

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة محمد البشير الابراهيمي - برج بوعريريج

UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI – BORDJ BOUARRERIDJ
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Matière



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Filière : Chimie
Spécialité : Chimie des matériaux

Intitulé

Préparation d'un système IPN de polymères à usage pharmaceutique

Présenté Par :
BENMERZOUG DJELLAL
TOUKAL ISLAM MOHAMED ELAMINE

Le : 25 / 06 / 2023

Jury de soutenance :

Présidente :	Hamma Amel	MCA	Université B.B.A
Encadreur :	Mekhalif Tahar	MCA	Université B.B.A
Examinatrice :	Mehri mouna	MCB	Université B.B.A

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Au nom d'Allah le tout puissant qui nous a accordé force et Patience pour accomplir ce travail.

Ces remerciements vont tout d'abord au corps professoral et administratif de la Faculté science et technologie, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui Déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

*Notre remerciements vont à notre encadreur **Mr Mekhalif Taher**, pour toute sa gentillesse, pour ses précieux conseils et pour sa patience avec nous, ainsi tous ceux qui nous ont aidés et soutenues de notre travail.*

*Merci pour les membres du laboratoire de SNV université de BBA
Finalement je remercie les membres du jury.*



Dédicace

Au nom de DIEU le Clément et le Miséricordieux Louange à ALLAH le Tout-puissant En tout premier lieu

Je dédie ce modeste travail J'ai l'honneur de dédie ce travail :

A ma mère et mon père

A tous ceux qui me sont chers

A mes frères et

A toute ma famille Benmerzoug

A mon camarade

Mahdi belkhairi

Soultan zawach

Aymen Meguellati

Ali boukhemis

De classe chimie des matériaux

A mes compagnons de travail.





Dédicace

Au nom de DIEU le Clément et le Miséricordieux Louange à ALLAH le Tout-puissant En tout premier lieu

Je dédie ce modeste travaille J'ai l'honneur de dédie ce travail :

A ma mère et mon père

A tous ceux qui me sont chers

A toute ma famille TOUKAL

A mes frères

Mahdi belkhairi

Grina djalal

Ahmed tebbane

Sohaib benarib

Soultan zawach

Aymen Meguellati

Bilal meguellati

Group RG Studio

A mes camarades

De classe chimie des matériaux et Analytique

A mes compagnons de travail.



SOMMAIRE

Remerciements

LISTE D ES FIGURES

Liste des tableau

LISTE DES ABREVIATIONS

Résumé

INTRODUCTION GENERALE.....	1
Chapitre I : LES BACTERIES	
I. 1. Bactéries définition et généralités	3
I. 1. 2. Structure des bactéries	4
I. 1. 2. 1. Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif	5
I. 1. 2. 2. Structure de la paroi des bactéries à Gram positif.....	5
I. 1. 3. La classification bactérienne	6
I. 1. 4. Les biofilms bactériens	7
I. 1. 4. 1. Caractéristiques des biofilms	8
I. 2. Contamination des surfaces	10
I. 2. 1. Mécanismes de la contamination des surfaces	10
I. 2. 2. Objectifs du mesurage des surfaces	11
I. 3. Stratégies préventives pour maîtriser la Bio contamination	11
I. 3. 1. Stratégie antiadhésive	12
I. 3. 2. Stratégie bioactive	13
I. 3. 3. Stratégie (release killing).....	13
I. 4. Mécanisme d'inhibition sur les bactéries.....	13
Chapitre II: LES POLYMERES	
II. 1. INTRODUCTION	15
II. 2. Les différents types de polymérisations	15
II. 2. 1. 1. Polymérisation radicalaire	15
II. 2. 1. 2. Polymérisation ionique.....	17
II. 2. 1. 2. 1. Polymérisation anionique	17
II. 2. 1. 2. 2. Polymérisation cationique.....	17
II.3. Structure des Polymères	17
II. 3. 1. Réseaux Interpénétrés de Polymères (RIP).....	17
II. 3. 1. 1. Définition	18

<i>II. 3. 1. 2. Les types des Réseaux Interpénétrés de Polymères (RIP)</i>	18
<i>a. RIP séquentiels</i>	18
<i>b. Réseaux Interpénétrés Simultanés</i>	19
<i>c. Latex RIP</i>	19
<i>d. Gradient RIP</i>	19
<i>e. Semi RIP (S-RIP)</i>	19
<i>II. 3. 1. 3. Applications des RIPs</i>	20
<i>II. 4. Nature des Matériaux utilisés</i>	20
<i>II. 4.1. Poly (alcool vinylique) (PVA)</i>	20
<i>II. 4. 1. 1.Généralités</i>	20
<i>II. 4. 1. 2. Synthèse</i>	20
<i>II. 4. 1. 3. Caractéristiques du PVA</i>	22
<i>II. 4. 1. 4. Avantages et inconvénients du PVA</i>	25
<i>II. 4. 2. L'Argent et les Bactéries</i>	25
<i>a. Activité antibactérienne des nanoparticules d'Ag⁺</i>	25
<i>b. Mécanismes d'action d'Ag</i>	26

Chapitre III : Matériels et Méthodes

<i>III. 1. Introduction</i>	28
<i>III. 2. L'organigramme</i>	29
<i>III. 3. Matériel et méthode</i>	30
<i>III. 3. 1. Matériels et Produits</i>	30
<i>III. 3. 1. 2. Produits et réactifs utilisés</i>	30
<i>III. 3. 1. 3. Monomère</i>	31
<i>III. 4. Préparation des solutions</i>	32
<i>III. 4. 1. Solution mère de PVA</i>	32
<i>III. 4. 2. Préparations de solutions de monomère</i>	32
<i>III. 4. 3. Préparations solutions d'Amorceur (Le Sulfate ammonium de fer)</i>	32
<i>III. 4. 4. Préparations solutions de principe active (La métronidazole Razès)</i>	32
<i>III. 4. 5. Préparations de la solution de sel d'Argent (Ag₂SO₄)</i>	33
<i>III. 5. Mode opératoire</i>	33
<i>III. 5. 1. Elaboration des réseaux R IPs de polymères</i>	33
<i>III. 6. Etude de l'activité antibactérienne</i>	34
<i>III. 6. 1. Méthode de diffusion des disques</i>	34
<i>III. 6. 2. Matériel et produit</i>	35
<i>a. Matériels utilisé</i>	35
<i>b. Produits utilisés</i>	35

<i>III. 6. 3. Choix des milieux de culture</i>	35
<i>III. 6. 4. Préparation des disques de films</i>	35
<i>III. 6. 5. Stérilisation du matériel</i>	36
<i>III. 6. 6. Préparation de l'inoculum</i>	36
<i>III. 6. 7. Disques d'antibiotiques</i>	36
<i>III. 6. 8. Protocole expérimentale</i>	36
<i>III. 6. 8. 1. Milieu</i>	36
<i>III. 6. 8. 2. Ensemencement et dépôt des disques</i>	37
<i>III. 6. 8. 3. Lectures (antibiogramme)</i>	40
<i>III. 7. Analyses spectroscopiques IR</i>	40
<i>III. 7. 1. Spectres d'analyse IR</i>	40
Chapitre IV : RESULTAT ET DISCUSSION	
<i>IV. RESULTATS ET DISCUSSIONS</i>	41
<i>IV. 1. Aspect visuel</i>	41
<i>IV. 2. Les analyses IR</i>	42
<i>IV. 2. 1. Spectres IR des différents composés synthétisés.</i>	42
<i>IV. 2. 2. Spectre infrarouge du polymère</i>	43
<i>IV. 3. Résultats d'activité bactérienne des disques</i>	46
<i>IV. 3. 1. Analyses Bactériologiques</i>	49
<i>Conclusion</i>	50
<i>Références bibliographiques</i>	51

LISTE D ES FIGURES

Figure I.1 : Les différentes formes des bactéries : Bâtonnets (a), sphériques (b)	3
Figure I.2 : Structure générale d'une bactérie.	5
Figure I.3 : Schéma des enveloppes des bactéries gram-négatif (a) et gram-positif (b).	6
Figure I.4 : Morphologie Microscopique des bactéries.....	6
Figure I.5 : Biofilm produit par une souche de Staphylococcus epidermidis dans un système en microplaque	8
Figure I.6 : Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.	10
Figure I.7 : Evolution dans le temps du nombre de publications Liées aux Problématique des infections microbiennes	12
Figure I.8 : Mécanisme d'action antibactérienne des poly cations avec des Ammoniums Quaternaires et de segemnts hydrophoes	14
Figure II.0 : Structure Chimique du poly [TEGDA] réticulé.....	15
Figure II.1 : Montre un schéma explicatif d'une réaction en chaine.....	16
Figure II.2 : Formation d'un réseau interpénétré de polymère séquentiel.	18
Figure II.3 : Formation d'un réseau interpénétré de polymère Simultané.	19
Figure II.4 : Hydrolyse du poly (acétate de vinyle) conduisant à la formation de poly (alcool vinylique).....	21
Figure II.5 : Tautomérie de l'alcool vinylique.	21
Figure II.6 : Diagramme du procédé de fabrication industrielle de PVA.	22
Figure II.7 : Compétition entre liaisons hydrogène intermoléculaires et liaisons hydrogène avec l'eau	24
Figure II.8 : Solubilité de la poudre de PVA dans l'eau en fonction Du taux d'hydrolyse à différentes températures.	24
Figure II.9 : Accumulation de nanoparticules d'argent dans des Bactéries de l'espèce Pseudomonas aeruginosa	26
Figure II.10 : Site d'action des ions Ag ⁺ sur les cellules bactériennes.	27
Figure III.0 : représentation des étapes suivies dans l'élaboration des films RIP.....	29
Figure III.1 : La structure chimique de TEGDA.	31
Figure III.2 : Opération importante permet d'éviter l'agrégation Des particules par un sonicateur... 34	34
Figure III.3 : Coulage du milieu de culture dans des boites pétries.....	37
Figure III.4 : Opération d'Ensemencement sur la gélose nutritive.....	38
Figure III.5 : Principe de la méthode de diffusion sur disques.	38
Figure III.6 : Le dépôt des disques (antibiotiques, disques des Films préparés et les disques de papier filtre) sur le milieu de ma suspension bactérienne.....	39
Figure III.7 : Photo des différentes préparations avant Etuvage.....	39
Figure IV.1 : photos montrant l'aspect des différents films préparés.	41
Figure IV.2 : Specter IR, PVA+ TEGDA+ FeNH ₄ (SO ₄) ₂	42
Figure IV.3 : Specter IR, PVA TEGDA+ FeNH ₄ (SO ₄) ₂ + Principe active.....	42
Figure IV.4 : Specter IR, PVA TEGDA+ FeNH ₄ (SO ₄) ₂ + Principe active +Ag ⁺ SO ₄	43
Figure IV.5.a : Résultats de test d'activité antibactérienne des effets des différents disques sur E. coli 1pt.	46
Figure IV.6.b : Résultats de test d'activité antibactérienne des effets des différents disques sur E. coli 2pt	47
Figure IV.7.c : Résultats de test d'activité antibactérienne des effets des différents disques sur E. coli 4pt	48

Liste des tableaux

Tableau III.1 : Les matériels utilisé.....	30
Tableau III.2 : Liste des produits et réactifs utilisés.....	30
Tableau III.3 : Souche et Référence Escherichia coli.....	35
Tableau IV.1 : L'attribution des bandes observées pour l'PETGDA.....	44
Tableau IV.2.a : Résultats de l'activité antibactérienne 1pt	45
Tableau IV.3.b : Résultats de l'activité antibactérienne 2pt.....	46
Tableau IV.4.c : Résultats de l'activité antibactérienne 4pt.....	47

LISTE DES ABREVIATIONS

PVA :	Alcool polyvinylique.
PVAc :	Acétate de polyvinyle
TEGDA :	Tri éthylène glycol di méthacrylate.
IR:	Infra-Rouge.
Fe SO₄(NH₄)₂:	Sulfate ammonium de fer.
Ag₂SO₄:	Sulfate d'argent.
C₆H₉N₃O₃:	Metronidazole Razes.
E. coli:	Escherichia coli.
ATB :	Antibiotique.
NCCLS :	National Commette of Clinical Laboratoire Standards.
t:	Temps (s).
T :	Température.
λ :	Langueur d'onde.
APL :	Acide poly lactique.
APG :	Acide poly glycolique.
RIP :	Réseaux Interpénétrés de Polymères.
IPN :	Interpénétrating Polymère Network.

Résumé L'utilisation de PolyVinyl Acetate comme système de délivrance de médicament est un excellent choix dans la classe des biomatériaux en raison de sa facilité de préparation, de sa nature non toxique et non cancérogène et de sa compatibilité avec le corps humain. Le présent travail se concentre alors sur la synthèse d'hydrogels de PVA en présence de TEGDA réticulés et d'ions métalliques Ag^+ avec et sans principe actif choisi, suivis de leur caractérisation en utilisant l'analyse FTIR et Microscope optique et enfin pour évaluer ses propriétés une analyse Bactériologique.

La réaction de réticulation de l'RIP a été effectuée en utilisant un agent de réticulation qui est le TEGDA et $FeSO_4 (NH_4)$ comme catalyseur. Un médicament anti-inflammatoire, a été choisi comme médicament modèle. Les hydrogels de PVA synthétisés ont été utilisés comme système substrat pour le médicament.

L'analyse par spectroscopie infrarouge a mis en évidence l'apparition de nouvelles bandes et la disparition d'autres bandes qui représentent le phénomène de la réticulation, et de chélation. Au cours de l'essai de la résistance bactérienne, les performances des films préparés semblent être très bonnes.

Mots clés: alcool polyvinylique, médicament, hydrogels, particules d'Ag.

