by plain and polymer-coated silver nanoparticles. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, *60* .

Avalos, A., Haza, A., Mateo, D., & Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente/Silver nanoparticles: applications and toxic risks to human health and environment. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, *7* (2), 1.

Azam, A., Ahmed, A. S., Oves, M., Khan, M., & Memic, A. (2012). Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and-negative bacterial strains. *International journal of nanomedicine*, *7* , 3527.

Azzouz, A., Assaad, E., Ursu, A.-V., Sajin, T., Nistor, D., & Roy, R. (2010). Carbon dioxide retention over montmorillonite-dendrimer materials. *Applied Clay Science*, *48* (1-2), 133-137.

Azzouz, A., Nistor, D., Miron, D., Ursu, A., Sajin, T., Monette, F., . . . Hausler, R. (2006). Assessment of acid-base strength distribution of ion-exchanged montmorillonites through NH3 and CO2-TPD measurements. *Thermochimica Acta*, *449* (1-2), 27-34.

Beltrao-Nunes, A.-P., Sennour, R., Arus, V.-A., Anoma, S., Pires, M., Bouazizi, N., . . . Azzouz, A. (2019). CO2 capture by coal ash-derived zeolites-roles of the intrinsic basicity and hydrophilic character. *Journal of Alloys and Compounds*, *778* , 866-877.

Bragg, P., & Rainnie, D. (1974). The effect of silver ions on the respiratory chain of Escherichia coli. *Canadian journal of microbiology*, *20* (6), 883-889.

Carretero, M. I. (2002). Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Applied Clay Science*, *21* (3-4), 155-163.

Chatterjee, A. K., Chakraborty, R., & Basu, T. (2014). Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology*, *25* (13), 135101.

Chudobova, D., & Kizek, R. (2015). Nanotechnology in diagnosis, treatment and prophylaxis of infectious diseases. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*, *2* , 67-69.

Čík, G., Bujdaková, H., & Šeršeň, F. (2001). Study of fungicidal and antibacterial effect of the Cu (II)-complexes of thiophene oligomers synthesized in ZSM-5 zeolite channels. *Chemosphere*, *44* (3), 313-319.

Čík, G., Priesolová, S., Bujdaková, H., Šeršeň, F., Pothečová, T., & Krištín, J. (2006). Inactivation of bacteria G+-S. aureus and G-E. coli by phototoxic polythiophene incorporated in ZSM-5 zeolite. *Chemosphere*, *63* (9), 1419-1426.

- Costa, C., Conte, A., Buonocore, G. G., & Del Nobile, M. A. (2011). Antimicrobial silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf life of fresh fruit salad. *International Journal of Food Microbiology*, *148* (3), 164-167.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1830* (6), 3670-3695.
- Crooks, R. M., Zhao, M., Sun, L., Chechik, V., & Yeung, L. K. (2001). Dendrimer-encapsulated metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications to catalysis. *Accounts of chemical research*, *34* (3), 181-190.
- Dakal, T., Kumar, A., Majumdar, R., & Yadav, V. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1831. In.
- Dizman, B., Badger, J. C., Elasmri, M. O., & Mathias, L. J. (2007). Antibacterial fluoromicas: a novel delivery medium. *Applied Clay Science*, *38* (1-2), 57-63.
- El Badawy, A. M., Silva, R. G., Morris, B., Scheckel, K. G., Suidan, M. T., & Tolaymat, T. M. (2011). Surface charge-dependent toxicity of silver nanoparticles. *Environmental science & technology*, *45* (1), 283-287.
- Espana, V. A. A., Sarkar, B., Biswas, B., Rusmin, R., & Naidu, R. (2019). Environmental applications of thermally modified and acid activated clay minerals: current status of the art. *Environmental Technology & Innovation*, *13* , 383-397.
- Fang, J., Lyon, D. Y., Wiesner, M. R., Dong, J., & Alvarez, P. J. (2007). Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior. *Environmental science & technology*, *41* (7), 2636-2642.
- Fu, F., Li, L., Liu, L., Cai, J., Zhang, Y., Zhou, J., & Zhang, L. (2015). Construction of cellulose based ZnO nanocomposite films with antibacterial properties through one-step coagulation. *ACS applied materials & interfaces*, *7* (4), 2597-2606.
- Gordon, O., Slenters, T. V., Brunetto, P. S., Villaruz, A. E., Sturdevant, D. E., Otto, M., . . . Fromm, K. M. (2010). Silver coordination polymers for prevention of implant infection: thiol interaction, impact on respiratory chain enzymes, and hydroxyl radical induction. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *54* (10), 4208-4218.
- Gupta, A., Maynes, M., & Silver, S. (1998). Effects of halides on plasmid-mediated silver resistance in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, *64* (12), 5042-5045.
- Hellmann, J., Hamano, M., Karthaus, O., Ijro, K., Shimomura, M., & Irie, M. (1998). Aggregation of dendrimers with a photochromic dithienylethene core group on the mica surface-atomic force microscopic imaging. *Japanese journal of applied physics*, *37* (7A), L816.
- Herrera, P., Burghardt, R., & Phillips, T. (2000). Adsorption of *Salmonella enteritidis* by cetylpyridinium-exchanged montmorillonite clays. *Veterinary microbiology*, *74* (3), 259-272.
- Joshi, M., Purwar, R., Udakhe, J. S., & Sreedevi, R. (2015). Antimicrobial nanocomposite compositions, fibers and films. In: Google Patents.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., . . . Hwang, C.-Y. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *3* (1), 95-101.
- Komadel, P. (2016). Acid activated clays: Materials in continuous demand. *Applied Clay Science*, *131* , 84-99.
- Levy, S. B. (1998). The challenge of antibiotic resistance. *Scientific American*, *278* (3), 46-53.

- Losasso, C., Belluco, S., Cibin, V., Zavagnin, P., Mičetić, I., Gallochio, F., . . . Ricci, A. (2014). Antibacterial activity of silver nanoparticles: sensitivity of different Salmonella serovars. *Frontiers in microbiology*, *5*, 227.
- Martin, S., & Griswold, W. (2009). Human health effects of heavy metals. *Environmental Science and Technology briefs for citizens*, *15*, 1-6.
- Nabil, B., Christine, C., Julien, V., & Abdelkrim, A. (2018). Polyfunctional cotton fabrics with catalytic activity and antibacterial capacity. *Chemical Engineering Journal*, *351*, 328-339.
- Nadziakiewicz, M., Kehoe, S., & Micek, P. (2019). Physico-Chemical Properties of Clay Minerals and Their Use as a Health Promoting Feed Additive. *Animals*, *9* (10), 714.
- Potera, C. (2012). Understanding the germicidal effects of silver nanoparticles. In: National Institute of Environmental Health Sciences.
- Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, *27* (1), 76-83.
- Rees, N. V., Zhou, Y. G., & Compton, R. G. (2011). The aggregation of silver nanoparticles in aqueous solution investigated via anodic particle coulometry. *ChemPhysChem*, *12* (9), 1645-1647.
- Sistemática, D. d. C. R. R., Gabriela, S.-S., Daniela, F.-R., & Helia, B.-T. (2016). Copper Nanoparticles as Potential Antimicrobial Agent in Disinfecting Root Canals. A Systematic Review. *Int. J. Odontostomat*, *10* (3), 547-554.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, *15* (1), 65.
- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, *275* (1), 177-182.
- Stavitskaya, A., Batasheva, S., Vinokurov, V., Fakhrullina, G., Sangarov, V., Lvov, Y., & Fakhrullin, R. (2019). Antimicrobial applications of clay nanotube-based composites. *Nanomaterials*, *9* (5), 708.
- Stensberg, M. C., Wei, Q., McLamore, E. S., Porterfield, D. M., Wei, A., & Sepúlveda, M. S. (2011). Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging. *Nanomedicine*, *6* (5), 879-898.
- Sulpizi, M., Gaigeot, M. P., & Sprik, M. (2012). The Silica-Water Interface: How the Silanols Determine the Surface Acidity and Modulate the Water Properties. *J Chem Theory Comput*, *8* (3), 1037-1047. doi:10.1021/ct2007154
- Terrab, I., Boukoussa, B., Hamacha, R., Bouchiba, N., Roy, R., Bengueddach, A., & Azzouz, A. (2016). Insights in CO2 interaction on zeolite omega-supported polyol dendrimers. *Thermochimica Acta*, *624*, 95-101.
- Thuc, C.-N. H., Grillet, A.-C., Reinert, L., Ohashi, F., Thuc, H. H., & Duclaux, L. (2010). Separation and purification of montmorillonite and polyethylene oxide modified montmorillonite from Vietnamese bentonites. *Applied Clay Science*, *49* (3), 229-238.
- Vdović, N., Jurina, I., Škapin, S. D., & Sondi, I. (2010). The surface properties of clay minerals modified by intensive dry milling—revisited. *Applied Clay Science*, *48* (4), 575-580.
- Vincent, M., Duval, R. E., Hartemann, P., & Engels-Deutsch, M. (2018). Contact killing and antimicrobial properties of copper. *Journal of Applied microbiology*, *124* (5), 1032-1046.
- Williams, L. B., Metge, D. W., Eberl, D. D., Harvey, R. W., Turner, A. G., Prapaipong, P., & Poret-Peterson, A. T. (2011). What makes a natural clay antibacterial? *Environmental science & technology*, *45* (8), 3768-3773.

Yuan, P., Ding, X., Yang, Y. Y., & Xu, Q. H. (2018). Metal nanoparticles for diagnosis and therapy of bacterial infection. *Advanced healthcare materials*, 7 (13), 1701392.

Yun'an Qing, L. C., Li, R., Liu, G., Zhang, Y., Tang, X., Wang, J., . . . Qin, Y. (2018). Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *International journal of nanomedicine*, 13 , 3311.

Tables

Table 1. CO₂ retention capacity (mmol.g⁻¹) for the synthesized clay and CT-based samples

Clay samples	CRC	WRC	CT samples	CRC
Bentonite	2101.082	1.2282E-05	CT	-
NaMt	2261.979	2.0257E-06	H20@CT	38.35921
Ash	1752.185	1.91539E-06	Cu ⁰ /H20@CT	14.54479
Cu ⁰ /NaMt	55.418	-	Ag ⁰ /H20@CT	5.661805
Ag ⁰ NaMt	662.8791	-		

Table 2. Weight loss of clay and cellulose-based samples for different temperature ranges.