Summary The use of polyvinyl alcohol (PVA) as a drug delivery system is an excellent choice in the biomaterial class due to its ease of preparation, non-toxic and non-carcinogenic nature, and compatibility with the human body. the present work then focuses on the synthesis of PVA hydrogels in the presence of cross-linked TEGDA and Ag^+ metal ions with and without a chosen active principle, followed by their characterization using FTIR and Optical Microscope analysis and finally to evaluate its properties Bacteriological analysis.

The IPN crosslinking reaction was carried out using a crosslinking agent which is TEGDA and $FeSO_4 (NH_4)_2$ as a catalyst.

An anti-inflammatory drug was chosen as a model drug. The synthesized PVA hydrogels were used as a substrate system for the drug.

Analysis by infrared spectroscopy revealed the appearance of new bands and the disappearance of other bands which represent the phenomenon of crosslinking and chelation. During the bacterial resistance test, the performance of the prepared films seems to be very good.

Key words: polyvinyl alcohol, biomaterials, hydrogels, Ag particles.

ملخص:

يعد استخدام كحول البولي فينيل (PVA) كنظام لتوصيل الأدوية اختياراً ممتازاً في فئة المواد الحيوية نظراً لسهولة تحضيره وطبيعته غير السامة وغير المسببة للسرطان والتوافق مع جسم الإنسان. يركز العمل الحالي بعد ذلك على توليف الهلاميات المائية PVA في وجود أيونات TEGDA و Ag^+ المعدنية المتشابكة مع وبدون مبدأ نشط مختار ، متبوعاً بتوصيفها باستخدام تحليل FTIR والميكروسكوب البصري وأخيراً لتقييم خصائصها التحليل البكتريولوجي.

تم إجراء تفاعل التشابك لـ IPN باستخدام عامل تشابك وهو TEGDA و $(FeSO_4 (NH_4)_2)$ كمحفز. تم اختيار عقار مضاد للالتهابات كدواء نموذجي. تم استخدام الهلاميات المائية PVA المركبة كنظام ركيزة للدواء. كشف التحليل بواسطة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء عن ظهور نطاقات جديدة واختفاء نطاقات أخرى تمثل ظاهرة التشابك والتشكيل. أثناء اختبار المقاومة البكتيرية ، يبدو أن أداء الأفلام المحضرة جيد جداً. الكلمات المفتاحية كحول بولي فينيل ، دواء ، هيدروجيل ، جزيئات Ag.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les polymères d'une manière générale apportent un avantage particulier aux applications médicales du fait de leurs propriétés fonctionnelles : biocompatibilité, usage unique, innocuité aseptisation

Par exemple, la biocompatibilité est la propriété indispensable pour les matériaux médicaux, elle désigne la capacité d'un matériau, à être inerte d'un point de vue toxicologique, mais également à être totalement compatible à l'organisme humain, sans engendrer de réaction inflammatoire. Les chercheurs essaient de mettre au point des modes de transport nouveaux, par exemple en présence de nanoparticules [1].

Depuis quelques années, on place de grands espoirs dans les polymères. On étudie par exemple de quelle manière les polymères associés aux nanoparticules qui peuvent aider à transporter des substances actives aux différents organes atteints.

Un autre exemple, qui devient de plus en plus important dans ce secteur sont les réseaux de polymères tridimensionnels. La plupart sont constitués d'PLA (acide polylactique), le PVA et l'PGA (acide polyglycolique) [2].

Les RIPs sont formés surtout par photo-polymérisation de monomères multifonctionnels (RIP). Dans le cas de monomère monofonctionnel il est nécessaire d'ajouter un agent réticulant. Ces derniers présentent un faible taux de gonflement si leur degré de réticulation est élevé. Ainsi, la synthèse de Réseaux Interpénétrés de Polymères (RIP) est devenue une voie de développement régulière pour obtenir un réseau de polymères stable dans le temps.

On utilise cette technique de combinaison de deux polymères de propriétés physiques et de natures chimiques différentes pour avoir des produits finaux d'intérêt pratique avec des performances supérieures aux produits de départ. Dans certains cas ces matériaux sont biodégradables et sont absorbés par le corps humain (particules résorbables, film sur capsule.) [3].

Ici dans notre cas, nous avons tenté de mettre au point de nouveaux biomatériaux de type RIP compatibles et dégradables à base de polymère vinyliques le PVA et Tétrahydrofur Glycol di-Acrylate (TEGDA). Que nous avons fait polymériser afin d'obtenir des polymères interpénétrés avec des molécules actives, en l'occurrence la Métronidazole, un médicament

INTRODUCTION GENERALE

utilisé dans le traitement antibactérien, en présence de nanoparticules d'Ag pour un effet synergétique. Ce type de polymères dégradables serait une alternative à l'utilisation de nanoparticules pour délivrer des traitements antibactériens.

Nous avons également modifié le taux de réticulation du polymère afin de trouver la structure la plus efficace pour agir sur les bactéries, trouvé le moyen de faciliter la diffusion du PA et celui des nanoparticules générées [4].

Une interaction est créée entre le polymère 'RIP', les particules d'Ag et le médicament 'PA'. Ces nanoparticules pourraient transporter plus efficacement les substances actives aux organes atteints et afin que le polymère libère au bon moment son principe actif, c'est-à-dire au niveau des sites malade, et pas trop tôt, pour que l'action des médicaments soit mieux ciblée. Pour le moment, les tests effectués sur bactérie *E. Coli* ont été plus ou moins concluants.

Le manuscrit de ce mémoire est constitué de quatre chapitres dans lesquels ; **Le premier partie** représente une étude bibliographique concernant les polymères, les réseaux interpénétrés de polymères et les bactéries, ainsi que des généralités sur les méthodes d'élaboration des échantillons et les techniques de caractérisations des polymères.

La synthèse des différents systèmes par la technique de photo-polymérisation. Pour cela, les matériaux employés ainsi que la technique de photo-polymérisation seront revues. Une attention particulière est également portée sur la conversion des monomères de liquide en un réseau solide par une analyse spectroscopique infrarouge à transformée de Fourier.

Le deuxième partie est consacré à une étude des propriétés des réseaux de polymères RIPs, en utilisant les dispositifs de mesures pour l'analyse cinétique d'adsorption et de désorption du PA contenu dans le réseau du polymère en fonction du temps ou de la concentration et ceci dans le but d'aboutir à la synthèse des réseaux RIPs souhaités. Et enfin une analyse bactériologique a été élaborée.

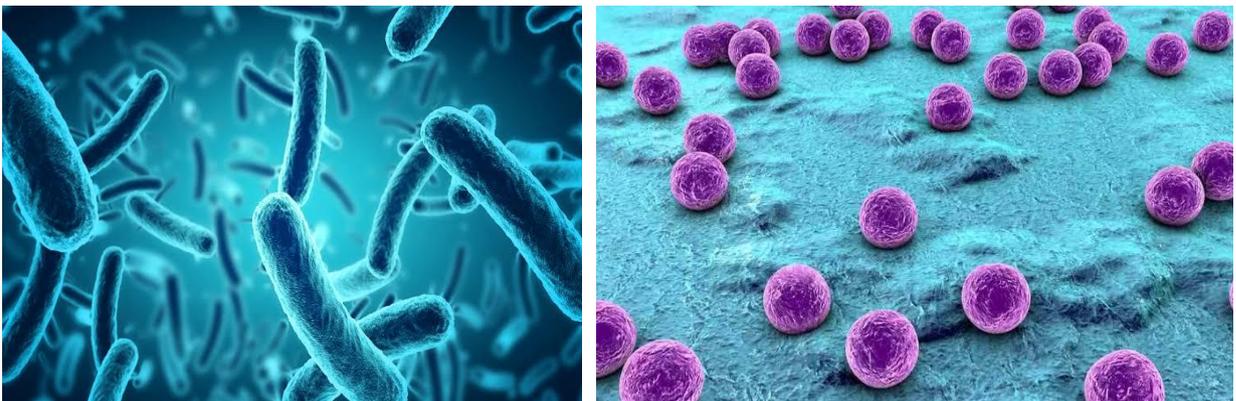
Ce travail s'achève naturellement par la présentation d'une conclusion générale qui récapitule succinctement les différents travaux entrepris dans ce mémoire. Elle met en valeur les principaux résultats obtenus et donne quelques perspectives.

Chapitre I :
LES BACTERIES

I. 1. Bactéries définition et généralités

En 1676, Antoni Van Leeuwenhoek observait pour la première fois des micro-organismes à la surface de ses dents, 1 qu'il appela « animalcules », grâce à un microscope de son invention. De part cette découverte, on l'associe souvent au début de la recherche en microbiologie. Presque deux siècles plus tard, en 1838, le microbiologiste Christian Gottfried Ehrenberg baptisera ces micro-organismes du nom de « bactérie », un dérivé du mot grec βακτηριον [bakterion] qui signifie « bâtonnet » [5].

Les bactéries sont des micro-organismes vivants, au même titre que les virus et les champignons [6].



(a)

(b)

Figure 1.1 : Les différentes formes de bactéries :

Bâtonnets (a), sphériques (b) [6].

Les bactéries sont très nombreuses et ont souvent été considérées comme des agents pathogènes et agressifs, responsables de maladies plus ou moins graves. Mais, contrairement au virus, ce n'est pas toujours le cas... En effet, le corps humain est colonisé par de nombreuses bactéries qui constituent la « flore commensale » [7]. Par exemple, au niveau du système digestif, le microbiote intestinal, largement impliqué dans les processus de digestion et de défense de l'organisme, est composé d'environ mille milliards de bactéries [6].

I. 1. 2. Structure des bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autre organite dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. À l'exception des mycoplasmes, les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon que la bactérie est à Gram positif ou négatif. De nombreuses bactéries possèdent des flagelles, des pilis, ou une capsule à l'extérieur de la paroi.

Aussi bien les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif ont une membrane cytoplasmique formée d'une bicouche lipidique associée à des protéines. Dans les Deux cas le composant principal de structure de la paroi est le peptidoglycane, un réseau Tridimensionnel de chaînes polysaccharidiques (Composées de N-acétylglucosamine et 'd'acide N-acétylmuramique) et d'acides aminés [8].

Chez les bactéries, on distingue des structures obligatoires, présentes chez toutes les bactéries et des structures dont la présence est facultative et caractérisent certains groupes bactériens, supplémentaires comme les substances de réserve. Dans le cytoplasme, on trouve l'appareil nucléaire diffus non entouré par une membrane. La membrane cytoplasmique qui entoure le cytoplasme possède deux feuillets phospholipidiques contenant des protéines. Au-dessus de la membrane cytoplasmique, on trouve la paroi (sauf chez les mycoplasmes) qui forme une enveloppe rigide.

Les structures facultatives, quant à elles, peuvent être des polymères de surface comme la capsule, des appendices comme les flagelles et les pile ou des structures génétiques comme les plasmides (molécules d'ADN extra chromosomiques). Les endospores caractérisent quelques genres bactériens (Bacillus et Clostridium); elles ne sont élaborées que lorsque les conditions de vie deviennent défavorables.

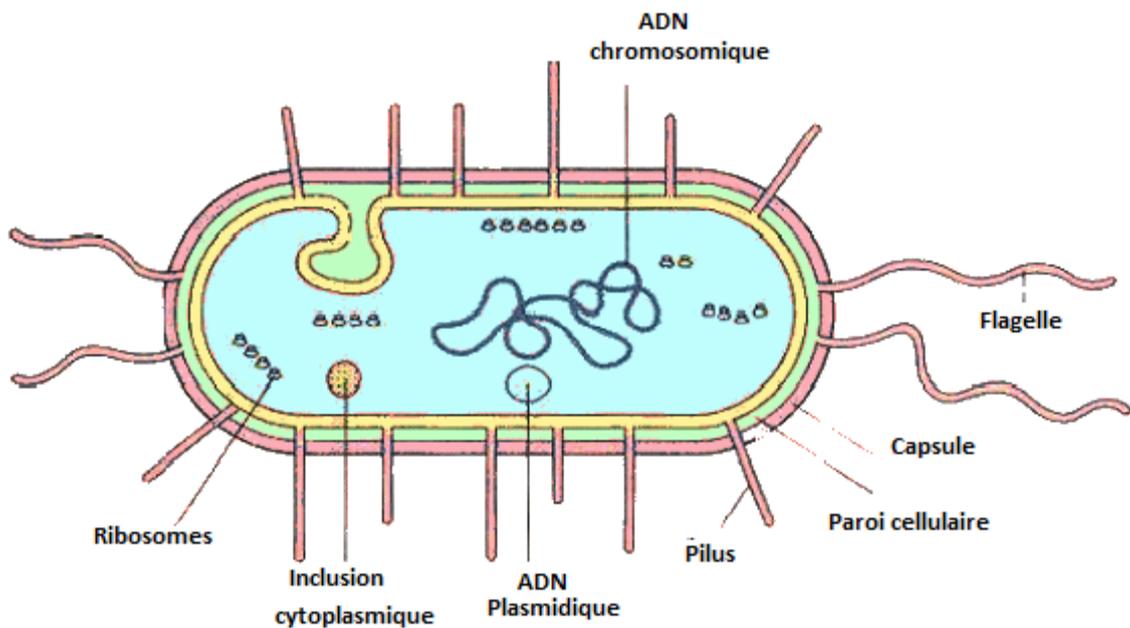


Figure I.2 : Structure générale d'une bactérie [8].

I. 1. 2. 1. Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif

Les bactéries gram-négatif possèdent deux membranes lipidiques qui délimitent un espace péri plasmique dans lequel se trouve un réseau de peptidoglycanes de quelques feuillets d'épaisseur seulement n'excédant pas 3 nm. L'enveloppe bactérienne sert aussi de palissade qui s'oppose à la diffusion passive des molécules vers le cytosol mécanismes de résistance gram-négatif. Premièrement, car l'ensemble des stratégies mises en œuvre par les bactéries gram-positif le sont aussi chez les gram-négatif et que ces dernières, du fait de leur ultrastructure particulière (figure I.3).

gram-négatif sont dotées d'une membrane externe qui délimite un espace péri plasmique contenant quelques feuillets de peptidoglycanes Cette membrane externe à une composition lipidique asymétrique Cette barrière efficace contre la diffusion passive des antibiotiques [9].

I. 1. 2. 2. Structure de la paroi des bactéries à Gram positif

Les gram-positif arborent à la surface de leur membrane plasmique un échafaudage de peptidoglycanes complexe et dense, constitué de très nombreux feuillets et pouvant atteindre une trentaine de nanomètres d'épaisseur Ces réseaux de peptidoglycanes recouvrent la

circonférence des bactéries et ont un rôle structural en assurant la résistance mécanique. Les bactéries gram-positif sont plus simples, arborant un large réseau de peptidoglycanes lié à la membrane plasmique par des molécules d'acides lipoteichoïques [9].

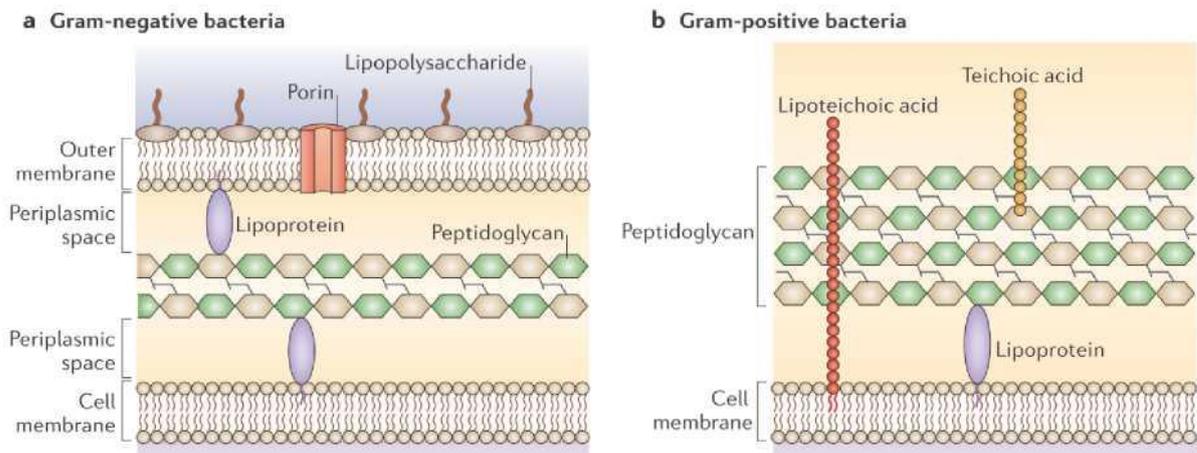


Figure 1.3 : Schéma des enveloppes des bactéries gram-négatif (a) et gram-positif (b).

I. 1. 3. La classification bactérienne

Il existe différents types de classifications des bactéries :

La classification de Linné permet de distinguer différents niveaux : le règne, l’embranchement, la famille, le genre et l’espèce [6].

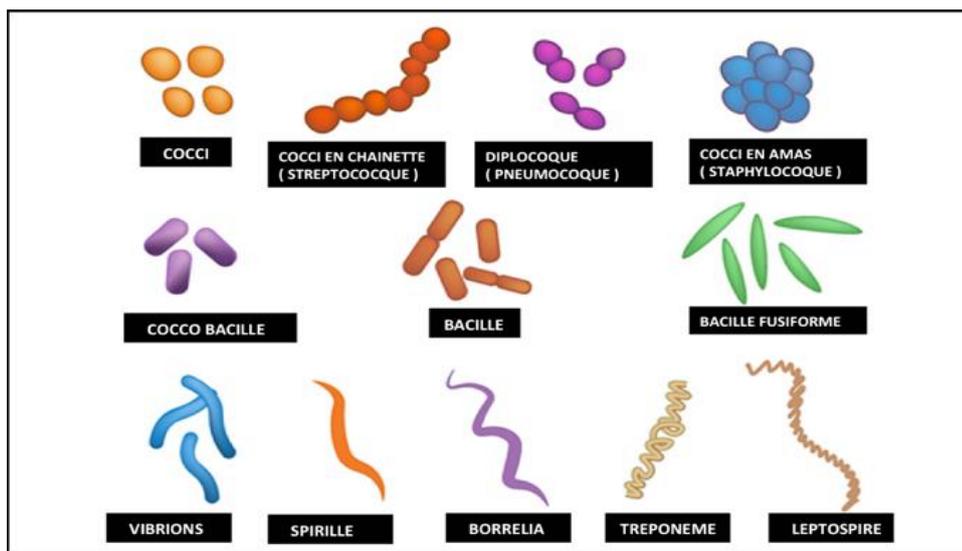


Figure 1.4 : Morphologie Microscopique des bactéries.

Chaque espèce se distingue par des caractéristiques métaboliques et morphologiques : les Cocci seront plutôt courts et sphériques, les bacilles en forme de bâtonnet, d'autres peuvent être incurvés ou spiralés... En ce qui concerne les noms, le premier mot (en italique et commençant par une majuscule) correspond au genre, le deuxième (en minuscule et aussi en italique) correspond à l'espèce *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*...

Une autre classification, fréquemment utilisée, correspond à leur réaction au contact de la coloration de Gram. Enfin, elles peuvent être classées en bactéries aérobies ou anaérobies, en fonction de leur besoin en oxygène pour survivre.

Lorsque l'environnement leur est favorable, en termes de nutriments, température, pH, oxygène... les bactéries pourront alors survivre et se multiplier. Dans certaines circonstances, les bactéries peuvent avoir un pouvoir pathogène important et être responsables de maladies bénignes ou graves [6].

I. 1. 4. Les biofilms bactériens

Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants que les cellules bactériennes planctoniques. La capacité de former un biofilm est maintenant reconnue comme une caractéristique propre à plusieurs microorganismes. La présence de biofilms lors d'infections demande donc de nouvelles méthodes de prévention, de diagnostic et de traitement. De même, la présence de biofilms sur des surfaces retrouvées à la ferme, à l'abattoir ou à l'usine de transformation affectera l'efficacité du protocole de désinfection. De façon surprenante, la formation de biofilms chez les bactéries pathogènes des animaux et les bactéries zoonotiques est un sujet relativement peu étudié. Ce bref compte rendu a pour objectif de sensibiliser les intervenants en santé animale à l'importance des biofilms [10].

I. 1. 4. 1. Caractéristiques des biofilms

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des agrégats de cellules bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique [11,12] (Figure I.5). Les bactéries peuvent tout aussi bien adhérer à une surface biotique (e.g. cellules de la muqueuse) qu'à une surface abiotique (e.g. planché ou équipement à la ferme, à l'abattoir ou à l'usine de transformation). La formation d'un biofilm se fait en plusieurs étapes selon un modèle bien établi (Figure I.6). La capacité de former un biofilm est maintenant reconnue comme une caractéristique propre à plusieurs microorganismes. On estime d'ailleurs que 80% de la biomasse microbienne de notre planète réside sous forme d'un biofilm [13].

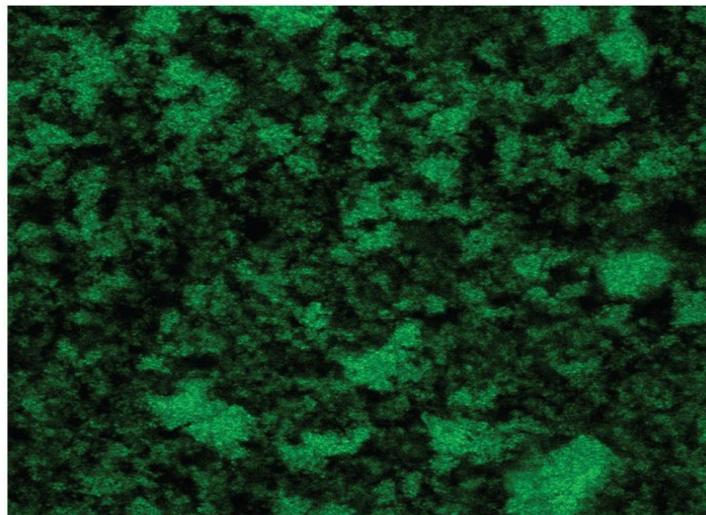


Figure I.5 : image obtenue en microscopie confocale biofilm produit par une souche de *Staphylococcus Epidermidis* dans un système en microplaque [15].

Les biofilms bactériens isolés de divers environnements partagent des caractéristiques communes [11,12] : (i) les cellules bactériennes sont retenues ensemble par une matrice polymérique composée d'exopolysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques ; (ii) le développement du biofilm survient en réponse à des signaux extracellulaires, soit présents dans l'environnement ou produits par les cellules bactériennes ; (iii) le biofilm protège les bactéries contre le système immunitaire de l'hôte, la dessiccation et les biocides (antibiotiques et désinfectants). Cette dernière caractéristique est particulièrement importante. La présence de biofilms pourra avoir comme effet d'interférer avec un traitement adéquat de l'animal ou une désinfection efficace des surfaces [11,14].

I. 1. 5. Étapes de la formation d'un biofilm

Tel que mentionné précédemment, la formation d'un biofilm est constituée de plusieurs étapes (Figure I.6) [11, 12]. Le biofilm peut se former très rapidement, en quelques heures ; un bon exemple étant la plaque dentaire. Les bactéries doivent, dans un premier temps, adhérer à une surface biotique ou abiotique. Cette étape requiert généralement la présence de molécules ou de structures particulières à la surface de la bactérie (e.g. fimbriae, flagelle). Puis les cellules bactériennes vont s'agglutiner, se multiplier et former des micros colonies. Lors de l'étape de maturation du biofilm, les bactéries synthétisent un exo polysaccharide et d'autres constituants de la matrice polymérique. Le biofilm mature représente une structure complexe et les bactéries de diverses régions du biofilm pourront exprimer des gènes différents. L'étape finale de la formation d'un biofilm est le détachement et la dispersion de cellules bactériennes [16].

Ces cellules ont la capacité d'adhérer à de nouvelles surfaces et de reformer un biofilm. Le détachement des cellules peut être initié par différents facteurs : des perturbations mécaniques (e.g. force de cisaillement, abrasion), la dégradation enzymatique de la matrice polymérique (e.g. dispersine B), la dégradation enzymatique du substrat sur lequel le biofilm est attaché (e.g. hyaluronidase), l'induction de la motilité, la production d'agents tensioactifs (e.g. rhamnolipides) et le relâchement de l'exo polysaccharide. Il est bien connu que les bactéries réagissent à de multiples signaux environnementaux (e.g. concentration d'éléments nutritifs) ainsi qu'à la densité de cellules bactériennes, phénomène mieux connu sous le nom de quorum sensing, et que ceci aura une influence sur les différentes étapes de la formation du biofilm [17]. Le détachement et la dispersion de cellules bactériennes d'un biofilm jouent un rôle important dans la transmission de bactéries de réservoirs environnementaux à un hôte (animal ou humain), dans la transmission entre les hôtes et dans la propagation de l'infection chez un hôte [16].

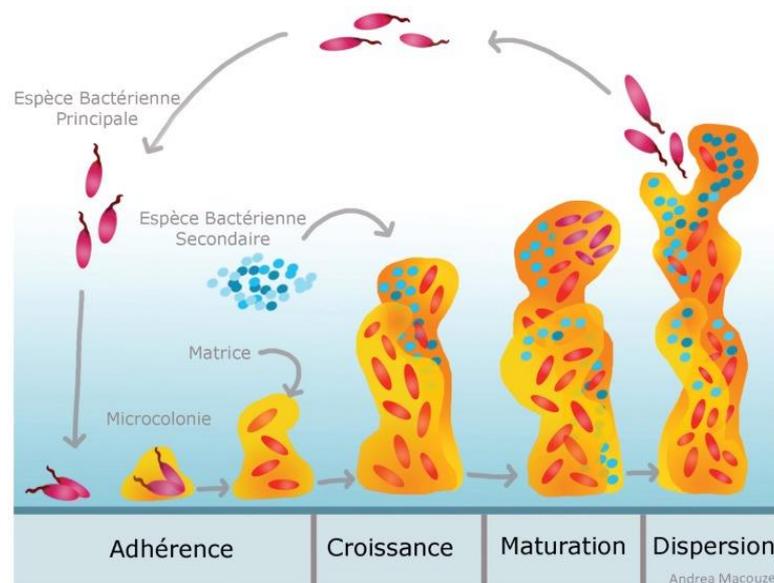


Figure I.6 :  tapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien [10].

I. 2. Contamination des surfaces

La maîtrise de l'hygiène des surfaces nécessite de bien adapter la conception de l'environnement, le choix des revêtements ainsi que les méthodes et fréquences d'élimination des contaminants aux activités exercées dans l'environnement considéré. On distingue les surfaces ouvertes (cloisons, plafonds, sols, mobiliers, équipements...) des surfaces fermées des machines ou du matériel [18].

I. 2. 1. Mécanismes de la contamination des surfaces

Les surfaces constituent un support pouvant recevoir et héberger à la fois des salissures et des micro-organismes. Arrivés à proximité des surfaces réceptrices, par sédimentation ou par contact, les micro-organismes peuvent adhérer par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques, interactions qui dépendent des propriétés physico-chimiques de surface des micro-organismes et du revêtement. La rugosité et la topographie de la surface jouent également un rôle important sur le nombre de bactéries adhérentes.

Dans des conditions favorables (température et hygrométrie des locaux, nature et fréquence des opérations de décontamination...), les cellules microbiennes ayant adhéré peuvent se multiplier sur la surface et former un biofilm. Les surfaces peuvent favoriser la persistance de flores microbiennes indésirables, en particulier de flores résistantes à l'action d'agents

antimicrobiens. Elles peuvent également se comporter comme émetteurs de micro-organismes.