Sample	Temperature (°C)	Wight loos (%)
NaMt	40-90	0.7-0.8
Cu ⁰ /NaMt	140-480	6.6
Ag ⁰ /NaMt	90-470	9.4
CT	47-130	0-0.1
H20@CT	47-185	0.275
Cu ⁰ /CT	43-190	8.25
Ag ⁰ /CT	47-200	8.74
Cu ⁰ /H20@CT	32-200	4.675
Ag ⁰ /H20@CT	40-200	8.525

Table 3. Binding energy (eV) shifts for key elements in the synthesized materials

Element's name	Binding energy (eV)	Binding energy (eV)	Binding energy (eV)	Binding energy (eV)	Binding ener
	NaMt	Cu ⁰ /NaMt	Ag ⁰ /NaMt	CT	H20@CT
O 1s	532.55	531	527	533	532
C 1s	285.55	285	285	285	285
Al 2s	115	85.6	75.55	-	-
Si 2s	154.55	103	149	-	-
Ag 3d	-	-	364	-	-
Cu 2p	-	933	-	-	-
Ca 2s	439.55	-	-	-	-
Fe 2p	714.55	-	709	-	-

Table 4. Bacterial inhibition diameters (cm) and antibacterial activity evaluation for various studied CT-based systems

Investigated system	CT	Boltorn TM H20	H20@CT	Ag ⁰ /CT	Cu ⁰ /CT	Cu ⁰ /H20@CT	Ag ⁰ /H20@CT
---------------------	----	---------------------------	--------	---------------------	---------------------	-------------------------	-------------------------

<i>Bacillus</i> (cm)	-	-	-	1	1.6	3.5	2
Antibacterial activity	No	No	No	Strong	Strong	Strong	Strong
<i>E. coli</i> (cm)	-	-	-	-	0.5	1	0.9
Antibacterial activity	No	No	No	No	Weak	Strong	Weak

Figure & Scheme captions

Scheme 1. Schematic illustration of NaMt based samples before (H20@NaMt) and after metal dispersion (Metal/H20@NaMt) (a) and of CT based samples before (H20@CT) and after metal dispersion (Metal/H20@CT) (b).

Fig. 1. SEM of unloaded and of metal loaded NaMt and H20@CT (a) and of untreated cellulose (CT), polyol-functionalized cellulose (H20@CT), metal zero-loaded cellulose (MNPs/CT and MNPs/H20@CT) (b).

Fig. 2. XPS graphs of untreated NaMt and metal loaded counterparts (a) and of two key elements (Al2p, Si2p) for both NaMt and Ag⁰/NaMt (b).

Fig. 3. Effect of untreated matrices on *Bacillus Subtilis168* proliferation. Bacteria strain was incubated for 24h at 37°C with 5 mg of untreated clays NaMt (left dish), Boltorn™ H20 (middle dish) and H20@NaMt (right dish) (a). **Average diameter and dependence of inhibition zone of *E. coli* and *B. subtilis* treated with various amounts of antibacterial agents.** All Petri dishes were incubated for 24h at 37°C with a cell density of 0.5 at 600 nm (b).

Fig. 4. Antibacterial test of Ag⁰/NaMt and Cu⁰/NaMt clay- based samples. *Escherichia coli* (a1 and b1), *Bacillus subtilis168* (a2 and b2) were incubated for 24h at 37 °C with 5 mg of Cu⁰/NaMt (a1-2) or Ag⁰/NaMt (b1-2).

Fig. 5. Antibacterial test of MNP loaded in organoclay- based samples. *Escherichia coli* (a1, b1, c1 and d1), *Bacillus subtilis168* (a2, b2, c2 and d2) were incubated for 24h at 37 °C with 5 mg of Ag⁰/H20@NaMt (a1-2); Cu⁰/H20@NaMt (b1-2); Ag⁺/H20@NaMt (c1-2) and Cu²⁺/H20@NaMt (d1-2).

Hosted file

Figures & Schemes.docx available at <https://authorea.com/users/338170/articles/464175-metal-loaded-porous-polyhydroxylic-matrices-with-improved-antibacterial-properties>

BIBLIOGRAPHIE

- Abbanat, D., Morrow, B. et Bush, K. (2008). New agents in development for the treatment of bacterial infections. *Current opinion in pharmacology*, 8, p.582-92
- Aberdein, J., Cole, J., Bewley, M., Marriott, H. et Dockrell, D. (2013). Alveolar macrophages in pulmonary host defence—the unrecognized role of apoptosis as a mechanism of intracellular bacterial killing. *Clinical & Experimental Immunology*, 174, p.193-202
- Abou-Melha, K. S. (2008). Transition metal complexes of isonicotinic acid (2-hydroxybenzylidene) hydrazide. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 70, p.162-70
- Adekunle, O. O. (2012). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria, general approach. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, 1, p.166-87
- Akhtar, M. S., Panwar, J. et Yun, Y.-S. (2013). Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1, p.591-602
- Al-Obeid, S., Collatz, E. et Gutmann, L. (1990). Mechanism of resistance to vancomycin in *Enterococcus faecium* D366 and *Enterococcus faecalis* A256. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, p.252-6
- Al-Sha'alan, N. H. (2007). Antimicrobial activity and spectral, magnetic and thermal studies of some transition metal complexes of a Schiff base hydrazone containing a quinoline moiety. *Molecules*, 12, p.1080-91
- Alavi, M. et Rai, M. (2019). Recent advances in antibacterial applications of metal nanoparticles (MNPs) and metal nanocomposites (MNCs) against multidrug-resistant (MDR) bacteria. *Expert review of anti-infective therapy*, 17, p.419-28
- Alavi, M. et Rai, M. (2020). Topical delivery of growth factors and metal/metal oxide nanoparticles to infected wounds by polymeric nanoparticles: an overview. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 18, p.1021-32
- Ali, A., Shah, T., Ullah, R., Zhou, P., Guo, M., Ovais, M., . . . Rui, Y. (2021). Review on recent progress in magnetic nanoparticles: Synthesis, characterization, and diverse applications. *Frontiers in Chemistry*, 9, p.629054
- Allafchian, A. et Hosseini, S. S. (2019). Antibacterial magnetic nanoparticles for therapeutics: a review. *IET nanobiotechnology*, 13, p.786-99
- Allan, D. L. et Jarrell, W. M. (1989). Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls. *Plant Physiology*, 89, p.823-32

- Allen, H. K., Donato, J., Wang, H. H., Cloud-Hansen, K. A., Davies, J. et Handelsman, J. (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, 8, p.251-9
- Allen, S. L., Sharma, J. N. et Zamborini, F. P. (2017). Aggregation-dependent oxidation of metal nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 139, p.12895-8
- Allen, V. G., Seah, C., Martin, I. et Melano, R. G. (2014). Azithromycin resistance is coevolving with reduced susceptibility to cephalosporins in *Neisseria gonorrhoeae* in Ontario, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, p.2528-34
- Allothman, M., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2021). Design of Catalase Monolithic Tablets for Intestinal Targeted Delivery. *Pharmaceutics*, 13, p.69
- Alsohaimi, I. H., Nassar, A. M., Elnasr, T. a. S. et Amar Cheba, B. (2020). A novel composite silver nanoparticles loaded calcium oxide stemming from egg shell recycling: a potent photocatalytic and antibacterial activities. *Journal of Cleaner Production*, 248, p.119274
- Alswat, A. A., Ahmad, M. B., Saleh, T. A., Hussein, M. Z. B. et Ibrahim, N. A. (2016). Effect of zinc oxide amounts on the properties and antibacterial activities of zeolite/zinc oxide nanocomposite. *Materials Science and Engineering: C*, 68, p.505-11
- Amabile-Cuevas, C. (2010). Antibiotic resistance in Mexico: a brief overview of the current status and its causes. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4, p.126-31
- Amendola, V. et Meneghetti, M. (2009). Laser ablation synthesis in solution and size manipulation of noble metal nanoparticles. *Physical chemistry chemical physics*, 11, p.3805-21
- Amro, N. A., Kotra, L. P., Wadu-Mesthrige, K., Bulychev, A., Mobashery, S. et Liu, G.-Y. (2000). High-resolution atomic force microscopy studies of the *Escherichia coli* outer membrane: structural basis for permeability. *Langmuir*, 16, p.2789-96
- Anirudhan, T. et Parvathy, J. (2014). Novel semi-IPN based on crosslinked carboxymethylstarch and clay for the in vitro release of theophylline. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, p.238-45
- Ansari, S. a. M. K., Ficiarà, E., Ruffinatti, F. A., Stura, I., Argenziano, M., Abollino, O., . . . D'agata, F. (2019). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and functionalization for biomedical applications in the central nervous system. *Materials*, 12, p.465
- Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A. et Banin, E. (2012). Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress. *Small*, 8, p.3326-37
- Aree, T. (2019). Understanding structures and thermodynamics of beta-cyclodextrin encapsulation of chlorogenic, caffeic and quinic acids: Implications for enriching antioxidant capacity and masking bitterness in coffee. *Food Chemistry*, 293, p.550-60

- Arus, A. V., Tahir, M. N., Sennour, R., Shiao, T. C., Sallam, L. M., Nistor, I. D., . . . Azzouz, A. (2016a). CuO and PdO loaded Organo-Bentonites as Sponge-like Matrices for Hydrogen Reversible Capture at Ambient Conditions. *ChemistrySelect*, 1, p.1452-61
- Arus, A. V., Tahir, M. N., Sennour, R., Shiao, T. C., Sallam, L. M., Nistor, I. D., . . . Azzouz, A. (2016b). CuO and PdO loaded Organo-Bentonites as Sponge-like Matrices for Hydrogen Reversible Capture at Ambient Conditions. *ChemistrySelect*, 1, p.1452-61
- Arus, V. A., Nousir, S., Sennour, R., Shiao, T. C., Nistor, I. D., Roy, R. et Azzouz, A. (2018). Intrinsic affinity of acid-activated bentonite towards hydrogen and carbon dioxide. *International Journal of Hydrogen Energy*, 43, p.7964-72
- Ash, R. J., Mauck, B. et Morgan, M. (2002). Antibiotic resistance of gram-negative bacteria in rivers, United States. *Emerging infectious diseases*, 8, p.713
- Ashmore, D. A., Chaudhari, A., Barlow, B., Barlow, B., Harper, T., Vig, K., . . . Pillai, S. (2018). Evaluation of E. coli inhibition by plain and polymer-coated silver nanoparticles. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 60, p.
- Auría-Soro, C., Nesma, T., Juanes-Velasco, P., Landeira-Viñuela, A., Fidalgo-Gomez, H., Acebes-Fernandez, V., . . . Fuentes, M. (2019). Interactions of nanoparticles and biosystems: microenvironment of nanoparticles and biomolecules in nanomedicine. *Nanomaterials*, 9, p.1365
- Ávalos, A., Haza, A., Mateo, D. et Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente/Silver nanoparticles: applications and toxic risks to human health and environment. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 7, p.1
- Azam, A., Ahmed, A. S., Oves, M., Khan, M. et Memic, A. (2012). Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and-negative bacterial strains. *International journal of nanomedicine*, 7, p.3527
- Azhar, A., Rasool, S., Haque, A., Shan, S., Saeed, M., Ehsan, B. et Haque, A. (2017). Detection of high levels of resistance to linezolid and vancomycin in Staphylococcus aureus. *J. Med. Microbiol.*, 66, p.1328-31
- Azmi, I. J., Khajanchi, B. K., Akter, F., Hasan, T. N., Shahnaiz, M., Akter, M., . . . Ahmed, M. K. (2014). Fluoroquinolone resistance mechanisms of Shigella flexneri isolated in Bangladesh. *PLoS one*, 9, p.e102533
- Azzouz, A., Arus, V.-A., Platon, N., Ghomari, K., Nistor, I.-D., Shiao, T. C. et Roy, R. (2013a). Polyol-modified layered double hydroxides with attenuated basicity for a truly reversible capture of CO₂. *Adsorption*, 19, p.909-18
- Azzouz, A., Assaad, E., Ursu, A.-V., Sajin, T., Nistor, D. et Roy, R. (2010). Carbon dioxide retention over montmorillonite-dendrimer materials. *Applied Clay Science*, 48, p.133-7

- Azzouz, A., Nistor, D., Miron, D., Ursu, A., Sajin, T., Monette, F., . . . Hausler, R. (2006). Assessment of acid–base strength distribution of ion-exchanged montmorillonites through NH₃ and CO₂-TPD measurements. *Thermochimica Acta*, *449*, p.27-34
- Azzouz, A., Nousir, S., Bouazizi, N. et Roy, R. (2015). Metal–inorganic–organic matrices as efficient sorbents for hydrogen storage. *ChemSusChem*, *8*, p.800-3
- Azzouz, A., Nousir, S., Platon, N., Ghomari, K., Hersant, G., Bergeron, J.-Y., . . . Roy, R. (2013b). Preparation and characterization of hydrophilic organo-montmorillonites through incorporation of non-ionic polyglycerol dendrimers derived from soybean oil. *Materials Research Bulletin*, *48*, p.3466-73
- Azzouz, A., Nousir, S., Platon, N., Ghomari, K., Shiao, T. C., Hersant, G., . . . Roy, R. (2013c). Truly reversible capture of CO₂ by montmorillonite intercalated with soya oil-derived polyglycerols. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, *17*, p.140-7
- Azzouz, A., Platon, N., Nousir, S., Ghomari, K., Nistor, D., Shiao, T. C. et Roy, R. (2013d). OH-enriched organo-montmorillonites for potential applications in carbon dioxide separation and concentration. *Separation and Purification Technology*, *108*, p.181-8
- Bajpai, S., Chand, N. et Chaurasia, V. (2010). Investigation of water vapor permeability and antimicrobial property of zinc oxide nanoparticles-loaded chitosan-based edible film. *Journal of Applied Polymer Science*, *115*, p.674-83
- Bajpai, S. K., Chand, N. et Chaurasia, V. (2012). Nano zinc oxide-loaded calcium alginate films with potential antibacterial properties. *Food and Bioprocess Technology*, *5*, p.1871-81
- Bandla, M., Abbavaram, B. R., Kokkarachedu, V. et Sadiku, R. E. (2017). Silver nanoparticles incorporated within intercalated clay/polymer nanocomposite hydrogels for antibacterial studies. *Polymer Composites*, *38*, p.E16-E23
- Baranovskiy, A. G., Babayeva, N. D., Suwa, Y., Gu, J., Pavlov, Y. I. et Tahirov, T. H. (2014). Structural basis for inhibition of DNA replication by aphidicolin. *Nucleic Acids Res.*, *42*, p.14013-21
- Barros, D., Pradhan, A., Mendes, V. M., Manadas, B., Santos, P. M., Pascoal, C. et Cássio, F. (2019). Proteomics and antioxidant enzymes reveal different mechanisms of toxicity induced by ionic and nanoparticulate silver in bacteria. *Environmental Science: Nano*, *6*, p.1207-18
- Baun, D. L. et Christensen, T. H. (2004). Speciation of heavy metals in landfill leachate: a review. *Waste management & research*, *22*, p.3-23
- Behrouzi, A., Vaziri, F., Rad, F. R., Amanzadeh, A., Fateh, A., Moshiri, A., . . . Siadat, S. D. (2018). Comparative study of pathogenic and non-pathogenic Escherichia coli outer membrane vesicles and prediction of host-interactions with TLR signaling pathways. *BMC research notes*, *11*, p.1-7
- Beltrao-Nunes, A.-P., Sennour, R., Arus, V.-A., Anoma, S., Pires, M., Bouazizi, N., . . . Azzouz, A. (2019). CO₂ capture by coal ash-derived zeolites-roles of the intrinsic basicity and hydrophilic character. *Journal of Alloys and Compounds*, *778*, p.866-77

- Benjamin, J. S. (1970). Dispersion strengthened superalloys by mechanical alloying. *Metallurgical transactions*, *1*, p.2943-51
- Bergaya, F. et Lagaly, G. (2013). *Handbook of clay science*. Newnes
- Biegański, P., Szczupak, Ł., Arruebo, M. et Kowalski, K. (2021). Brief survey on organometalated antibacterial drugs and metal-based materials with antibacterial activity. *RSC Chemical Biology*, *2*, p.368-86
- Biehl, P., Von Der Lühe, M., Dutz, S. et Schacher, F. H. (2018). Synthesis, characterization, and applications of magnetic nanoparticles featuring polyzwitterionic coatings. *Polymers*, *10*, p.91
- Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H. M., Li, C., Hu, H. et Zhang, X. (2017). Development of silver nanoparticles loaded chitosan-alginate constructs with biomedical potentialities. *International journal of biological macromolecules*, *105*, p.393-400
- Binzet, G., Arslan, H., Flörke, U., Külcü, N. et Duran, N. (2006). Synthesis, characterization and antimicrobial activities of transition metal complexes of N, N-dialkyl-N'-(2-chlorobenzoyl) thiourea derivatives. *Journal of Coordination Chemistry*, *59*, p.1395-406
- Bondarenko, O., Ivask, A., Käkinen, A., Kurvet, I. et Kahru, A. (2013). Particle-cell contact enhances antibacterial activity of silver nanoparticles. *PLoS One*, *8*, p.e64060
- Bouazizi, N., Barrimo, D., Nousir, S., Ben Slama, R., Shiao, T. C., Roy, R. et Azzouz, A. (2017a). Metal-loaded polyol-montmorillonite with improved affinity towards hydrogen. *Journal of the Energy Institute*, *402*, p.314–22
- Bouazizi, N., Barrimo, D., Nousir, S., Ben Slama, R., Shiao, T. C., Roy, R. et Azzouz, A. (2018a). Metal-loaded polyol-montmorillonite with improved affinity towards hydrogen. *Journal of the Energy Institute*, *91*, p.110-9
- Bouazizi, N., Barrimo, D., Nousir, S., Slama, R. B., Roy, R. et Azzouz, A. (2017b). Montmorillonite-supported Pd0, Fe0, Cu0 and Ag0 nanoparticles: properties and affinity towards CO2. *Applied Surface Science*, *402*, p.314-22
- Bouazizi, N., Barrimo, D., Nousir, S., Slama, R. B., Shiao, T., Roy, R. et Azzouz, A. (2018b). Metal-loaded polyol-montmorillonite with improved affinity towards hydrogen. *Journal of the Energy Institute*, *91*, p.110-9
- Bragg, P. et Rainnie, D. (1974). The effect of silver ions on the respiratory chain of Escherichia coli. *Canadian journal of microbiology*, *20*, p.883-9
- Bruggraber, S. F., French, G., Thompson, R. P. et Powell, J. J. (2004). Selective and effective bactericidal activity of the cobalt (II) cation against Helicobacter pylori. *Helicobacter*, *9*, p.422-8
- Butler, M. S. et Buss, A. D. (2006). Natural products—the future scaffolds for novel antibiotics? *Biochem. Pharmacol.*, *71*, p.919-29

- Byarugaba, D. (2004). Antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. *International journal of antimicrobial agents*, 24, p.105-110
- Cai, X., Wang, Y., Du, X., Xing, X. et Zhu, G. (2020). Stability of pH-responsive Pickering emulsion stabilized by carboxymethylstarch/xanthan gum combinations. *Food Hydrocolloids*, 109, p.106093
- Camilli, R., Del Grosso, M., Iannelli, F. et Pantosti, A. (2008). New genetic element carrying the erythromycin resistance determinant erm (TR) in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52, p.619-25
- Capita, R. et Alonso-Calleja, C. (2013). Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53, p.11-48
- Carbone, M., Donia, D. T., Sabbatella, G. et Antiochia, R. (2016). Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *Journal of King Saud University-Science*, 28, p.273-9
- Carretero, M. I. (2002). Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review. *Applied Clay Science*, 21, p.155-63
- Casaburi, A., Rojo, Ú. M., Cerrutti, P., Vázquez, A. et Foresti, M. L. (2018). Carboxymethylcellulose with tailored degree of substitution obtained from bacterial cellulose. *Food Hydrocolloids*, 75, p.147-56
- Cerri, G., Farina, M., Brundu, A., Gavini, E., Salis, A. et Dathe, W. (2021). Antibacterial activity of Zn-loaded Cuban zeolite against *Helicobacter pylori* in comparison to its Na-loaded and unmodified counterparts. *Environmental Geochemistry and Health*, 43, p.2037-48
- Chacko, S. M., Thambi, P. T., Kuttan, R. et Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chin. Med.*, 5, p.13
- Chatterjee, A. K., Chakraborty, R. et Basu, T. (2014). Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotechnology*, 25, p.135101
- Chaurasia, V., Chand, N. et Bajpai, S. (2010). Water sorption properties and antimicrobial action of zinc oxide nanoparticles-loaded cellulose acetate films. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 47, p.309-17
- Chen, J., Fan, L., Yang, C., Wang, S., Zhang, M., Xu, J. et Luo, S. (2020). Facile synthesis of Ag nanoparticles-loaded chitosan antibacterial nanocomposite and its application in polypropylene. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, p.1286-95
- Chen, Y., Li, Y., Dai, L., Qin, G., Guo, J., Zhang, Q., . . . Zhang, S. (2021). High-efficiency Pd nanoparticles loaded porous organic polymers membrane catalytic reactors. *Chemical Communications*, 57, p.3131-4
- Chinedum, I. E. (2005). Microbial resistance to antibiotics. *African journal of Biotechnology*, 4, p.