Dans les zones à environnement maîtrisé, le concept de bio nettoyage combine un nettoyage des surfaces, une évacuation des produits utilisés et des salissures à éliminer et l'application d'un désinfectant [18].

Dans un milieu liquide, les bactéries peuvent se présenter sous deux états : l'état planctonique, où la bactérie isolée se déplace librement, et l'état sessile, où les bactéries adhèrent, de façon isolée ou en communauté, sur une surface. La bio contamination des surfaces est le passage de la bactérie de l'état planctonique en solution à une structure bidimensionnelle puis tridimensionnelle sur la surface. Ce phénomène s'effectue en trois grandes étapes : le transport des bactéries sur la surface, la bio adhésion (2D) où les bactéries adhèrent sur la surface et la formation du biofilm (3D) où les bactéries se multiplient. La bio adhésion est constituée d'une adhésion réversible et d'une adhésion irréversible (Figure I.6, 3 et 2). Le biofilm se forme ensuite selon un mécanisme en trois étapes : la structuration, la maturation et la dispersion (Figure I.6, 5 et 7) [5].

I. 2. 2. Objectifs du mesurage des surfaces

L'évaluation de la contamination des surfaces est utilisée pour :

- Vérifier l'application des procédures de nettoyage et de désinfection.
- Déterminer le niveau microbiologique pour une activité donnée (plan de surveillance régulière).
- Renforcer la surveillance lors d'événements... [18].

I. 3. Stratégies préventives pour maîtriser la Bio contamination

Le domaine des surfaces antimicrobiennes a connu un essor rapide durant les dernières Décennies et est devenu un des domaines les plus étudiés dans les biomatériaux. Cet intérêt Croissant est notamment dû à l'incidence très importante des infections nosocomiales, résultat De l'explosion des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (Figure I.7). L'adhésion des bactéries sur une surface dépend de nombreux facteurs, les plus importants étant les propriétés Physico-chimiques de la bactérie, de la surface et du milieu dans lequel s'effectue l'adhésion.

Une des approches les plus efficaces pour limiter voire inhiber l'adhésion microbienne sur des surfaces est donc la modification chimique de surface. Cependant, il est important de noter que malgré une diminution notable de l'adhésion microbienne, aucune méthode actuellement ne peut empêcher complètement cette adhésion bactérienne et la formation de biofilm. Dans la Littérature, il existe deux stratégies principales pour empêcher la biocontamination d'une surface : la stratégie antiadhésive qui consiste à empêcher la bactérie d'adhérer sur la surface et la stratégie bioactive qui consiste à tuer ou à inhiber la croissance de la bactérie par contact direct sur la surface ou à travers le relargage d'agents actifs depuis la surface [5].

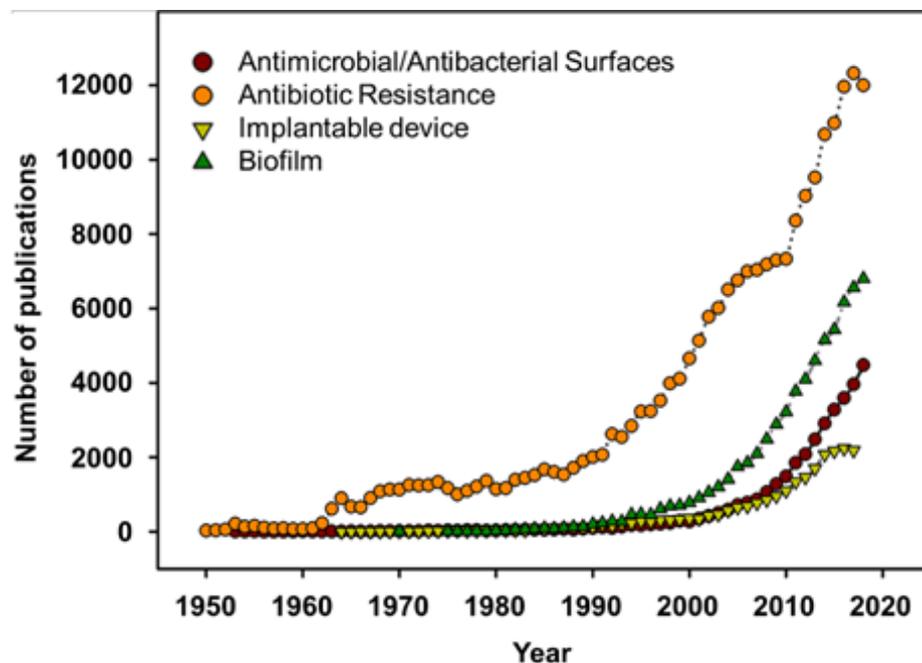


Figure 1.7 : Evolution dans le temps du nombre de publications Liées aux Problématiques des infections microbiennes [5].

I. 3. 1. Stratégie antiadhésive

La stratégie antiadhésive permet de retarder ou d'empêcher l'adhésion des bactéries sur les surfaces et donc de perturber l'étape de bio adhésion. En revanche, elle ne provoque pas la mort des bactéries, ce qui limite son efficacité. Les propriétés physiques d'une surface peuvent jouer un rôle dans la limitation de l'adhésion bactérienne comme la topographie l'hydrophobie ou la charge globale de surface [5].

I. 3. 2. Stratégie bioactive

La stratégie antiadhésive, bien que largement étudiée et déjà employée dans certains domaines, peut se révéler moins efficace qu'une stratégie impliquant une action bactéricide pour limiter l'adhésion bactérienne. Parmi les stratégies bioactives, on distingue deux cas : la stratégie « release Killing », qui consiste à reléguer des agents antimicrobiens qui vont tuer les bactéries au voisinage de la surface, et la stratégie « contact Killing », qui fixe des agents antimicrobiens ou possède une topographie particulière sur la surface, qui va entraîner l'inhibition ou la mort des bactéries lorsque celles-ci entrent en contact direct avec la surface [5].

I. 3. 3. Stratégie (release killing)

Un revêtement (release Killing) émet des principes actifs biocides divers. L'effet antibactérien est atteint par la diffusion de ces agents biocides selon leurs différents mécanismes d'action.

Pour créer des surfaces « release Killing », les principes bioactifs peuvent être introduits en masse (« bulk ») dans une matrice, adsorbés ou bien déposés sur la surface par pulvérisation (« spray ») ou immersion (« deepcoating »). Ils sont incorporés dans de multiples matériaux tels que des matrices polymères, des couches de poly électrolytes ou des hydrogels. Ces revêtements ont l'avantage d'avoir une action localisée importante au voisinage de la surface libre du film où les molécules sont libérées, avec une action plus faible à mesure que l'on s'éloigne de la surface [5].

I. 4. Mécanisme d'inhibition sur les bactéries

Le mécanisme d'action des molécules biocides cationiques sur des bactéries est décrit selon la séquence suivante : (1) adsorption sur la surface de la paroi bactérienne, (2) diffusion à travers la paroi bactérienne, (3) liaison avec la membrane cytoplasmique, (4) perturbation de la membrane cytoplasmique, (5) relargage du contenu du cytoplasme comme des ions K^+ et de l'ADN, ce qui provoque (6) la mort de la bactérie. Il est généralement admis que le mécanisme d'action des poly cations avec des ammoniums quaternaires (Figure I.9) peut être décrit de la même manière, puisque les mêmes évènements physiologiques lors des étapes (1), (3) et (5) ont été observés pour des poly cations [1].

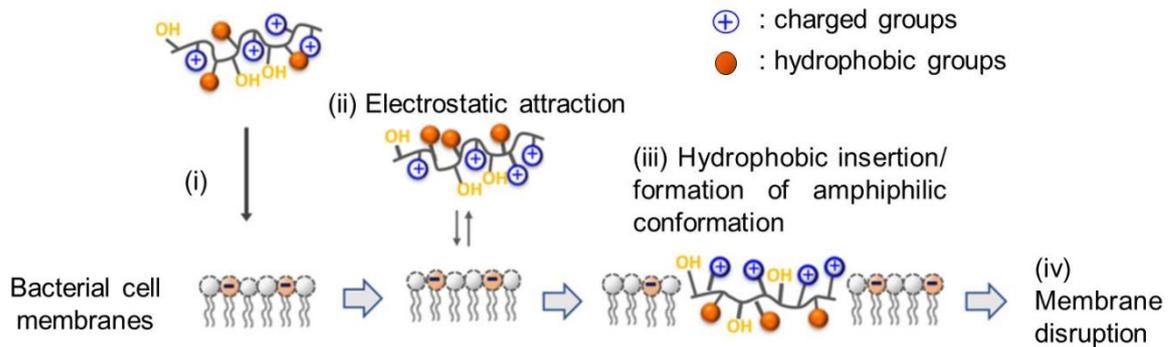


Figure I.8 : Mécanisme d'action antibactérienne des poly cations avec

Des Ammoniums Quaternaires et de segments hydrophobes [19].

Les charges positives du polymère interagissent de façon destructive avec la membrane cellulaire et/ou la membrane cytoplasmique. Elles sont attirées par la membrane des bactéries chargée négativement (Figure I.8-i), engendrant une interaction électrostatique entre les deux entités (Figure I.8-ii). Après cette approche, la chaîne polymère s'associe à la membrane de la bactérie et les parties hydrophobes vont venir s'insérer à l'intérieur de celle-ci (Figure I.8). Cette association va perturber de la membrane, provoquant sa déstabilisation et la fuite du contenu du cytoplasme, ce qui entraîne la lyse de la bactérie (Figure I.8).

Les macromolécules peuvent interagir de façon plus efficace avec les bactéries à Gram positif. La couche externe de polygyne est suffisamment peu compacte, ce qui facilite la pénétration profonde membrane cytoplasmique. A l'opposé, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane supplémentaire, la membrane externe, avec un une double couche de phospholipides qui protègent plus efficacement la membrane cytoplasme e contre l'action Des polymères biocides [5].

Chapitre II:
LES POLYMERES

II. 1. INTRODUCTION

Les polymères trouvent des applications ciblées dans des domaines variés, cela grâce à leurs propriétés physico-chimiques importantes. De ce fait, connaître leurs structures Conformationnelles et configurationnelles, leurs propriétés physico-chimiques rend leur utilisation plus efficace. Ainsi que leurs domaines d'applications [20].

Un polymère est une substance composée de macromolécules constituée d'unités fondamentales appelées monomères (ou motifs monomères) reliées par des liaisons covalentes.

Les polymères, sont formés de très grosses molécules (jusqu'à des centaines de milliers d'atomes) se présentant sous forme de chaînes reliées entre elles par des liaisons de faible intensité. Ces chaînes se forment par polymérisation c'est à dire. Par adjonction de petites unités (monomère) les unes aux autres [21].

II. 2. Les différents types de polymérisations

IV-2-La polymérisation en chaîne

La polymérisation en chaîne est une réaction au cours de laquelle une molécule de monomère M active est portée par la chaîne en cours de croissance. Si on appelle M^*_n une chaîne comportant n unités constitutives munie d'un centre actif. Cette polymérisation peut être schématisée par la réaction ci-après.

Dans notre cas, soit Tétrahydroéthylène Glycol di-Acrylate (TEGDA) est un monomère réticulant hydrophile à longue chaîne. Les matériaux polymères réticulés à base de ce monomère (hydrogels réticulés) sont des supports appropriés pour l'administration de médicaments et diverses autres applications biomédicales[22].

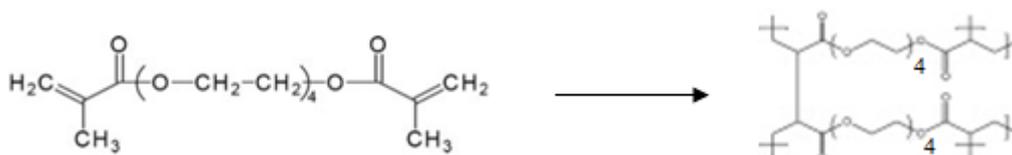


Figure II.0: Structure Chimique du poly[TEGDA] réticulé[22].

Le signe étoile indique le site d'un électron non apparié se trouvant sur la chaîne moléculaire et avec lequel une nouvelle liaison pourra s'effectuer, causant ainsi une augmentation de la taille de la chaîne. On rappelle que l'atome de la chaîne muni de cet électron non apparié constitue le centre actif.

Les réactions en chaîne se font en 3 étapes :

- L'initiation (ou amorçage).
- La propagation (ou croissance).
- La terminaison.

Selon la nature du centre actif qui provoque l'addition des unités constitutives (monomères) On classe la polymérisation en chaîne dans l'un des deux groupes suivant :

- La polymérisation radicalaire.
- La polymérisation ionique (cationique ou anionique) [23].

II. 2. 1. 1. Polymérisation radicalaire

La littérature est particulièrement abondante sur la polymérisation radicalaire. Sa facilité de mise en œuvre et ses attraits économiques lui ont conféré une importance particulière dans l'industrie. Les réactions de polymérisation en chaîne font intervenir des centres actifs R^* très réactifs (radicaux, anions, cations). D'une manière générale cette réaction est schématisée par la réaction suivante :



Ces centres actifs additionnent, en un laps de temps très [3court (généralement inférieur à la seconde), un grand nombre de monomères (103 à 105molécules par seconde) [23].

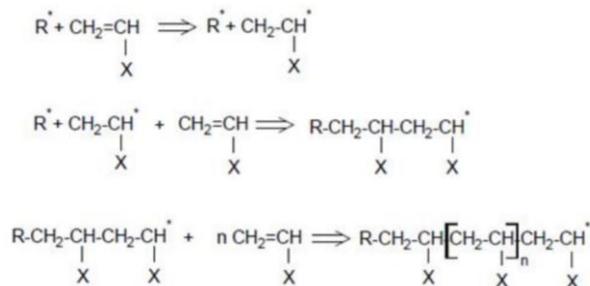


Figure II.1 : Montre un schéma explicatif d'une réaction en chaîne [23].