- Chudobová, D. et Kizek, R. (2015). Nanotechnology in diagnosis, treatment and prophylaxis of infectious diseases. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*, 2, p.67-9
- Čík, G., Bujdáková, H. et Šeršeň, F. (2001). Study of fungicidal and antibacterial effect of the Cu (II)-complexes of thiophene oligomers synthesized in ZSM-5 zeolite channels. *Chemosphere*, 44, p.313-9
- Čík, G., Priesolová, S., Bujdáková, H., Šeršeň, F., Potheöová, T. et Krištín, J. (2006). Inactivation of bacteria G+-S. aureus and G--E. coli by phototoxic polythiophene incorporated in ZSM-5 zeolite. *Chemosphere*, 63, p.1419-26
- Costa, C., Conte, A., Buonocore, G. G. et Del Nobile, M. A. (2011). Antimicrobial silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf life of fresh fruit salad. *International Journal of Food Microbiology*, 148, p.164-7
- Courvalin, P. (1994). Transfer of antibiotic resistance genes between gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 38, p.1447-51
- Cragg, G. M. et Newman, D. J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830, p.3670-95
- Cronholm, P., Karlsson, H. L., Hedberg, J., Lowe, T. A., Winnberg, L., Elihn, K., . . . Möller, L. (2013). Intracellular uptake and toxicity of Ag and CuO nanoparticles: a comparison between nanoparticles and their corresponding metal ions. *Small*, 9, p.970-82
- Crooks, R. M., Zhao, M., Sun, L., Chechik, V. et Yeung, L. K. (2001). Dendrimer-encapsulated metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications to catalysis. *Accounts of chemical research*, 34, p.181-90
- Dakal, T., Kumar, A., Majumdar, R. et Yadav, V. (2016). *Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. Front Microbiol. 2016; 7: 1831.*
- Davidson, C. M., Thomas, R. P., Mcvey, S. E., Perala, R., Littlejohn, D. et Ure, A. M. (1994). Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy metals in sediments. *Analytica Chimica Acta*, 291, p.277-86
- De Souza, T. a. J., Souza, L. R. R. et Franchi, L. P. (2019). Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 171, p.691-700
- Decastro, C. et Mitchell, B. (2012). *Nanoparticles from mechanical attrition, in Synthesis, Functionalization, and Surface Treatment of Nanoparticles* : American Scientific Publishers California.
- Decastro, C. L. et Mitchell, B. S. (2002). Nanoparticles from mechanical attrition. *Synthesis, functionalization, and surface treatment of nanoparticles*, 5, p.

- Diaz, C., Barrientos, L., Carrillo, D., Valdebenito, J., Valenzuela, M. L., Allende, P., . . . O'dwyer, C. (2016). Solvent-less method for efficient photocatalytic α -Fe₂O₃ nanoparticles using macromolecular polymeric precursors. *New Journal of Chemistry*, 40, p.6768-76
- Dizman, B., Badger, J. C., Elasri, M. O. et Mathias, L. J. (2007). Antibacterial fluoromicas: a novel delivery medium. *Applied clay science*, 38, p.57-63
- Drlica, K. et Franco, R. J. (1988). Inhibitors of DNA topoisomerases. *Biochemistry*, 27, p.2253-9
- Dumitrache, F., Morjan, I., Alexandrescu, R., Ciupina, V., Prodan, G., Voicu, I., . . . Sandu, I. (2005). Iron-iron oxide core-shell nanoparticles synthesized by laser pyrolysis followed by superficial oxidation. *Applied Surface Science*, 247, p.25-31
- Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. et Egwurugwu, J. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of physical sciences*, 2, p.112-8
- Effenberger, F. B., Couto, R. A., Kiyohara, P. K., Machado, G., Masunaga, S. H., Jardim, R. F. et Rossi, L. M. (2017). Economically attractive route for the preparation of high quality magnetic nanoparticles by the thermal decomposition of iron (III) acetylacetonate. *Nanotechnology*, 28, p.115603
- Eirish, M. et Tret'yakova, L. (1970). The role of sorptive layers in the formation and change of the crystal structure of montmorillonite. *Clay Minerals*, 8, p.255-66
- El-Eskandarany, M. S. (2001). *Mechanical alloying: For fabrication of advanced engineering materials*. William Andrew
- El Badawy, A. M., Silva, R. G., Morris, B., Scheckel, K. G., Suidan, M. T. et Tolaymat, T. M. (2011). Surface charge-dependent toxicity of silver nanoparticles. *Environmental science & technology*, 45, p.283-7
- España, V. a. A., Sarkar, B., Biswas, B., Rusmin, R. et Naidu, R. (2019). Environmental applications of thermally modified and acid activated clay minerals: current status of the art. *Environmental Technology & Innovation*, 13, p.383-97
- Esteban-Cubillo, A., Pecharromán, C., Aguilar, E., Santarén, J. et Moya, J. S. (2006). Antibacterial activity of copper monodispersed nanoparticles into sepiolite. *Journal of materials science*, 41, p.5208-12
- Faedmaleki, F., F, H. S., Salarian, A. A., Ahmadi Ashtiani, H. et Rastegar, H. (2014). Toxicity Effect of Silver Nanoparticles on Mice Liver Primary Cell Culture and HepG2 Cell Line. *Iran J Pharm Res*, 13, p.235-42
- Fang, J., Lyon, D. Y., Wiesner, M. R., Dong, J. et Alvarez, P. J. (2007). Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior. *Environmental science & technology*, 41, p.2636-42
- Farrell, D., Morrissey, I., Bakker, S. et Felmingham, D. (2002). Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms among *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated from the PROTEKT 1999-2000 study. *J. Antimicrob. Chemother.*, 50, p.39-47

- Farrokhpay, S. (2009). A review of polymeric dispersant stabilisation of titania pigment. *Advances in Colloid and Interface Science*, 151, p.24-32
- Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F., Kim, T. et Kim, J. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of biomedical materials research*, 52, p.662-8
- Fernández, L. et Hancock, R. E. (2012). Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 25, p.661-81
- Franklin, T. et Snow, G. (1989). Inhibitors of protein synthesis. Dans *Biochemistry of Antimicrobial Action* (p. 112-36) : Springer.
- Fu, F., Li, L., Liu, L., Cai, J., Zhang, Y., Zhou, J. et Zhang, L. (2015). Construction of cellulose based ZnO nanocomposite films with antibacterial properties through one-step coagulation. *ACS applied materials & interfaces*, 7, p.2597-606
- Fujimoto, T., Terauchi, S.-Y., Umehara, H., Kojima, I. et Henderson, W. (2001). Sonochemical preparation of single-dispersion metal nanoparticles from metal salts. *Chemistry of Materials*, 13, p.1057-60
- Furukawa, Y., Watkins, J. L., Kim, J., Curry, K. J. et Bennett, R. H. (2009). Aggregation of montmorillonite and organic matter in aqueous media containing artificial seawater. *Geochemical transactions*, 10, p.1-11
- Gabrielyan, L. et Trchounian, A. (2019). Antibacterial activities of transient metals nanoparticles and membranous mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, p.1-10
- Galletta, M., Reekie, T. A., Nagalingam, G., Bottomley, A. L., Harry, E. J., Kassiou, M. et Triccas, J. A. (2020). Rapid Antibacterial activity of cannabichromenic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, 9, p.523
- Gallo, G. et Schillaci, D. (2021). Bacterial metal nanoparticles to develop new weapons against bacterial biofilms and infections. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, p.5357-66
- Gandra, S., Barter, D. et Laxminarayan, R. (2014). Economic burden of antibiotic resistance: how much do we really know? *Clinical microbiology and infection*, 20, p.973-80
- García-Ivars, J., Corbatón-Báguena, M.-J. et Iborra-Clar, M.-I. (2019). Development of mixed matrix membranes: Incorporation of metal nanoparticles in polymeric membranes. Dans *Nanoscale materials in water purification* (p. 153-78) : Elsevier.
- Gericke, M. et Pinches, A. (2006). Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*, 83, p.132-40

- Ghomari, K., Benhamou, A., Hamacha, R., Bengueddach, A., Nousir, S., Shiao, T. C., . . . Azzouz, A. (2015). TPD and DSC insights in the basicity of MCM-48-like silica and modified counterparts. *Thermochimica Acta*, *600*, p.52-61
- Ghomari, K., Boukoussa, B., Hamacha, R., Bengueddach, A., Roy, R. et Azzouz, A. (2017). Preparation of dendrimer polyol/mesoporous silica nanocomposite for reversible CO₂ adsorption: Effect of pore size and polyol content. *Separation Science and Technology*, *52*, p.2421-8
- Ghooi, R. et Thatte, S. (1995). Inhibition of cell wall synthesis—is this the mechanism of action of penicillins? *Medical hypotheses*, *44*, p.127-31
- Glauert, A. M. et Thornley, M. J. (1969). The topography of the bacterial cell wall. *Annual review of microbiology*, *23*, p.159-98
- Godoy-Gallardo, M., Eckhard, U., Delgado, L. M., De Roo Puente, Y. J., Hoyos-Nogués, M., Gil, F. J. et Perez, R. A. (2021). Antibacterial approaches in tissue engineering using metal ions and nanoparticles: From mechanisms to applications. *Bioactive Materials*, *6*, p.4470-90
- Gold, K., Slay, B., Knackstedt, M. et Gaharwar, A. K. (2018). Antimicrobial activity of metal and metal-oxide based nanoparticles. *Advanced Therapeutics*, *1*, p.1700033
- Gong, C.-P., Luo, Y. et Pan, Y.-Y. (2019). Novel synthesized zinc oxide nanoparticles loaded alginate-chitosan biofilm to enhanced wound site activity and anti-septic abilities for the management of complicated abdominal wound dehiscence. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *192*, p.124-30
- Gordon, O., Slenters, T. V., Brunetto, P. S., Villaruz, A. E., Sturdevant, D. E., Otto, M., . . . Fromm, K. M. (2010). Silver coordination polymers for prevention of implant infection: thiol interaction, impact on respiratory chain enzymes, and hydroxyl radical induction. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *54*, p.4208-18
- Greiner, M. T., Chai, L., Helander, M. G., Tang, W. M. et Lu, Z. H. (2012). Transition metal oxide work functions: the influence of cation oxidation state and oxygen vacancies. *Advanced Functional Materials*, *22*, p.4557-68
- Griffith, J. et Orgel, L. (1957). Ligand-field theory. *Quarterly Reviews, Chemical Society*, *11*, p.381-93
- Groot, M. J. et Van't Hooft, K. E. (2016). The hidden effects of dairy farming on public and environmental health in the Netherlands, India, Ethiopia, and Uganda, considering the use of antibiotics and other agro-chemicals. *Frontiers in public health*, *4*, p.12
- Grün, I. et Dirr, K. (1967). The differentiation of pathogenic and nonpathogenic staphylococci by estimation of the reduction of amido-blue-black and methylene blue. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *17*, p.391-4
- Gu, H., Xu, K., Xu, C. et Xu, B. (2006). Biofunctional magnetic nanoparticles for protein separation and pathogen detection. *Chemical Communications*, p.941-9

- Guglielmi, P., Pontecorvi, V. et Rotondi, G. (2020). Natural compounds and extracts as novel antimicrobial agents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 30, p.949-62
- Gunasundari, E., Senthil Kumar, P., Christopher, F. C., Arumugam, T. et Saravanan, A. (2017). Green synthesis of metal nanoparticles loaded ultrasonic-assisted spirulina platensis using algal extract and their antimicrobial activity. *IET Nanobiotechnology*, 11, p.754-8
- Gupta, A., Maynes, M. et Silver, S. (1998). Effects of halides on plasmid-mediated silver resistance in Escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, p.5042-5
- Guzmán, M. G., Dille, J. et Godet, S. (2009). Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *Int J Chem Biomol Eng*, 2, p.104-11
- Hachemaoui, M., Boukoussa, B., Mokhtar, A., Mekki, A., Beldjilali, M., Benaissa, M., . . . Sassi, M. (2020). Dyes adsorption, antifungal and antibacterial properties of metal loaded mesoporous silica: effect of metal and calcination treatment. *Materials Chemistry and Physics*, 256, p.123704
- Hakenbeck, R., Grebe, T., Zähler, D. et Stock, J. B. (1999). β -Lactam resistance in Streptococcus pneumoniae: penicillin-binding proteins and non-penicillin-binding proteins. *Mol. Microbiol.*, 33, p.673-8
- Hancock, R. E. (1998). Resistance mechanisms in Pseudomonas aeruginosa and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin. Infect. Dis.*, 27, p.S93-S9
- Harikumar, P. et Aravind, A. (2016). Antibacterial activity of copper nanoparticles and copper nanocomposites against Escherichia coli bacteria. *Int J Sci*, 5, p.83-90
- Hart, C. et Kariuki, S. (1998). Antimicrobial resistance in developing countries. *Bmj*, 317, p.647-50
- Harun, N. H., Mydin, R. B. S., Sreekantan, S., Saharudin, K. A., Basiron, N., Aris, F., . . . Seenii, A. (2020). Bactericidal capacity of a heterogeneous TiO₂/ZnO nanocomposite against multidrug-resistant and non-multidrug-resistant bacterial strains associated with nosocomial infections. *ACS omega*, 5, p.12027-34
- Hellmann, J., Hamano, M., Karthaus, O., Ijiri, K., Shimomura, M. et Irie, M. (1998). Aggregation of dendrimers with a photochromic dithienylethene core group on the mica surface-atomic force microscopic imaging. *Japanese journal of applied physics*, 37, p.L816
- Herrera, P., Burghardt, R. et Phillips, T. (2000). Adsorption of Salmonella enteritidis by cetylpyridinium-exchanged montmorillonite clays. *Veterinary microbiology*, 74, p.259-72
- Hornischer, K. et Häußler, S. (2016). Diagnostics and resistance profiling of bacterial pathogens. *How to Overcome the Antibiotic Crisis*, p.89-102
- Hrenović, J., Dekić, S., Dikić, J., Kazazić, S., Durn, G. et Rajić, N. (2020). Metal-loaded zeolite remediation of soils contaminated with pandrug-resistant. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 71, p.146-51

- Hsu, L.-Y., Tan, T.-Y., Tam, V. H., Kwa, A., Fisher, D. A. et Koh, T.-H. (2010). Surveillance and correlation of antibiotic prescription and resistance of Gram-negative bacteria in Singaporean hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54, p.1173-8
- Iqbal, T., Irfan, M., Ramay, S. M., Mahmood, A., Saleem, M. et Siddiqi, S. A. (2020). ZnO–PVA Polymer Matrix with Transition Metals Oxide Nano-fillers for High Dielectric Mediums. *Journal of Polymers and the Environment*, 28, p.2422-32
- Iszatt, J. J., Larcombe, A. N., Chan, H.-K., Stick, S. M., Garratt, L. W. et Kicic, A. (2021). Phage therapy for multi-drug resistant respiratory tract infections. *Viruses*, 13, p.1809
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H. et Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 53, p.101174
- Jansen, W., Van Der Bruggen, J., Verhoef, J. et Fluit, A. (2006). Bacterial resistance: a sensitive issue: complexity of the challenge and containment strategy in Europe. *Drug Resistance Updates*, 9, p.123-33
- Jarosz, M., Keppler, B. K. et Timerbaev, A. R. (2022). Current and emerging mass spectrometry methods for the preclinical development of metal-based drugs: a critical appraisal. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414, p.95-102
- Javanbakht, S., Pooresmaeil, M., Hashemi, H. et Namazi, H. (2018). Carboxymethylcellulose capsulated Cu-based metal-organic framework-drug nanohybrid as a pH-sensitive nanocomposite for ibuprofen oral delivery. *International journal of biological macromolecules*, 119, p.588-96
- Javanbakht, S., Pooresmaeil, M. et Namazi, H. (2019). Green one-pot synthesis of carboxymethylcellulose/Zn-based metal-organic framework/graphene oxide bio-nanocomposite as a nanocarrier for drug delivery system. *Carbohydrate polymers*, 208, p.294-301
- Ji, G. et Silver, S. (1995). Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern. *Journal of industrial microbiology*, 14, p.61-75
- Jiang, W., Yang, H.-C., Yang, S.-Y., Horng, H.-E., Hung, J., Chen, Y. et Hong, C.-Y. (2004). Preparation and properties of superparamagnetic nanoparticles with narrow size distribution and biocompatible. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 283, p.210-4
- Johanson, P. (2006). *Copper*. The Rosen Publishing Group, Inc
- Joshi, M., Purwar, R., Udakhe, J. S. et Sreedevi, R. (2015). *Antimicrobial nanocomposite compositions, fibers and films* : Google Patents.
- Kalsin, A. M., Pinchuk, A. O., Smoukov, S. K., Paszewski, M., Schatz, G. C. et Grzybowski, B. A. (2006). Electrostatic Aggregation and Formation of Core– Shell Suprastructures in Binary Mixtures of Charged Metal Nanoparticles. *Nano letters*, 6, p.1896-903

- Karbowniczek, J., Cordero-Arias, L., Virtanen, S., Misra, S. K., Valsami-Jones, E., Tuchscher, L., . . . Czyrska-Filemonowicz, A. (2017). Electrophoretic deposition of organic/inorganic composite coatings containing ZnO nanoparticles exhibiting antibacterial properties. *Materials Science and Engineering: C*, *77*, p.780-9
- Karkman, A., Do, T. T., Walsh, F. et Virta, M. P. (2018). Antibiotic-resistance genes in waste water. *Trends in microbiology*, *26*, p.220-8
- Keller, A. A., Wang, H., Zhou, D., Lenihan, H. S., Cherr, G., Cardinale, B. J., . . . Ji, Z. (2010). Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices. *Environmental science & technology*, *44*, p.1962-7
- Keshari, A. K., Srivastava, R., Singh, P., Yadav, V. B. et Nath, G. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cestrum nocturnum*. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, *11*, p.37-44
- Khameneh, B., Diab, R., Ghazvini, K. et Bazzaz, B. S. F. (2016). Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. *Microb. Pathog.*, *95*, p.32-42
- Khodakarami, M. et Bagheri, M. (2021). Recent advances in synthesis and application of polymer nanocomposites for water and wastewater treatment. *Journal of Cleaner Production*, *296*, p.126404
- Khorsandi, K., Hosseinzadeh, R., Sadat Esfahani, H., Keyvani-Ghamsari, S. et Ur Rahman, S. (2021). Nanomaterials as drug delivery systems with antibacterial properties: Current trends and future priorities. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, *19*, p.1299-323
- Khurana, C., Vala, A. K., Andhariya, N., Pandey, O. et Chudasama, B. (2014). Antibacterial activity of silver: the role of hydrodynamic particle size at nanoscale. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *102*, p.3361-8
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., . . . Hwang, C.-Y. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *3*, p.95-101
- Kim, S.-H., Lee, H.-S., Ryu, D.-S., Choi, S.-J. et Lee, D.-S. (2011). Antibacterial activity of silver-nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Microbiology and Biotechnology Letters*, *39*, p.77-85
- Knapp, C. W., Dolfing, J., Ehlert, P. A. et Graham, D. W. (2010). Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environmental science & technology*, *44*, p.580-7
- Kolář, M., Urbanek, K. et Látal, T. (2001). Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents*, *17*, p.357-63
- Komadel, P. (2016). Acid activated clays: Materials in continuous demand. *Applied Clay Science*, *131*, p.84-99

- Kosakowska, K. A., Casey, B. K., Albert, J. N., Wang, Y., Ashbaugh, H. S. et Grayson, S. M. (2018). Synthesis and Self-Assembly of Amphiphilic Star/Linear–Dendritic Polymers: Effect of Core versus Peripheral Branching on Reverse Micelle Aggregation. *Biomacromolecules*, *19*, p.3177-89
- Kotov, Y. A. (2003). Electric explosion of wires as a method for preparation of nanopowders. *Journal of nanoparticle research*, *5*, p.539-50
- Kurose, A., Tanaka, T., Huang, X., Traganos, F. et Darzynkiewicz, Z. (2006). Synchronization in the cell cycle by inhibitors of DNA replication induces histone H2AX phosphorylation: an indication of DNA damage. *Cell proliferation*, *39*, p.231-40
- Labelle, M. A., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2020). Structure-Functions Relationship of Modified Starches for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Starch-Stärke*, *72*, p.2000002
- Lapasam, A., Dkhar, L., Joshi, N., Poluri, K. M. et Kollipara, M. R. (2019). Antimicrobial selectivity of ruthenium, rhodium, and iridium half sandwich complexes containing phenyl hydrazone Schiff base ligands towards *B. thuringiensis* and *P. aeruginosa* bacteria. *Inorganica Chimica Acta*, *484*, p.255-63
- Le Ouay, B. et Stellacci, F. (2015). Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight. *Nano today*, *10*, p.339-54
- Lemire, J. A., Harrison, J. J. et Turner, R. J. (2013). Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nature Reviews Microbiology*, *11*, p.371-84
- Levy, C., Minnis, D. et Derrick, J. P. (2008). Dihydropteroate synthase from *Streptococcus pneumoniae*: structure, ligand recognition and mechanism of sulfonamide resistance. *Biochemical Journal*, *412*, p.379-88
- Levy, S. B. (1992). Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, *36*, p.695-703
- Levy, S. B. (1998). The challenge of antibiotic resistance. *Scientific American*, *278*, p.46-53
- Li, F.-T., Ran, J., Jaroniec, M. et Qiao, S. Z. (2015). Solution combustion synthesis of metal oxide nanomaterials for energy storage and conversion. *Nanoscale*, *7*, p.17590-610
- Lima, T. B., Pinto, M. F. S., Ribeiro, S. M., De Lima, L. A., Viana, J. C., Júnior, N. G., . . . Franco, O. L. (2013). Bacterial resistance mechanism: what proteomics can elucidate. *The FASEB Journal*, *27*, p.1291-303
- Lin, C., Fugetsu, B., Su, Y. et Watari, F. (2009). Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on *Arabidopsis* T87 suspension cells. *Journal of Hazardous Materials*, *170*, p.578-83
- Linder, M. C. (2001). Copper and genomic stability in mammals. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *475*, p.141-52