II. 2. 1. 2. Polymérisation ionique

Type de réaction, le centre actif est constitué par un ion. On distingue cependant, la polymérisation anionique et la polymérisation cationique [23].

II. 2. 1. 2. 1. Polymérisation anionique

Une polymérisation par voie anionique permet de contrôler la croissance des chaînes et leur architecture par :

- une phase d'amorçage efficace et rapide de toutes les chaînes.
- la croissance simultanée de toutes les chaînes (amorçage rapide par rapport à la propagation) ; la réaction s'arrêtant quand tous les monomères sont consommés.
- la suppression des réactions de terminaison et de transfert qui sont communes dans les polymérisations radicalaires [23].

II. 2. 1. 2. 2. Polymérisation cationique

La polymérisation cationique est une réaction cinétique en chaînes qui se produit sous l'action d'un amorceur acide et d'un centre actif porteur d'une charge positive, généralement associé à un contre ion négatif.

Les amorceurs utilisés peuvent être des acides portiques des acides de Lewis et de leurs sels. Les centres actifs sont des électrophiles et sont choisis selon la nature chimique du monomère [23].

II.3. Structure des Polymères

II. 3. 1. Réseaux Interpénétrés de Polymères (RIP)

Un réseau de polymères interpénétrant, le RIP, est défini comme un mélange de deux polymères ou plus sous forme de réseau, au moins une de ce qui est synthétisé et/ou réticulé en présence immédiate de l'autre (s). Un RIP peut se distinguer des mélanges de polymères, de blocs ou greffes de polymères de deux manières : RIP gonfle mais ne se dissout pas dans les solvants [25].

II. 3. 1. 1. Définition

Un réseau de polymères interpénétré (RIP) est défini comme une combinaison de deux polymères présentant les deux caractéristiques suivantes : l'un ou l'autre des polymères doit être synthétisé ou réticulé en présence immédiate de l'autre, et d'autre part la combinaison fournit la possibilité de produire efficacement des systèmes polymères multi-composants avancés avec des profils de propriétés nouvelles. Récemment, RIP ont gagné l'acceptation généralisée dans les applications industrielles et RIP récentes montrant la possibilité d'une plus large gamme d'applications apparaissent chaque jour. Les études sur l'hydrogel sont intéressantes non seulement du point de vue chimique, mais aussi pour les produits pharmaceutiques, l'agroalimentaire, la biochimie, la biologie et la médecine [25].

II. 3. 1. 2. Les types des Réseaux Interpénétrés de Polymères (RIP)

a. RIP séquentiels

Le réseau de polymère I (constitué du monomère I) est synthétisé en premier, ensuite ce réseau de polymère I est gonflé dans une solution réactive permettant d'obtenir le réseau de polymère II (constituée du monomère II, d'un agent réticulant et d'un activateur) et il est polymérisé in situ [25].

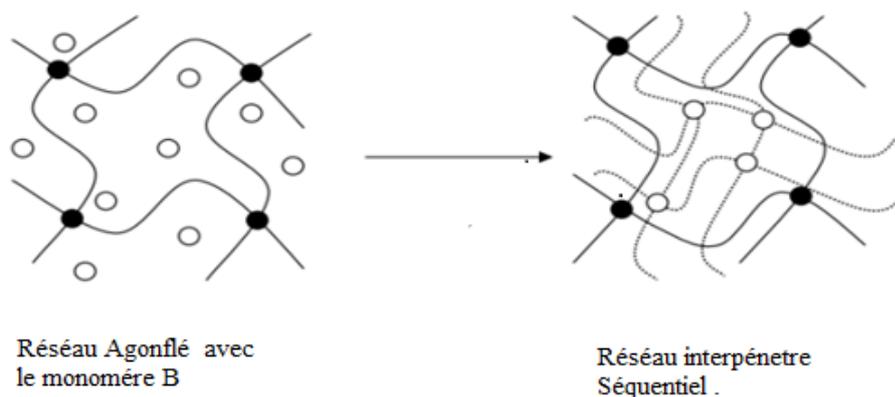


Figure II.2 : Formation d'un réseau interpénétré de polymère séquentiel.

b. Réseaux Interpénétrés Simultanés

Les monomères (et/ou les pré-polymères), les agents réticulant et les activateurs sont mélangés ensemble. On procède alors à une polymérisation simultanée par l'intermédiaire de réactions non interférentes entre elles [26].

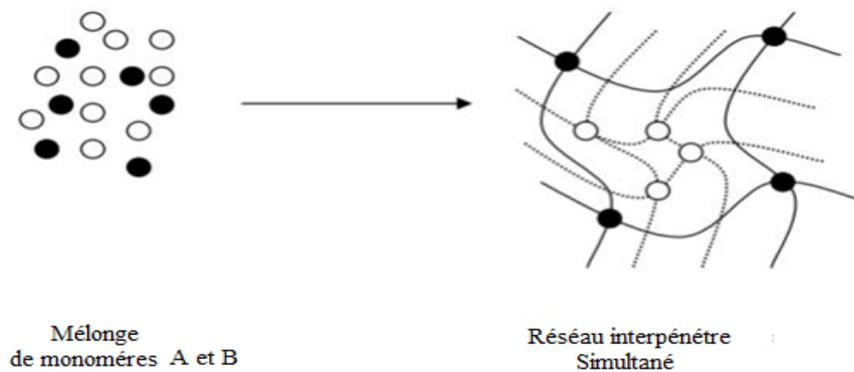


Figure II.3 : Formation d'un réseau interpénétré de polymère Simultané.

c. Latex RIP

Une graine enchevêtrée de Latex du polymère I est synthétisée en premier. Puis le monomère II plus un agent réticulant et l'activateur sont ajoutés, généralement sans nouvel agent tensioactif. Si le mélange du monomère II est ajouté rapidement, le gonflement du polymère I par le monomère II est alors encouragé, avec une très grande interpénétration [26].

d. Gradient RIP

Dans ce cas-ci, la composition globale ou la densité de réticulation du matériel change d'un endroit à un autre au niveau macroscopique. La seule méthode de préparer ces matériaux implique le gonflement partiel du réseau I par le mélange du monomère II, suivi de polymérisation rapide avant que l'équilibre de diffusion ait lieu. Des films peuvent être faits avec le réseau I prédominant sur une face, et le réseau II sur l'autre face avec une composition en gradient existant dans tout l'intérieur [26].

e. Semi RIP (S-RIP)

Ce sont des compositions où un ou plusieurs polymères sont réticulés, et un ou plusieurs polymères sont linéaires ou branchés [26].

II. 3. 1. 3. Applications des RIPs

Les mélanges de polymères de type (RIP) sont des matériaux largement utilisés dans l'industrie moderne. Ils représentent, en effet, l'un des secteurs les plus en croissance dans la science des matériaux polymères. Le principal intérêt de ces systèmes réside dans la possibilité de combiner en un seul matériau les principales caractéristiques des deux réseaux précurseurs. Par exemple, en associant le caractère hydrophile du poly (alcool vinylique) et la rigidité du polyacrylate ou du poly époxyde, on obtient un matériau dur et flexible à la fois qui présente une bonne résistance aux bactéries, une hydrophilie élevée. Ainsi les homo-RIPs basés sur le styrène font d'excellents matériaux d'échange ionique pour des applications telles que la purification d'eau. Les homo-RIPs faits en PMMA sont employés en tant que dents artificielles. Des dents artificielles peuvent être faites de porcelaine ou polymères [27].

II. 4. Nature des Matériaux utilisés

II. 4.1. Poly (alcool vinylique) (PVA)

II. 4. 1. 1. Généralités

Le poly (alcool vinylique) désigné par PVA ou PVOH est un polymère obtenu par hydrolyse alcaline (soude, potasse) du poly (acétate de vinyle) (PVAc). Malgré que l'on parle vulgairement de PVA, dont la formule empirique est $(\text{CH}_2\text{-CHOH})_n$, il s'agit en réalité d'un copolymère de PVA et PVAc qui possède des propriétés et des applications différentes selon sa masse moléculaire (ou son degré de polymérisation) et son taux d'hydrolyse. De manière générale, le PVA possède les propriétés particulières suivantes :

- ✓ Grande capacité à former des films.
- ✓ Grand pouvoir adhésif.
- ✓ Très bonnes propriétés barrière aux gaz.
- ✓ Solubilité dans l'eau.
- ✓ Biocompatibilité.
- ✓ Biodégradable et recyclable [28].

II. 4. 1. 2. Synthèse

Le PVA est généralement obtenu par hydrolyse du poly (acétate de vinyle) (PVAc) : réaction entre l'eau et les fonctions acétates du polymère en milieu méthanolique (Figure

II.4). En effet, contrairement aux autres polymères qui sont généralement obtenus à partir de leurs monomères, l'alcool vinylique est trop instable pour pouvoir être polymérisé directement car il conduit facilement à l'acétaldéhyde ou l'éthanal CH_3CHO par l'équilibre céto-énolique (aussi appelé tautomérie) (Figure II.5).

Le PVAc est lui obtenu par polymérisation radicalaire de l'acétate de vinyle $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$ par plusieurs procédés, les plus utilisés sont la polymérisation en émulsion ou en suspension [24].

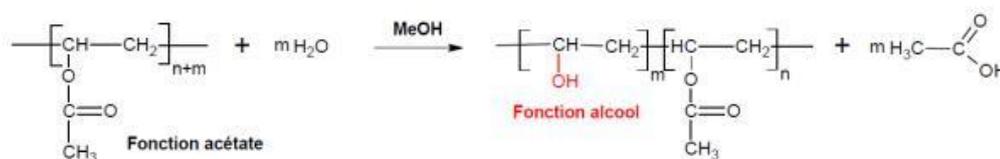


Figure II.4 : Hydrolyse du poly (acétate de vinyle) conduisant à la formation de poly (alcool vinylique) [24].

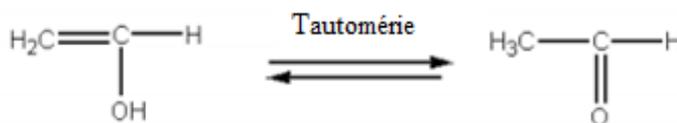


Figure II.5 : Tautomérie de l'alcool vinylique [28].

Dans l'industrie, les produits initiaux pour la production d'acétate de vinyle sont soit l'acétylène, soit l'éthylène. Le procédé utilisant l'acétylène consiste à faire passer une vapeur d'acétylène et d'acide acétique à travers une couche de catalyseur contenant de l'acétate de zinc [28].

En revanche, dans le procédé utilisant l'éthylène, on fait passer un mélange gazeux d'éthylène, d'acide acétique et d'oxygène dans une couche de catalyseur contenant du palladium. L'acétate de vinyle purifié est polymérisé par chauffage en présence d'un catalyseur dans une solution de méthanol [28].

Le méthanol est utilisé car il est nécessaire dans l'étape suivante de dés acétylation. Pendant la polymérisation, le monomère n'est pas totalement polymérisé et la polymérisation s'arrête généralement pour un taux de conversion du monomère d'environ 70% [28].

Le monomère résiduel est éliminé du mélange réactionnel pour être recyclé avant qu'une petite quantité de composé basique soit ajoutée à la solution pour provoquer la méthanolyse.

Le PVA est ensuite précipité dans la solution. Après élimination du PVA, le résidu constitué de méthanol, d'acétate de méthyle et d'une petite quantité d'acétate de sodium est hydrolysé en méthanol et acide acétique par l'intermédiaire d'un catalyseur acide [28].

Le méthanol et l'acide acétique sont récupérés pour être à nouveau utilisés dans le procédé de fabrication.

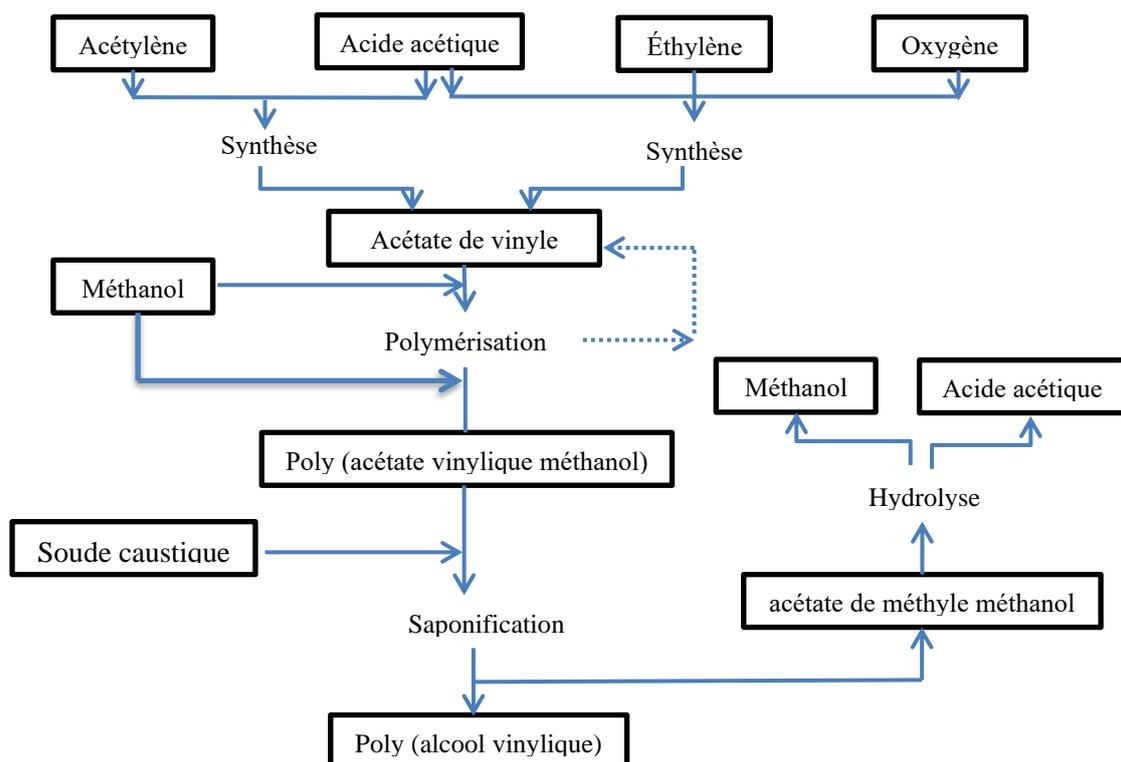


Figure II.6 : Diagramme du procédé de fabrication industrielle de PVA [28].