- Liu, Y. et Breukink, E. (2016). The membrane steps of bacterial cell wall synthesis as antibiotic targets. *Antibiotics*, 5, p.28
- Londono, S. C., Hartnett, H. E. et Williams, L. B. (2017). Antibacterial activity of aluminum in clay from the Colombian Amazon. *Environmental Science & Technology*, 51, p.2401-8
- Longley, D. et Johnston, P. (2005). Molecular mechanisms of drug resistance. *The Journal of Pathology*, 205, p.275-92
- Lorenz, B., Ali, N., Bocklitz, T., Rösch, P. et Popp, J. (2020). Discrimination between pathogenic and non-pathogenic E. coli strains by means of Raman microspectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, p.8241-7
- Losasso, C., Belluco, S., Cibir, V., Zavagnin, P., Mičetić, I., Gallochio, F., . . . Ricci, A. (2014). Antibacterial activity of silver nanoparticles: sensitivity of different Salmonella serovars. *Frontiers in microbiology*, 5, p.227
- Lou, G. et Huang, P. (1988). Hydroxy-aluminosilicate interlayers in montmorillonite: Implications for acidic environments. *Nature*, 335, p.625-7
- Macone, A., Caruso, B., Leahy, R., Donatelli, J., Weir, S., Draper, M., . . . Levy, S. (2014). In vitro and in vivo antibacterial activities of omadacycline, a novel aminomethylcycline. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 58, p.1127-35
- Makwana, D., Castano, J., Somani, R. S. et Bajaj, H. C. (2020). Characterization of Agar-CMC/Ag-MMT nanocomposite and evaluation of antibacterial and mechanical properties for packaging applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13, p.3092-9
- Malla, P., Ravindranathan, P., Komarneni, S. et Roy, R. (1991). Intercalation of copper metal clusters in montmorillonite. *Nature*, 351, p.555-7
- Mamaghani, A. H., Haghghat, F. et Lee, C.-S. (2019). Hydrothermal/solvothermal synthesis and treatment of TiO₂ for photocatalytic degradation of air pollutants: Preparation, characterization, properties, and performance. *Chemosphere*, 219, p.804-25
- Mani, R. (2018). Hard Soft Acid Base Theory (Hsab Theory) of Ralph Pearson. *Int. J. Sci. Res*, 7, p.29-31
- Mao, A., Xiang, H., Ran, X., Li, Y., Jin, X., Yu, H. et Gu, X. (2019). Plasma arc discharge synthesis of multicomponent Co-Cr-Cu-Fe-Ni nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 775, p.1177-83
- Markley, J. L. et Wencewicz, T. A. (2018). Tetracycline-Inactivating Enzymes. *Frontiers in Microbiology*, 9, p.1058
- Marquez, B. (2005). Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors. *Biochimie*, 87, p.1137-47
- Martin, S. et Griswold, W. (2009). Human health effects of heavy metals. *Environmental Science and Technology briefs for citizens*, 15, p.1-6

- Martinez-Gutierrez, F., Boegli, L., Agostinho, A., Sánchez, E. M., Bach, H., Ruiz, F. et James, G. (2013). Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *Biofouling*, 29, p.651-60
- Mazel, D. et Davies, J. (1999). Antibiotic resistance in microbes. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 56, p.742-54
- Mcgowan Jr, J. E. (2006). Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum. *American journal of infection control*, 34, p.S29-S37
- Mcmanus, M. C. (1997). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 54, p.1420-33
- Mello-Filho, A. C. et Meneghini, R. (1991). Iron is the intracellular metal involved in the production of DNA damage by oxygen radicals. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 251, p.109-13
- Milenkovic, J., Hrenovic, J., Matijasevic, D., Niksic, M. et Rajic, N. (2017). Bactericidal activity of Cu-, Zn-, and Ag-containing zeolites toward Escherichia coli isolates. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, p.20273-81
- Mittapally, S., Taranum, R. et Parveen, S. (2018). Metal ions as antibacterial agents. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8, p.411-9
- Moellering Jr, R. C. (2014). Tedizolid: a novel oxazolidinone for Gram-positive infections. *Clinical Infectious Diseases*, 58, p.S1-S3
- Moghaddam, V. A., Kasmaeifar, V., Mahmoodi, Z., Ghafouri, H., Saberi, O. et Mohammadi, A. (2021). A novel sulfamethoxazole derivative as an inhibitory agent against HSP70: a combination of computational with in vitro studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189, p.194-205
- Moloney, M. G. (2016). Natural products as a source for novel antibiotics. *Trends in Pharmacological Sciences*, 37, p.689-701
- Mosayebi, J., Kiyasatfar, M. et Laurent, S. (2017). Synthesis, functionalization, and design of magnetic nanoparticles for theranostic applications. *Advanced Healthcare Materials*, 6, p.1700306
- Motshekga, S. C., Pillai, S. K., Sinha Ray, S., Jalama, K. et Krause, R. (2012). Recent trends in the microwave-assisted synthesis of metal oxide nanoparticles supported on carbon nanotubes and their applications. *Journal of Nanomaterials*, 2012, p.
- Motshekga, S. C., Ray, S. S., Onyango, M. S. et Momba, M. N. (2013). Microwave-assisted synthesis, characterization and antibacterial activity of Ag/ZnO nanoparticles supported bentonite clay. *Journal of hazardous materials*, 262, p.439-46
- Mouton, J. (1999). Combination therapy as a tool to prevent emergence of bacterial resistance. *Infection*, 27, p.S24-S8

- Nabil, B., Christine, C., Julien, V. et Abdelkrim, A. (2018). Polyfunctional cotton fabrics with catalytic activity and antibacterial capacity. *Chemical Engineering Journal*, 351, p.328-39
- Nadziakiewicza, M., Kehoe, S. et Micek, P. (2019). Physico-chemical Properties of Clay Minerals and Their Use as a Health Promoting Feed Additive. *Animals*, 9, p.714
- Namivandi-Zangeneh, R., Wong, E. H. et Boyer, C. (2021). Synthetic antimicrobial polymers in combination therapy: tackling antibiotic resistance. *ACS Infectious Diseases*, 7, p.215-53
- Nanda, M., Kumar, V. et Sharma, D. (2019). Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to 'clean-up' heavy metal contaminants from water. *Aquatic toxicology*, 212, p.1-10
- Nawar, N. et Hosny, N. M. (1999). Transition metal complexes of 2-acetylpyridine o-hydroxybenzoylhydrazone (APo-OHBH): Their preparation, characterisation and antimicrobial activity. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 47, p.944-9
- Noori, F., Megoura, M., Labelle, M.-A., Mateescu, M. A. et Azzouz, A. (2022). Synthesis of Metal-Loaded Carboxylated Biopolymers with Antibacterial Activity through Metal Subnanoparticle Incorporation. *Antibiotics*, 11, p.439
- Noori, F., Neree, A. T., Megoura, M., Mateescu, M. A. et Azzouz, A. (2021). Insights into the metal retention role in the antibacterial behavior of montmorillonite and cellulose tissue-supported copper and silver nanoparticles. *Rsc advances*, 11, p.24156-71
- Noori, F., Tchoumi, N.-A., Megoura, M., Mateescu, M. A. et Azzouz, A. (2020). Metal-loaded porous polyhydroxylic matrices with improved antibacterial properties. *Authorea Preprints*, p.
- Nouri, A., Yaraki, M. T., Ghorbanpour, M., Agarwal, S. et Gupta, V. K. (2018). Enhanced Antibacterial effect of chitosan film using Montmorillonite/CuO nanocomposite. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, p.1219-31
- Nousir, S., Arus, V.-A., Shiao, T. C., Bouazizi, N., Roy, R. et Azzouz, A. (2019). Organically modified activated bentonites for the reversible capture of CO₂. *Microporous and Mesoporous Materials*, 290, p.109652
- Nousir, S., Ghomari, K., Roy, R. et Azzouz, A. (2013a). [Polyol-clay matrices with improved hydrophilic character and affinity towards CO₂ - Attempts to CO₂ concentration at room temperature]. CTSI-Cleantech 2013.
- Nousir, S., Platon, N., Ghomari, K., Sergentu, A.-S., Shiao, T. C., Hersant, G., . . . Azzouz, A. (2013b). Correlation between the hydrophilic character and affinity towards carbon dioxide of montmorillonite-supported polyalcohols. *Journal of Colloid and Interface Science*, 402, p.215-22
- Nousir, S., Sergentu, A.-S., Shiao, T. C., Roy, R. et Azzouz, A. (2014). Hybrid Clay Nanomaterials with Improved Affinity for Carbon Dioxide through Chemical Grafting of Amino Groups. *International Journal of Environmental Pollution and Remediation*, p.

- Noussir, S., Yemelong, G. T., Bouguedoura, S., Chabre, Y. M., Shiao, T. C., Roy, R. et Azzouz, A. (2017). Improved carbon dioxide storage over clay-supported perhydroxylated glucodendrimer. *Canadian Journal of Chemistry*, p.
- Odularu, A. T. (2018). Metal nanoparticles: thermal decomposition, biomedical applications to cancer treatment, and future perspectives. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2018, p.
- Ogushi, Y., Sakai, S. et Kawakami, K. (2007). Synthesis of enzymatically-gellable carboxymethylcellulose for biomedical applications. *Journal of bioscience and bioengineering*, 104, p.30-3
- Ounkaew, A., Kasemsiri, P., Jetsrisuparb, K., Uyama, H., Hsu, Y.-I., Boonmars, T., . . . Chindaprasirt, P. (2020). Synthesis of nanocomposite hydrogel based carboxymethylstarch/polyvinyl alcohol/nanosilver for biomedical materials. *Carbohydrate Polymers*, 248, p.116767
- Özdemir, G. et Yapar, S. (2020). Preparation and characterization of copper and zinc adsorbed cetylpyridinium and N-lauroylsarcosinate intercalated montmorillonites and their antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 188, p.110791
- Pal, K., Banthia, A. et Majumdar, D. (2006). Development of carboxymethylcellulose acrylate for various biomedical applications. *Biomedical Materials*, 1, p.85
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J. et Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37, p.177-92
- Parashar, M., Shukla, V. K. et Singh, R. (2020). Metal oxides nanoparticles via sol–gel method: a review on synthesis, characterization and applications. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31, p.3729-49
- Park, H.-J., Kim, J. Y., Kim, J., Lee, J.-H., Hahn, J.-S., Gu, M. B. et Yoon, J. (2009). Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. *Water research*, 43, p.1027-32
- Patel, S., Singh, D., Srivastava, S., Singh, M., Shah, K., Chauahn, D. N. et Chauhan, N. S. (2017). Nanoparticles as a platform for antimicrobial drug delivery. *Adv Pharmacol Pharm*, 5, p.31-43
- Pathak, T. K., Kroon, R., Craciun, V., Popa, M., Chifiriuc, M. et Swart, H. (2019). Influence of Ag, Au and Pd noble metals doping on structural, optical and antimicrobial properties of zinc oxide and titanium dioxide nanomaterials. *Heliyon*, 5, p.e01333
- Penesyanyan, A., Gillings, M. et Paulsen, I. T. (2015). Antibiotic discovery: combatting bacterial resistance in cells and in biofilm communities. *Molecules*, 20, p.5286-98
- Peng, C., Tong, H., Yuan, P., Sun, L., Jiang, L. et Shi, J. (2019). Aggregation, sedimentation, and dissolution of copper oxide nanoparticles: influence of low-molecular-weight organic acids from root exudates. *Nanomaterials*, 9, p.841