II. 4. 1. 3. Caractéristiques du PVA

Le PVA est caractérisé par deux principaux paramètres selon la norme ISO 15023-1.

- son degré de polymérisation (DP), c'est-à-dire la longueur de ses chaînes macromoléculaires.

$$DP = m + n \quad (II.4)$$

Où m est le nombre d'unité monomère ayant une fonction hydroxyle (alcool), et N est le nombre d'unité monomère ayant une fonction acétate (Figure II.4).

- son taux d'hydrolyse, c'est-à-dire la concentration de fonctions hydroxyle (alcool) dans le matériau.

$$\text{Taux d'hydrolyse} = \frac{m}{m+n} \times 100 \quad (\text{II.5})$$

La valeur de ces deux paramètres dépend des conditions de polymérisation et d'hydrolyse. Pour déterminer le DP, il faut mesurer la masse moléculaire moyenne en nombre (M_n) du polymère. La chromatographie par permutation de gel (GPC) et le viscosimètre en solution sont deux principales méthodes pour la mesure de M_n . Le taux d'hydrolyse est souvent mesuré par dosage des groupements acétate par l'hydroxyde de sodium selon la norme ISO 15023-2 [28].

Le DP n'a que peu d'influence sur la sensibilité environnementale (humidité, pH, etc.) du PVA, cependant, le taux d'hydrolyse est un paramètre beaucoup plus important permettant de qualifier le matériau et notamment de connaître son affinité vis-à-vis de l'eau. En effet, il existe deux types de liaison hydrogène au sein du PVA (Figure II.7) :

- **les liaisons hydrogène intermoléculaires** formées entre deux fonctions hydroxyle de chaînes macromoléculaires différentes.
- **les liaisons hydrogène avec l'eau** formées entre des fonctions hydroxyle et des molécules d'eau absorbées au La compétition de ces types de liaison hydrogène est dirigé par le taux d'hydrolyse du PVA.

Le PVA commercial est souvent classifié en deux groupes :

Le PVA partiellement hydrolysé (taux d'hydrolyse d'environ 85%) et le PVA totalement hydrolysé (taux d'hydrolyse > 98%). Dans le PVA partiellement hydrolysé, les liaisons hydrogène avec l'eau sont prédominantes. Par conséquent, le PVA est soluble dans l'eau froide. Dans le PVA entièrement hydrolysé, les liaisons hydrogène intermoléculaires sont prédominantes, donc l'affinité du PVA avec l'eau est relativement faible, et le PVA n'est pas soluble dans l'eau froide [28].

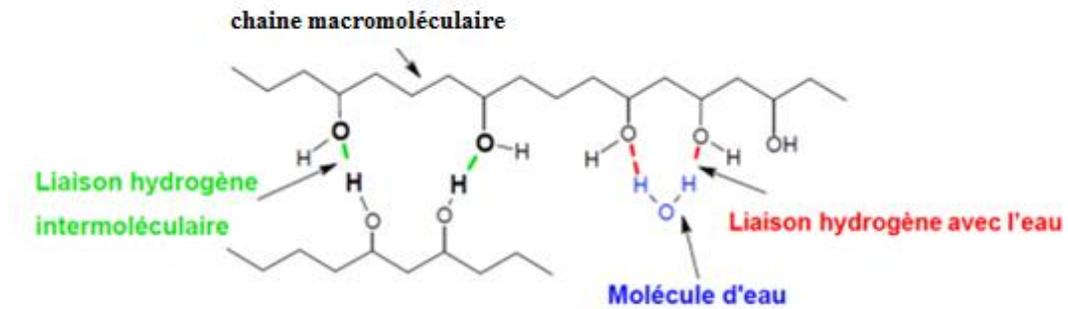


Figure II.7 : Compétition entre liaisons hydrogène intermoléculaires et liaisons hydrogène avec l'eau [28].

(La figure II.8) présente la relation entre le taux hydrolyse et la solubilité de la poudre de PVA dans l'eau à différentes température. On voit clairement que la solubilité du PVA dépend de son taux d'hydrolyse et température. Les PVA complètement hydrolysés sont insolubles dans l'eau (à $T < 80^{\circ}\text{C}$), alors que les PVA partiellement hydrolysés sont solubles même dans l'eau froide [28].

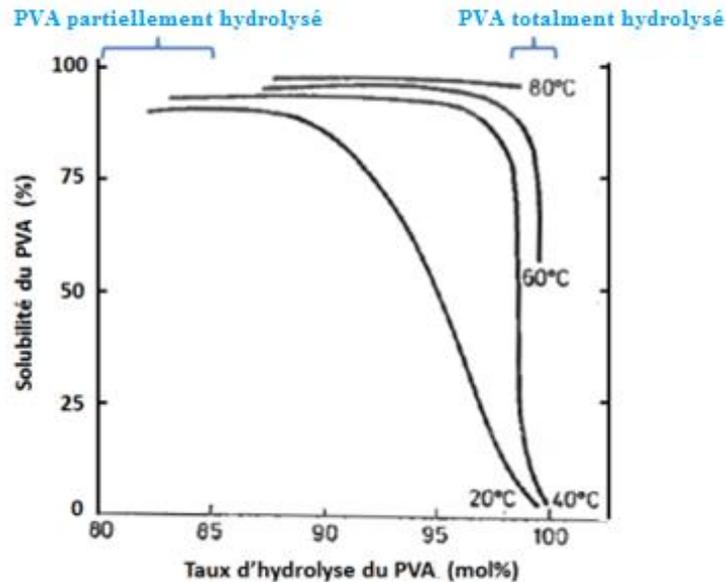


Figure II.8 : Solubilité de la poudre de PVA dans l'eau en fonction Du taux d'hydrolyse à différentes températures [28].

Les PVA totalement hydrolysés sont généralement ceux qui sont utilisés dans la production de fils ou fibres de PVA de haute ténacité (HT-PVA) pour la fabrication des renforcements de sol [28].

II. 4. 1. 4. Avantages et inconvénients du PVA

le PVA possède également les mêmes avantages que celles des hydrogels qui sont en premier intention la non toxicité et la biocompatibilité, deux avantages principaux qui permettent une large application médicale.

Le PVA a une résistance thermique et une stabilité thermique relativement faible pour certaines applications, d'excellentes propriétés mécaniques telles que : résistance ($1,6 \pm 0,1$ GPa), module élastique (48 ± 3 GPa), souche ($6,5\% \pm 1,4\%$) et ténacité (40 ± 6 J. G⁻¹) et la flexibilité à l'état sec.

Pour surmonter les performances biologiques limitées et pour améliorer les propriétés mécaniques du PVA, une nouvelle classe de bio nano composites PVA conçue par l'ingénierie a été introduite récemment.

On peut ajouter comme avantage :

- Un bon transport de cellules et de produits nutritifs à partir de cellules.
- Peut être facilement modifié avec des ligands d'adhésion cellulaire.
- Habituellement biocompatible.

Les principaux inconvénients sont la difficulté de manipulation, Peut être difficile à charger des médicaments et des cellules, puis réticuler in vitro comme une matrice préfabriquée, Peut être difficile à stériliser, en plus qu'ils sont habituellement mécaniquement faibles [29].

II. 4. 2. L'Argent et les Bactéries

a. Activité antibactérienne des nanoparticules d'Ag⁺

Un grand nombre de nanoparticules à un effet antibactérien sur différentes souches Bactériennes. Cet effet est plus ou moins prononcé en fonction de la nature et des caractéristiques des nanoparticules. Ainsi les nanoparticules métalliques d'argent présentent une forte activité bactéricide dès de faibles concentrations, tandis que dans la plupart des

études, les effets apparaissent plus faibles ou à de plus fortes concentrations pour les oxydes métalliques [30].

b. Mécanismes d'action d'Ag

L'argent sous forme métallique est inerte. Toutefois, lorsqu'il s'oxyde au contact de l'atmosphère ou d'un environnement humide (Ag métallique Ag_2O), la dissolution de l'oxyde, d'argent conduit à la libération d'ions Ag^+ .

Ces ions présentent Un des avantages majeurs des nanoparticules par large spectre d'action, aussi bien contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, que les levures, les champignons ou les virus [30].

L'argent est un acide ayant tendance à réagir avec des espèces basiques. Les molécules constituées de groupements phosphore ou thiol, à caractère basique, sont des composants majeurs de la membrane cellulaire, des protéines et de l'ADN.

Tout d'abord, les nanoparticules d'argent ont la capacité de s'ancrer dans la membrane bactérienne comme on peut le voir sur (la Figure II.9) ci-dessous. Puis, les nanoparticules pénètrent à l'intérieur de la bactérie, comme on peut le voir sur (la Figure II.9) Yan et al [31].

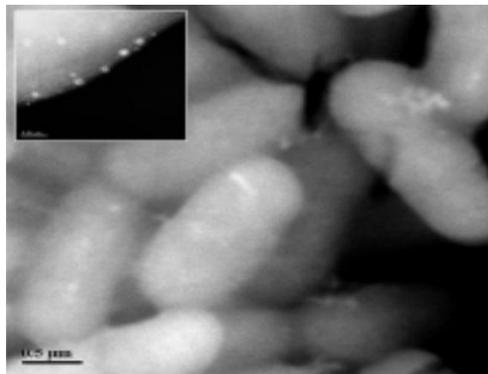


Figure II.9 : Accumulation de nanoparticules d'argent dans des Bactéries

De l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* [32].

Les nanoparticules peuvent pénétrer dans la cellule par deux voies : par les pores formés suite à l'altération de la membrane ou par le biais des porines [31].

Les porines sont des protéines de la paroi bactérienne permettant le passage d'ions ou de petites molécules hydrophiles dans la cellule [33].

En effet, ces ions peuvent intercaler entre la paire de base de purine et de pyrimidine, perturbant ainsi la liaison hydrogène (H) entre les brins antiparallèles. Ce qui pourra avoir plusieurs conséquences telles que l'induction d'une mutation ou même la dénaturation de l'ADN et l'inactivation subséquente des bactéries (figure II.10) [30].

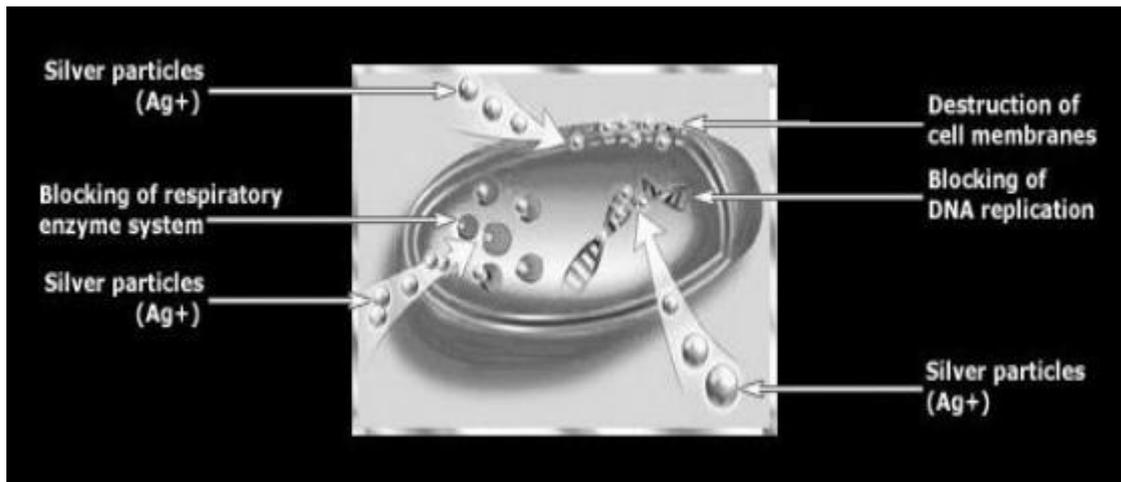


Figure II.10 : Site d'action des ions Ag^+ sur les cellules bactériennes [34].

Chapitre III :
Matériels et Méthodes

III. 1. Introduction

Dans ce chapitre on présente les principes des différentes méthodes et techniques utilisées pour la caractérisation des échantillons étudiés, ainsi que les résultats expérimentaux et les commentaires. Les méthodes qu'on a utilisées sont : l'IRTF, l'analyse bactériologique.

L'un des objectifs de notre travail de ce mémoire de master est d'élaborer des matériaux polymériques de type RIPs en vue de les caractériser. Le choix des produits initiaux, leur composition et les conditions de préparation sont très importants pour l'obtention d'un matériau polymérique fiable. Plusieurs tests préliminaires d'élaboration sont effectués avant de trouver les conditions convenables pour obtenir le réseau de polymère attendu.