- Pfeifer, Y., Cullik, A. et Witte, W. (2010). Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int. J. Med. Microbiol.*, 300, p.371-9
- Phan, D.-N., Dorjjugder, N., Saito, Y., Khan, M. Q., Ullah, A., Bie, X., . . . Kim, I.-S. (2020). Antibacterial mechanisms of various copper species incorporated in polymeric nanofibers against bacteria. *Materials Today Communications*, 25, p.101377
- Pitton, J.-S. (1972). Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Ergebnisse der Physiologie Reviews of Physiology, Volume 65*, p.15-93
- Pooresmaeil, M. et Namazi, H. (2021). Developments on carboxymethylstarch-based smart systems as promising drug carriers: A review. *Carbohydrate Polymers*, 258, p.117654
- Potera, C. (2012). *Understanding the germicidal effects of silver nanoparticles* : National Institute of Environmental Health Sciences.
- Prathna, T., Chandrasekaran, N. et Mukherjee, A. (2011). Studies on aggregation behaviour of silver nanoparticles in aqueous matrices: effect of surface functionalization and matrix composition. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 390, p.216-24
- Qureshi, M. A., Nishat, N., Jadoun, S. et Ansari, M. Z. (2020). Polysaccharide based superabsorbent hydrogels and their methods of synthesis: A review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 1, p.100014
- Rahman, S., Huang, Y., Zhu, L., Feng, S., Khan, I., Wu, J., . . . Wang, X. (2018). Therapeutic Role of Green Tea Polyphenols in Improving Fertility: A Review. *Nutrients*, 10, p.834-
- Rai, M., Yadav, A. et Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology advances*, 27, p.76-83
- Rai, M. K., Deshmukh, S., Ingle, A. et Gade, A. (2012). Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 112, p.841-52
- Raman, N., Dhaveethu Raja, J. et Sakthivel, A. (2007). Synthesis, spectral characterization of Schiff base transition metal complexes: DNA cleavage and antimicrobial activity studies. *Journal of Chemical sciences*, 119, p.303-10
- Ramasamy, M. et Lee, J. (2016). Recent nanotechnology approaches for prevention and treatment of biofilm-associated infections on medical devices. *BioMed Research International*, 2016, p.
- Ramyadevi, J., Jeyasubramanian, K., Marikani, A., Rajakumar, G. et Rahuman, A. A. (2012). Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials letters*, 71, p.114-6
- Rao, Z., Ge, H., Liu, L., Zhu, C., Min, L., Liu, M., . . . Li, D. (2018). Carboxymethylcellulose modified graphene oxide as pH-sensitive drug delivery system. *International journal of biological macromolecules*, 107, p.1184-92

- Ravindran, A., Chandran, P. et Khan, S. S. (2013). Biofunctionalized silver nanoparticles: advances and prospects. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, p.342-52
- Rees, N. V., Zhou, Y. G. et Compton, R. G. (2011). The aggregation of silver nanoparticles in aqueous solution investigated via anodic particle coulometry. *ChemPhysChem*, 12, p.1645-7
- Ren, B., Kandjani, A. E., Chen, M., Field, M. R., Oppedisano, D. K., Bhargava, S. K. et Jones, L. A. (2019). Preparation of Au nanoparticles on a magnetically responsive support via pyrolysis of a Prussian blue composite. *Journal of colloid and interface science*, 540, p.563-71
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology*, 4, p.482
- Ribeiro, A. I., Dias, A. M. et Zille, A. (2022). Synergistic effects between metal nanoparticles and commercial antimicrobial agents: A Review. *ACS Applied Nano Materials*, 5, p.3030-64
- Robertson, G. T., Bonventre, E. J., Doyle, T. B., Du, Q., Duncan, L., Morris, T. W., . . . Lynch, A. S. (2008). In vitro evaluation of CBR-2092, a novel rifamycin-quinolone hybrid antibiotic: studies of the mode of action in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52, p.2313-23
- Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., . . . Heur, O. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New microbes and new infections*, 6, p.22-9
- Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R. et Ghasemzadeh, A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21, p.836
- Saboktakin, M. R., Maharramov, A. et Ramazanov, M. A. (2009). Synthesis and characterization of superparamagnetic nanoparticles coated with carboxymethylstarch (CMS) for magnetic resonance imaging technique. *Carbohydrate polymers*, 78, p.292-5
- Sahraei, R. et Ghaemy, M. (2017). Synthesis of modified gum tragacanth/graphene oxide composite hydrogel for heavy metal ions removal and preparation of silver nanocomposite for antibacterial activity. *Carbohydrate polymers*, 157, p.823-33
- Sánchez-López, E., Gomes, D., Esteruelas, G., Bonilla, L., Lopez-Machado, A. L., Galindo, R., . . . Souto, E. B. (2020). Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview. *Nanomaterials (Basel)*, 10, p.292
- Sandeep Kumar, V. (2013). Magnetic nanoparticles-based biomedical and bioanalytical applications. *J Nanomed Nanotechnol*, 4, p.e130
- Saravanan, A., Kumar, P. S., Devi, G. K. et Arumugam, T. (2016). Synthesis and characterization of metallic nanoparticles impregnated onto activated carbon using leaf extract of *Mukia maderasapatna*: Evaluation of antimicrobial activities. *Microbial pathogenesis*, 97, p.198-203
- Saravanan, R. et Ravikumar, L. (2015). The use of new chemically modified cellulose for heavy metal ion adsorption and antimicrobial activities. *Journal of water resource and protection*, 7, p.530

- Saravolatz, L. D., Stein, G. E. et Johnson, L. B. (2009). Telavancin: a novel lipoglycopeptide. *Clinical Infectious Diseases*, 49, p.1908-14
- Saravolatz, L. D., Stein, G. E. et Johnson, L. B. (2011). Ceftaroline: a novel cephalosporin with activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*, 52, p.1156-63
- Sarwat, S. G. (2017). Contamination in wet-ball milling. *Powder Metallurgy*, 60, p.267-72
- Scalbert, A. et Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *J Nutr*, 130, p.2073S--85S
- Seiler, C. et Berendonk, T. U. (2012). Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Frontiers in microbiology*, 3, p.399
- Seipenbusch, M. et Binder, A. (2009). Structural stabilization of metal nanoparticles by chemical vapor deposition-applied silica coatings. *The Journal of Physical Chemistry C*, 113, p.20606-10
- Sekkal, K. N. E. H., Ouargli-Saker, R., Lachachi, A. K., Zekkari, M., Beltrao-Nunes, A.-P., Michelin, L., . . . Azzouz, A. (2021). Effect of copper dispersion on SBA-15 and SBA-16 affinity towards carbon dioxide—an approach through thermal programmed desorption. *Journal of Nanoparticle Research*, 23, p.154
- Sennour, R., Shiao, T. C., Arus, V. A., Tahir, M. N., Bouazizi, N., Roy, R. et Azzouz, A. (2017a). CuO-Loaded organo-montmorillonite with improved affinity towards hydrogen: an insight into matrix-metal and non-contact hydrogen-metal interactions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19, p.29333-43
- Sennour, R., Shiao, T. C., Arus, V. A., Tahir, M. N., Bouazizi, N., Roy, R. et Azzouz, A. (2017b). Cu O-Loaded organo-montmorillonite with improved affinity towards hydrogen: an insight into matrix–metal and non-contact hydrogen–metal interactions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 19, p.29333-43
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K. et Poinern, G. E. J. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8, p.7278-308
- Shaheen, B. W., Nayak, R., Foley, S. L. et Boothe, D. M. (2013). Chromosomal and plasmid-mediated fluoroquinolone resistance mechanisms among broad-spectrum-cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from companion animals in the USA. *J. Antimicrob. Chemother.*, 68, p.1019-24
- Sharma, R. K. et Agrawal, M. (2005). Biological effects of heavy metals: an overview. *Journal of environmental Biology*, 26, p.301-13
- Shin, D., Matsuda, Y. et Bernstein, E. (2004). On the iron oxide neutral cluster distribution in the gas phase. II. Detection through 118 nm single photon ionization. *The Journal of chemical physics*, 120, p.4157-64

- Shortridge, V. D., Flamm, R. K., Ramer, N., Beyer, J. et Tanaka, S. K. (1996). Novel mechanism of macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 26, p.73-8
- Sistemática, D. D. C. R. R., Gabriela, S.-S., Daniela, F.-R. et Helia, B.-T. (2016). Copper Nanoparticles as Potential Antimicrobial Agent in Disinfecting Root Canals. A Systematic Review. *Int. J. Odontostomat*, 10, p.547-54
- Sköld, O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Vet. Res.*, 32, p.261-73
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O. et Bach, H. (2017a). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15, p.1-20
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O. et Bach, H. (2017b). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15, p.65
- Soler-Illia, G. J. et Azzaroni, O. (2011). Multifunctional hybrids by combining ordered mesoporous materials and macromolecular building blocks. *Chemical Society Reviews*, 40, p.1107-50
- Sondi, I. et Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, 275, p.177-82
- Spychaj, T., Zdanowicz, M., Kujawa, J. et Schmidt, B. (2013). Carboxymethylstarch with high degree of substitution: synthesis, properties and application. *Polimery*, 58, p.503-11
- Staroń, A. et Długosz, O. (2021). Antimicrobial properties of nanoparticles in the context of advantages and potential risks of their use. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 56, p.680-93
- Stavitskaya, A., Batasheva, S., Vinokurov, V., Fakhullina, G., Sangarov, V., Lvov, Y. et Fakhullin, R. (2019). Antimicrobial applications of clay nanotube-based composites. *Nanomaterials*, 9, p.708
- Stensberg, M. C., Wei, Q., Mclamore, E. S., Porterfield, D. M., Wei, A. et Sepúlveda, M. S. (2011). Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging. *Nanomedicine*, 6, p.879-98
- Stepanov, A., Hole, D. et Townsend, P. (2000). Excimer laser annealing of glasses containing implanted metal nanoparticles. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 166, p.882-6
- Stojanović, Ž., Jeremić, K. et Jovanović, S. (2000). Synthesis of carboxymethylstarch. *Starch-Stärke*, 52, p.413-9
- Stojanović, Ž., Jeremić, K., Jovanović, S. et Lechner, M. D. (2005). A comparison of some methods for the determination of the degree of substitution of carboxymethylstarch. *Starch-Stärke*, 57, p.79-83
- Stubenrauch, C., Wielpütz, T., Sottmann, T., Roychowdhury, C. et Disalvo, F. J. (2008). Microemulsions as templates for the synthesis of metallic nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 317, p.328-38