III. 2. L'organigramme

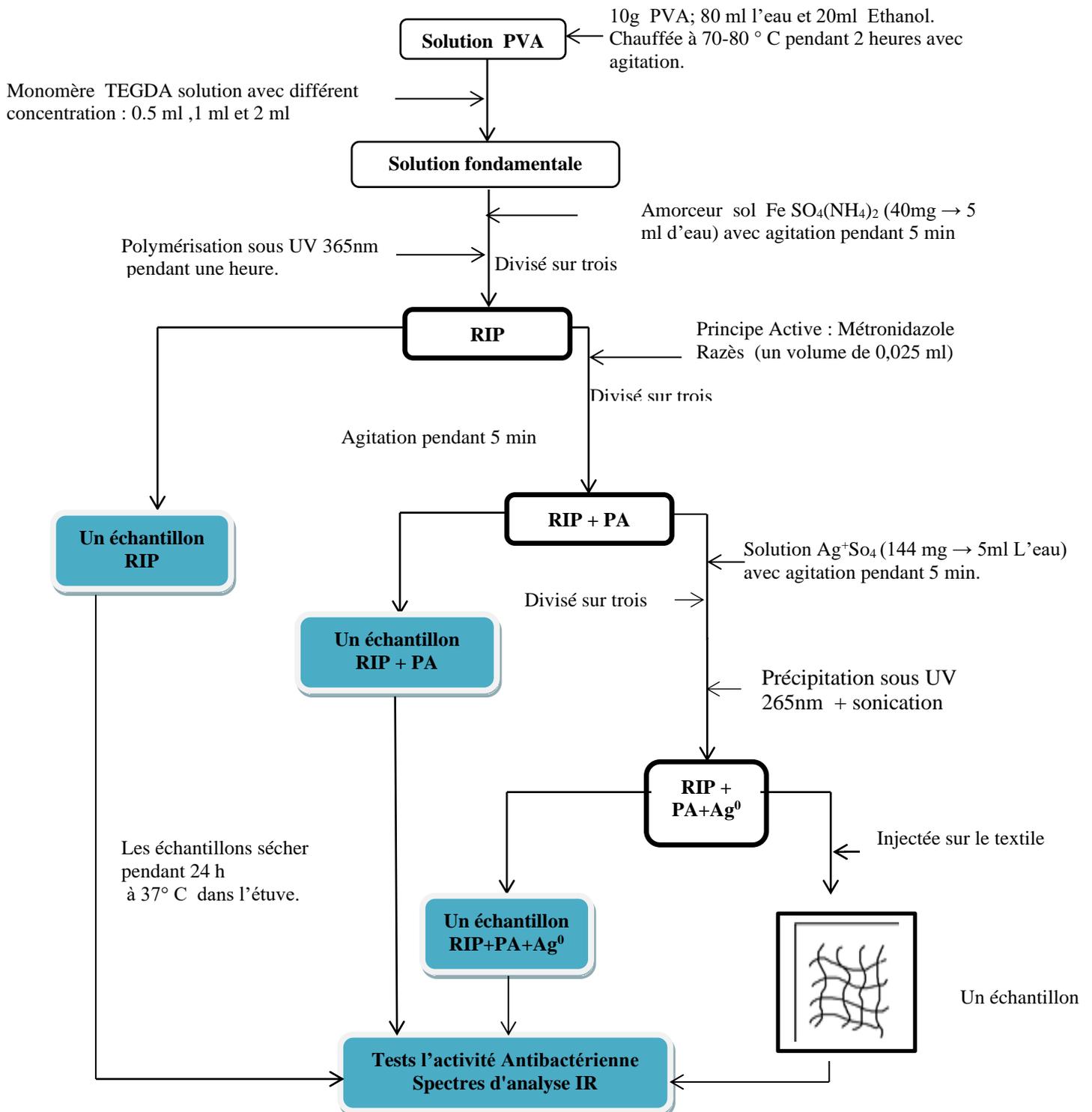


Figure III.0 : représentation des étapes suivies dans l'élaboration des films RIP.

III. 3. Matériel est méthode

Volet expérimental concernant la préparation des films de PVA, la caractérisation par spectrophotométrie IR a été réalisée au niveau du laboratoire de : université de Sétif tandis que l'activité antimicrobienne a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie du département des sciences 'SNV' de l'université de Bordj Bou Arreridj.

III. 3. 1. Matériels et Produits

III. 3. 1. 1. Matériels utilisé

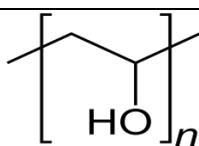
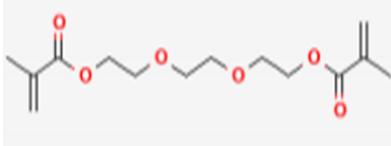
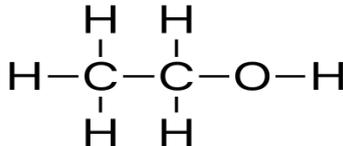
Tableau III.1 : les matériels utilisé.

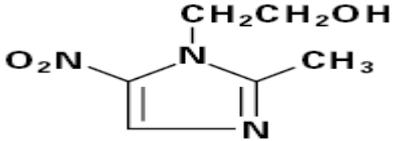
VERRERIE		LES INSTRUMENTS	
-Béchers.	-Pipettes graduée.	-Agitateur.	-étuve.
-Verre de montre.	-Entonnoir.	-Chauffe ballon.	-balance analytique
-Éprouvette.	-Tubes à essai.	-Micro Pipettes.	-sonicateur.
-thermomètre.	-Fioles.		
-Boîte de Pétri.			

III. 3. 1. 2. Produits et réactifs utilisés

Les produits utilisés lors des différentes synthèses sont cités dans le tableau suivant.

Tableau III.2 : Liste des produits et réactifs utilisés.

Nom commercial	La structure chimique	Masse molaire	Etat physique
Alcool polyvinylique PVA		44,052 6 g/mol	Solide
Tétra-éthylène glycol di acrylate TEGDA		302 g/mol	Liquide
Ethanol		46,07 g/mol	Liquide

Sulfate d'argent	$\text{Ag}^+ \left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \vdots \\ \text{N} \\ \vdots \\ \text{O} \end{array} \right]^-$	311,7 g/mol	Solide
sulfate d'ammonium de fer	$\left[\text{NH}_4^+ \right]_2 \left[\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O}^- \\ \diagdown \quad / \\ \text{S} \\ / \quad \diagdown \\ \text{O}^- \quad \text{O} \end{array} \right]$	482,192 g/mol	Solide
Métronidazole Razès		171.1 g·mol ⁻¹	Liquide

III. 3. 1. 3. Monomère

Le monomère utilisé le Tétra-Ethylène Glycol di-Acrylate (TEGDA) de structure chimique ci-dessus (figure III.1), c'est un monomère acrylate sa formule chimique est C₁₅ H₂₄ O₆.

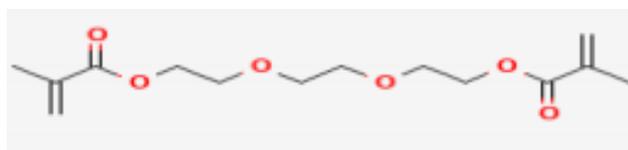


Figure III.1 : La structure chimique de TEGDA [35].

Le Tri-Ethylène Glycol di -Acrylate montre une bonne flexibilité, une activité élevée de réaction. Il contient deux groupes polymérisables acryliques par molécule, qui lui permet de former des copolymères, par exemple, les acides acryliques ou méthacryliques et leurs sels, amides, esters, acétate de vinyle et le styrène. Et d'entrer facilement dans des réactions d'addition. Il représente une matière première importante pour les synthèses chimiques. Le tableau 1 présente quelques propriétés du Tétra-Ethylène Glycol di-Acrylate (TEGDA) [35].

III. 4. Préparation des solutions

III. 4. 1. Solution mère de PVA

Dans une fiole qui contient un mélange 80ml l'eau / 20ml Ethanol, et ont ajoute progressivement un masse de 10g de PVA a la quantité d'eau/ Ethanol nécessaire toute et chauffé à 70-80 °C pendant 2h environ, pour obtenir enfin une solution aqueuse homogène de PVA. La solution est ensuite refroidie à température ambiante.

III. 4. 2. Préparation de solutions de monomère

Le tétra-éthylène glycol di acrylate (TEGDA) est utilisé ici comme un agent de réticulation. La concentration croissante assure un pontage de plus en plus important.

Trois solutions de TEGDA ont été préparées à :

- 0,5 mol/L Soit en pourcent 10%.
- 1 mol/L Soit en pourcent 20%.
- 2 mol/L Soit en pourcent 40%.

III. 4. 3. Préparation de solutions d'amorceur (Le Sulfate ammonium de fer)

Dans 5ml d'eau sont dissout 40 mg de sulfate ammonium de fer sous agitation pendant 5 à 10 minutes. La solution d'amorceur est rajoutée à la solution de monomère préalablement préparée avec une dose de 1% en masse par rapport au monomère. Les proportions injectées sont comme suit (en parts) :

- 1pt soit en volume 0,15 ml.
- 2pt soit en volume 0,30 ml.
- 4pt soit en volume 0,60 ml.

III. 4. 4. Préparation de solutions de principe active (La métronidazole Razès)

Afin de préparer la solution d'injection (0,5% en masse), un volume de 0,025 ml de la solution mère de Métronidazole Razès contenue dans le flacon d'origine est prélevé et introduit dans les différentes solutions de préparation.

III. 4. 5. Préparation de la solution de sel d'Argent (Ag_2SO_4)

Une solution de sulfate d'argent a été préparée par dissolution de 144mg de sel d' Ag_2SO_4 anhydre dans l'eau distillée antérieurement stérilisée afin d'obtenir une solution à une concentration en Ag^+ de 0,5M. Le volume total de solution est ensuite reparti sur tous les échantillons préparés. Une partie de la solution d' Ag^+ ainsi préparée sera ensuite injectée sur textile (tissu) imbibé des solutions échantillons.

Quant au substrat textile (tissu) les échantillons sont découpés à partir de tissu chirurgicale stérilisé. Les échantillons sont placés dans une solution concentrée de Na OH 1M et laisser réagir toute une nuit à température afin d'assurer une bonne hydrolyse des fibres de tissu. A la fin les échantillons sont rincés 3 fois à l'eau distillée stérilisée.

III. 5. Mode opératoire

III. 5. 1. Elaboration des réseaux RIPs de polymères

La première étape de la synthèse est consacrée à la préparation des solutions réactives en premier une solution de PVA a été préparée sous agitation par dissolution à chaud (5 à 10min). La quantité totale obtenue de la solution ainsi préparée est partagée en trois lots. Constituées des trois composées : le PVA, le monomère bi-fonctionnel (TEGDA), et l'amorceur SFAM dont des volumes calculés sont prélevés et ensuite dissouts dans la solution de PVA a des concentrations connues en monomère.

La préparation du mélange réactionnel se fait sous une faible luminosité, car le monomère en présence d'amorceur devient très sensible à la lumière du visible. Le mélange doit être homogénéisé avant d'être polymérisé pour cela il est placé sous agitation mécanique ensuite il subit un temps de sonication pendant environ 1h (Figure III.2).

Le réseau est obtenu par photo polymérisation UV du mélange des différents composants : PVA, monomère et amorceur les masses des composants sont calculées l'un par rapport à l'autre de manière à atteindre les pourcentages voulus. L'échantillon à polymériser est exposé à une irradiation UV à une longueur d'onde de 365nm. On obtient à la fin des composés polymériques interpénétrés RIP.

Remarque

La polymérisation se fait par voie radicalaire sous rayonnement UV. Exposé à un radicaux libres (R^*). Ces radicaux se combinent avec les fonctions réactives (M) du

monomère pour commencer la réaction (RM*) et produire un polymère réticulé à haut poids moléculaire (voir Chapitre II).

L'agitation des différentes solutions (lots) se poursuit encore pendant 5 min. On obtient des composés polymériques visqueux très homogènes. On injecte dans chacun des lots une quantité bien déterminée de notre principe actif PA (0,025ml) dans les différents échantillons de notre RIP, et qui sont alors mis sous agitation mécanique pendant 5 min pour éviter l'agrégation des particules. En devise la solution (RIP + PA) encore en 3 lots contenant la solution Ag^+ (RIP+PA). Les solutions subissent une sonication ensuite récupérées et exposées à une lumière UV de longueur d'onde 265 nm.

A la fin les échantillons contenus dans les Boîtes de Pétri sont mis à sécher, dans l'étuve pendant 24 heures à 37° C. (Température physiologique).



Figure III.2 : Opération importante permet d'éviter l'agrégation des particules par un sonicateur.

III. 6. Etude de l'activité antibactérienne

III. 6. 1. Méthode de diffusion des disques

La méthode de diffusion des disques est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne ensuite viennent des méthodes les plus détaillées. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume placé sur les disques de Papier, l'épaisseur de la couche de gélose et si un dissolvant est employé varient considérablement entre les études (Manou et al, 1998; Burt, 2004).

III. 6. 2. Matériel et produit

a. Matériels utilisé

Boites de pétri, bec benzène, Écouvillons stériles, films paraffine, 1 Un tube, ensemencher
Plaque chauffante, Fiole, Autoclave, Flacon, étuve.

b. Produits utilisés

- Deux types d'antibiotique (Erythromycine et Gentamicine).
- Médicament (métronidazole Razès 0,5%) utilisé comme adjuvant anti-bactérie.
- Eau distillé stérilisée.
- Gélose nutritive.
- Un seul type de bactéries a été retenu pour cette étude (*Escherichia Coli*) afin d'viterle risque qui peut être causé par l'usage de bactéries résistantes.

Tableau III.3 : Souche et Référence Escherichia coli.

Souche bactérienne	Origine	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Infection urinaire	(ATCC 25922)

III. 6. 3. Choix des milieux de culture

En fonction de souche sélectionnée, nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- L'eau physiologique stérile/L'eau distillé stérile pour préparer les suspensions microbiennes.
- Le milieu de culture utilisé est la gélose nutritive. Pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents films préparés.