- Su, J.-F., Huang, Z., Yuan, X.-Y., Wang, X.-Y. et Li, M. (2010). Structure and properties of carboxymethylcellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate polymers*, 79, p.145-53
- Suleiman, H. a. H. L. A. et Haddadin, R. (2019). Antimicrobial Activity of Metal-Loaded Zeolites Against *S. aureus* and *E. coli*. *Jordan Journal of Chemistry (JJC)*, 14, p.61-8
- Sulpizi, M., Gaigeot, M. P. et Sprik, M. (2012). The Silica-Water Interface: How the Silanols Determine the Surface Acidity and Modulate the Water Properties. *Journal of chemical theory and computation*, 8, p.1037-47
- Sultan, I., Rahman, S., Jan, A. T., Siddiqui, M. T., Mondal, A. H. et Haq, Q. M. R. (2018). Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: a bacterial perspective. *Front Microbiol*, 9, p.2066
- Susanti, D., Aminudin, N. I., Ismail, M. W., Taher, M., Shafiee, S. A., Danial, W. H. et Hamzah, N. (2022). Nanotechnology-based approaches for antitubercular drug delivery. Dans *Emerging Nanomaterials and Nano-Based Drug Delivery Approaches to Combat Antimicrobial Resistance* (p. 365-94) : Elsevier.
- Suzuki, T., Yamate, T., Hara, J., Wada, K. et Niinae, M. (2021). Inactivation of bacteria using Fe³⁺-loaded montmorillonite. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9, p.105637
- Tahir, M. N., Sennour, R., Arus, V. A., Sallam, L. M., Roy, R. et Azzouz, A. (2017). Metal organoclays with compacted structure for truly physical capture of hydrogen. *Applied Surface Science*, 398, p.116-24
- Tan, J., Liu, R., Wang, W., Liu, W., Tian, Y., Wu, M. et Huang, Y. (2010). Controllable aggregation and reversible pH sensitivity of AuNPs regulated by carboxymethylcellulose. *Langmuir*, 26, p.2093-8
- Tang, S. et Zheng, J. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *Advanced healthcare materials*, 7, p.1701503
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, 119, p.S3-S10
- Terrab, I., Boukoussa, B., Hamacha, R., Bouchiba, N., Roy, R., Bengueddach, A. et Azzouz, A. (2016). Insights in CO₂ interaction on zeolite omega-supported polyol dendrimers. *Thermochimica acta*, 624, p.95-101
- Thakkar, K. N., Mhatre, S. S. et Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 6, p.257-62
- Theophanides, T. et Anastassopoulou, J. (2002). Copper and carcinogenesis. *Critical reviews in oncology/hematology*, 42, p.57-64
- Thuc, C.-N. H., Grillet, A.-C., Reinert, L., Ohashi, F., Thuc, H. H. et Duclaux, L. (2010). Separation and purification of montmorillonite and polyethylene oxide modified montmorillonite from Vietnamese bentonites. *Applied Clay Science*, 49, p.229-38

- Turel, I. et Kljun, J. (2011). Interactions of metal ions with DNA, its constituents and derivatives, which may be relevant for anticancer research. *Current topics in medicinal chemistry*, 11, p.2661-87
- Uddin, F. (2018). *Montmorillonite: An introduction to properties and utilization*. IntechOpen London, UK
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., . . . Sahibzada, M. U. K. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 14, p.1750-66
- Ujihara, M. et Imae, T. (2010). Hierarchical structures of dendritic polymers. *Polymer international*, 59, p.137-44
- Van Duijkeren, E., Schink, A.-K., Roberts, M. C., Wang, Y. et Schwarz, S. (2018). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Microbiology spectrum*, 6, p.6.2. 14
- Van Goethem, M. W., Pierneef, R., Bezuidt, O. K., Van De Peer, Y., Cowan, D. A. et Makhalanyane, T. P. (2018). A reservoir of 'historical' antibiotic resistance genes in remote pristine Antarctic soils. *Microbiome*, 6, p.1-12
- Varadwaj, G. B. B. et Parida, K. (2013). Montmorillonite supported metal nanoparticles: an update on syntheses and applications. *Rsc Advances*, 3, p.13583-93
- Vázquez, D. (2012). Inhibitors of protein biosynthesis. p.
- Velkov, T. et Roberts, K. D. (2019). Discovery of novel polymyxin-like antibiotics. *Polymyxin Antibiotics: From Laboratory Bench to Bedside*, p.343-62
- Verma, R., Pathak, S., Srivastava, A. K., Praver, S. et Tomljenovic-Hanic, S. (2021). ZnO nanomaterials: Green synthesis, toxicity evaluation and new insights in biomedical applications. *Journal of Alloys and Compounds*, 876, p.160175
- Vincent, M., Duval, R. E., Hartemann, P. et Engels-Deutsch, M. (2018). Contact killing and antimicrobial properties of copper. *Journal of applied microbiology*, 124, p.1032-46
- Wakshlak, R. B.-K., Pedahzur, R. et Avnir, D. (2015). Antibacterial activity of silver-killed bacteria: the "zombies" effect. *Scientific reports*, 5, p.1-5
- Wan, F., Draz, M. S., Gu, M., Yu, W., Ruan, Z. et Luo, Q. (2021). Novel strategy to combat antibiotic resistance: a sight into the combination of CRISPR/Cas9 and nanoparticles. *Pharmaceutics*, 13, p.352
- Wang, C. Y., Makvandi, P., Zare, E. N., Tay, F. R. et Niu, L. N. (2020). Advances in antimicrobial organic and inorganic nanocompounds in biomedicine. *Advanced Therapeutics*, 3, p.2000024
- Wang, J., Ji, B., Shu, Y., Chen, W., Zhu, L. et Chen, F. (2018). Cr (VI) Removal from Aqueous Solution Using Starch and Sodium Carboxymethylcellulose-Coated Fe and Fe/Ni Nanoparticles. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27, p.

- Wang, Z., Lee, Y.-H., Wu, B., Horst, A., Kang, Y., Tang, Y. J. et Chen, D.-R. (2010). Anti-microbial activities of aerosolized transition metal oxide nanoparticles. *Chemosphere*, *80*, p.525-9
- Widdowson, C. A., Adrian, P. V. et Klugman, K. P. (2000). Acquisition of chloramphenicol resistance by the linearization and integration of the entire staphylococcal plasmid pC194 into the chromosome of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, *44*, p.393-5
- Williams, L. B., Metge, D. W., Eberl, D. D., Harvey, R. W., Turner, A. G., Prapaipong, P. et Poret-Peterson, A. T. (2011). What makes a natural clay antibacterial? *Environmental science & technology*, *45*, p.3768-73
- Witte, W. (2000). Selective pressure by antibiotic use in livestock. *Int. J. Antimicrob. Agents*, *16*, p.19-24
- Wolter, N., Smith, A. M., Farrell, D. J., Schaffner, W., Moore, M., Whitney, C. G., . . . Klugman, K. P. (2005). Novel mechanism of resistance to oxazolidinones, macrolides, and chloramphenicol in ribosomal protein L4 of the pneumococcus. *Antimicrob. Agents Chemother.*, *49*, p.3554-7
- Wright, G. D. (2010). Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? *BMC Biol.*, *8*, p.1-6
- Wu, K., Su, D., Liu, J., Saha, R. et Wang, J.-P. (2019). Magnetic nanoparticles in nanomedicine: A review of recent advances. *Nanotechnology*, *30*, p.502003
- Xiu, Z.-M., Zhang, Q.-B., Puppala, H. L., Colvin, V. L. et Alvarez, P. J. (2012). Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano letters*, *12*, p.4271-5
- Xu, L., Chen, G., Peng, C., Qiao, H., Ke, F., Hou, R., . . . Wan, X. (2017). Adsorptive removal of fluoride from drinking water using porous starch loaded with common metal ions. *Carbohydrate Polymers*, *160*, p.82-9
- Yamanaka, M., Hara, K. et Kudo, J. (2005). Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Applied and environmental microbiology*, *71*, p.7589-93
- Yan, A. et Chen, Z. (2019). Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*, p.1003
- Yan, H., Chen, X., Bao, C., Yi, J., Lei, M., Ke, C., . . . Lin, Q. (2020a). Synthesis and assessment of CTAB and NPE modified organo-montmorillonite for the fabrication of organo-montmorillonite/alginate based hydrophobic pharmaceutical controlled-release formulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *191*, p.110983
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q. et Li, F. (2020b). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Anim. Nutr.*, *6*, p.115-23

- Yang, Z., Zhao, T., Huang, X., Chu, X., Tang, T., Ju, Y., . . . Gao, S. (2017). Modulating the phases of iron carbide nanoparticles: from a perspective of interfering with the carbon penetration of Fe@ Fe₃O₄ by selectively adsorbed halide ions. *Chemical science*, *8*, p.473-81
- Yu, S.-J., Chao, J.-B., Sun, J., Yin, Y.-G., Liu, J.-F. et Jiang, G.-B. (2013). Quantification of the uptake of silver nanoparticles and ions to HepG2 cells. *Environmental science & technology*, *47*, p.3268-74
- Yu, Y., Xu, Q., He, S., Xiong, H., Zhang, Q., Xu, W., . . . Yu, Z. (2019). Recent advances in delivery of photosensitive metal-based drugs. *Coordination Chemistry Reviews*, *387*, p.154-79
- Yuan, P., Ding, X., Yang, Y. Y. et Xu, Q. H. (2018). Metal nanoparticles for diagnosis and therapy of bacterial infection. *Advanced Healthcare Materials*, *7*, p.1701392
- Yun'an Qing, L. C., Li, R., Liu, G., Zhang, Y., Tang, X., Wang, J., . . . Qin, Y. (2018). Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *International journal of nanomedicine*, *13*, p.3311
- Zahid, M., Nadeem, N., Hanif, M. A., Bhatti, I. A., Bhatti, H. N. et Mustafa, G. (2019). Metal ferrites and their graphene-based nanocomposites: synthesis, characterization, and applications in wastewater treatment. Dans *Magnetic nanostructures* (p. 181-212) : Springer.
- Zapun, A., Contreras-Martel, C. et Vernet, T. (2008). Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev*, *32*, p.361-85
- Zare-Akbari, Z., Farhadnejad, H., Furughi-Nia, B., Abedin, S., Yadollahi, M. et Khorsand-Ghayeni, M. (2016). PH-sensitive bionanocomposite hydrogel beads based on carboxymethylcellulose/ZnO nanoparticle as drug carrier. *International journal of biological macromolecules*, *93*, p.1317-27
- Zhang, C. X. et Lippard, S. J. (2003). New metal complexes as potential therapeutics. *Current opinion in chemical biology*, *7*, p.481-9
- Zhang, J., Guo, W., Li, Q., Wang, Z. et Liu, S. (2018). The effects and the potential mechanism of environmental transformation of metal nanoparticles on their toxicity in organisms. *Environmental Science: Nano*, *5*, p.2482-99
- Zhang, P., Zhang, Y., Gao, M. et Zhang, X. (2016). Dendrimer-assisted hydrophilic magnetic nanoparticles as sensitive substrates for rapid recognition and enhanced isolation of target tumor cells. *Talanta*, *161*, p.925-31
- Zhang, W. (2014). Nanoparticle aggregation: principles and modeling. *Nanomaterial*, p.19-43
- Zhao, Q., Wendlandt, S., Li, H., Li, J., Wu, C., Shen, J., . . . Wang, Y. (2014). Identification of the novel lincosamide resistance gene lnu (E) truncated by IS Enfa5-cfr-IS Enfa5 insertion in *Streptococcus suis*: de novo synthesis and confirmation of functional activity in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, *58*, p.1785-8
- Zhu, S.-B. (1995). Interactions of water, ions, and atoms with metal surfaces. *Surface Science*, *329*, p.276-84