III. 6. 4. Préparation des disques de films

Les disques sont prélevés à partir de chaque film synthétisé à l'aide de l'emporte-pièce avec un diamètre de 6 mm selon les mesures des disques d'antibiotiques actuelles (normalisés).

III. 6. 5. Stérilisation du matériel

Tous les tubes à essai utilisés dans la préparation de solutions bactériennes ont été stérilisés en premier à sec dans l'étuve, du papier filtre (6 mm de diamètre) et la gélose nutritive a été stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

III. 6. 6. Préparation de l'inoculum

La souche bactérienne ont été mises en culture dans le milieu de culture (GN) et incubées à 37°C pendant 24h dans étuve.

- D'isoler une ou plusieurs souches contenant dans un mélange.
- De vérifier la pureté d'une souche étudiée.

NB/ L'Inoculum

Un inoculum est un échantillonnage de micro-organismesensemencé dans un milieu de culture biologique par inoculation. En microbiologie, l'inoculum est une petite quantité de matériel contenant des bactéries, virus ou autres microbes utilisée pour démarrer une culture. Dans le cas de plusieurs souches simultanées, il devient un inoculum multi souche.

Pour obtenir des colonies jeunes, la bactérie a étudié sontensemencer dans un tube stérile contenant 4 à 5 ml d'un bouillon cœur-cerveille pour la bactérie (*Escherichia coli*). Le tube contenant le bouillon de culture est incubé à 37 °C pendant 24h.

III. 6. 7. Disques d'antibiotiques

Le choix des disques d'antibiotiques a été fait selon les bactéries sélectionnées et la disponibilité (Gentamicine, Erythromycine) s'avèrent les plus adéquates dans notre cas.

III. 6. 8. Protocole expérimentale

III. 6. 8. 1. Milieu

- La Gélose Nutritive (GN), est coulée dans les boîtes de Pétri sur une épaisseur de d'environ 4mm.
- Les géloses sont ensuite séchées avant l'emploi.



Figure III.3 : Coulage du milieu de culture dans des boites pétries.

III. 6. 8. 2. Ensemencement et dépôt des disques

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

Ensemencement se fait sur une gélose nutritive par la méthode de Kirby-Baur, par écouvillonnage appelée méthode NCCLS (National Commette of Clinical Laboratoire Standards).

Ce type d'ensemencement est rapide mais est imprécis. Dans des conditions stériles imbiber un écouvillon dans la suspension bactérienne. Ensemencer le milieu de culture de haut en bas avec des stries sériées, l'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de pétri de 60° (Figure III.4).

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut agiter la solution de bactérienne et recharger l'écouvillon à chaque fois.

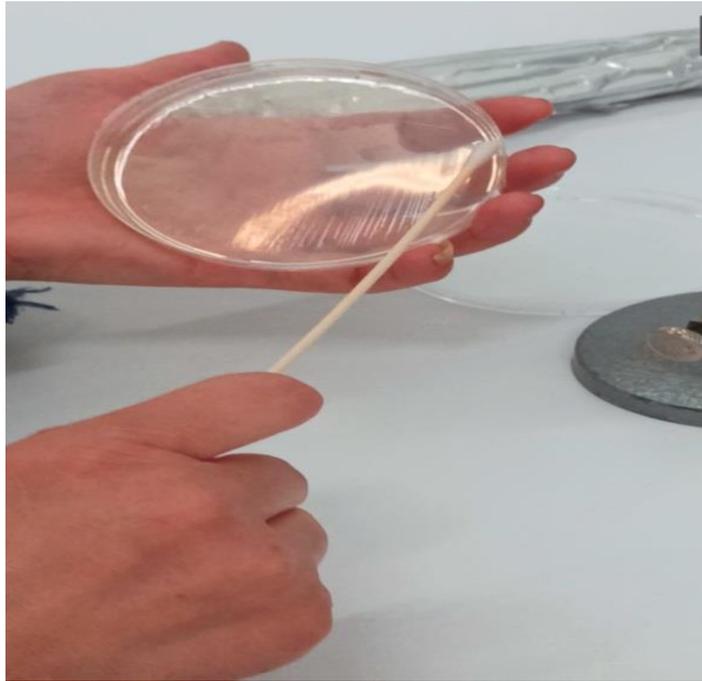


Figure III.4 : Opération d'Ensemencement sur la gélose nutritive.

Les disques chargés d'antibiotiques, ont été déposés sur la gélose (GN) ensemencé, à l'aide d'une pince stérile. Et aussi, nous mettons les disques de papier filtre dans la solution du médicament anti bactéricide (Métronidazole Razès a 0,5%). Ensuite, et déposés sur la gélose (gélose nutritive).

A la fin, les différents échantillons de disques de coupés à partir de films sont déposés sur le gel (Figure III.6).

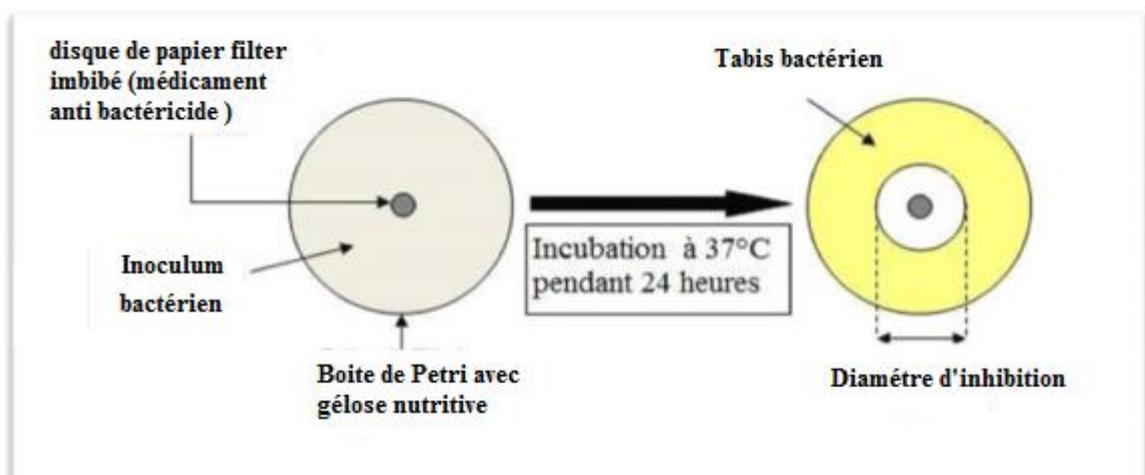


Figure III.5 : Principe de la méthode de diffusion sur disques.

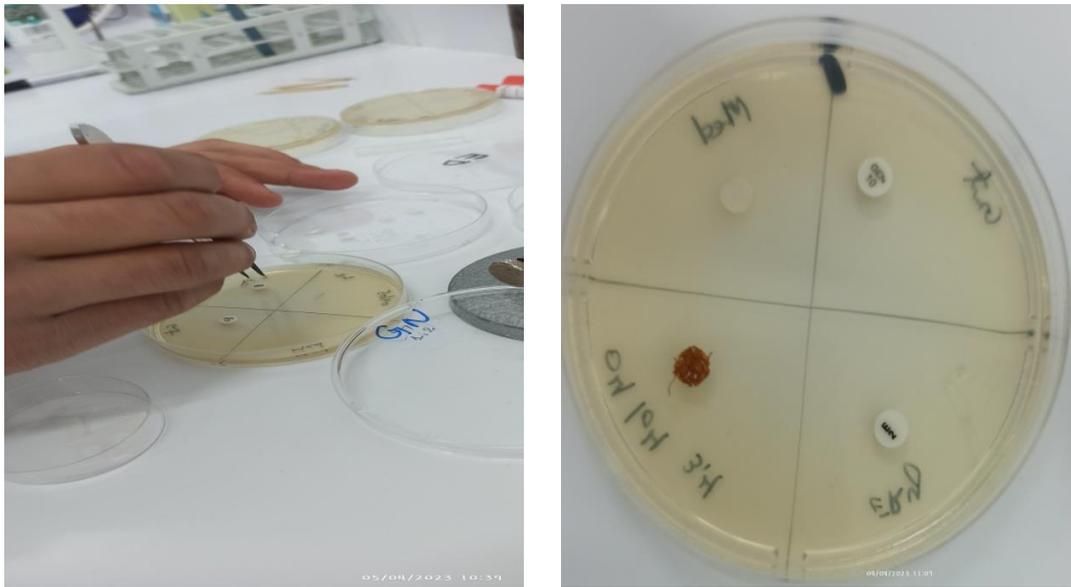


Figure III.6 : Le dépôt des disques (antibiotiques, disques des Films préparés et les disques de papier filtre) sur le milieu de la suspension bactérienne.

A la fin les boîtes ont été incubées dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures, conditions adéquates pour des résultats meilleures et pour une analyse sûre de la prolifération de la bactérie.



Figure III.7: Photo des différentes préparations avant Etuvage.

III. 6. 8. 3. Lectures (antibiogramme)

La lecture se fait après 24 heures d'incubation. En mesurant avec précision les diamètres des zones (mm) d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique de précision. d'après (De Billerbeck, 2007), les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité :

- ✓ Résistant (-) ($D < 6\text{mm}$).
- ✓ Intermédiaire (+) ($6\text{mm} < D < 13\text{mm}$).
- ✓ Sensible (++) ($D > 13\text{mm}$).

III. 7. Analyses spectroscopiques IR

III. 7. 1. Spectres d'analyse IR

a. Définition

Il s'agit d'une méthode essentiellement qualitative, qui permet d'obtenir des informations structurales, ou pour tester la pureté d'une substance. Les différentes fonctions chimiques présentes sur une molécule donnée sont responsables de bandes d'absorption caractéristiques [36].

b. Principes de la spectroscopie Infra-rouge

Dans les molécules, les liaisons vibrent à une fréquence bien déterminée qui dépend des atomes de la liaison mais aussi de l'environnement de la liaison. Pour une fréquence donnée, ces liaisons rentrent en résonance : l'énergie apportée est alors consommée : les molécules absorbent et la transmission diminue. Si on représente sur un graphe l'évolution de la transmission en fonction de la fréquence, ou plus généralement (pour des questions pratiques) du nombre d'onde (la fréquence divisée par la vitesse de la lumière dans le milieu), on observe des variations. Chaque pic (chaque absorption) est donc caractéristique d'un certain type de liaison.

Il existe différents types de vibrations :

- Les vibrations d'élongation, généralement intenses.
- Les vibrations de déformation, où l'on distingue les déformations dans le plan, hors plan... [36].

Chapitre IV :
RESULTAT ET
DISCUSSION

IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV. 1. Aspect visuel

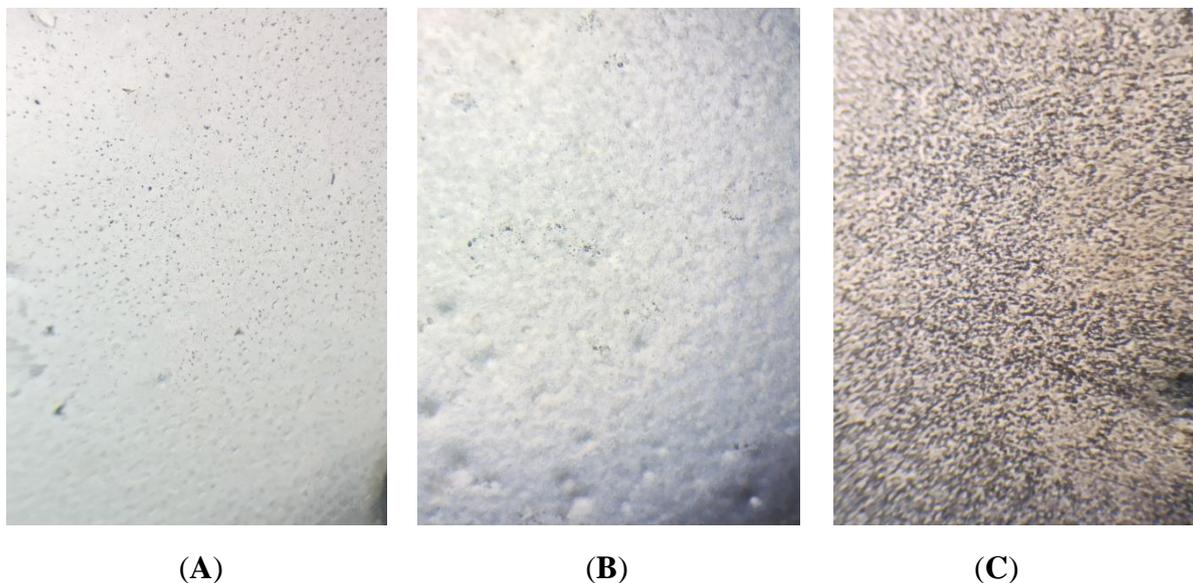


Figure IV.1 : photos au Microscope optique montrant l'aspect des différents films préparés.

Les films préparés sont distincts par leur aspect visuel et physique.

Nous avons donc noté ce qui suit ;

- Les films ne contenant que du PVA sont transparents claires (Figure IV.1. **A**).
- Les films contenant l'RIP sont devenus, après polymérisation moins transparents voir translucides (Figure IV.1. **B**).
- Les films contenant aussi les ions Ag^+ sont devenus sombres prennent d'abord une teinte jaune, puis devient plus foncé à mesure que les ions Ag^+ se déposent sous leur forme métallique Ag^0 sous l'effet de leur exposition aux UV 265nm. Toutefois, à cause des impuretés dissoutes dans le milieu réactionnel, on ne peut négliger une précipitation sous forme d'oxyde (Figure IV.1. **C**).
- Une observation au microscope montre, quoique difficilement, un aspect significative de la présence de particules métalliques, sur une surface plus rugueuse et dont la surface est devenue plus réfléchissante ayant un aspect métallique.

IV. 2. Les analyses IR

IV. 2. 1. Spectres IR des différents composés synthétisés.

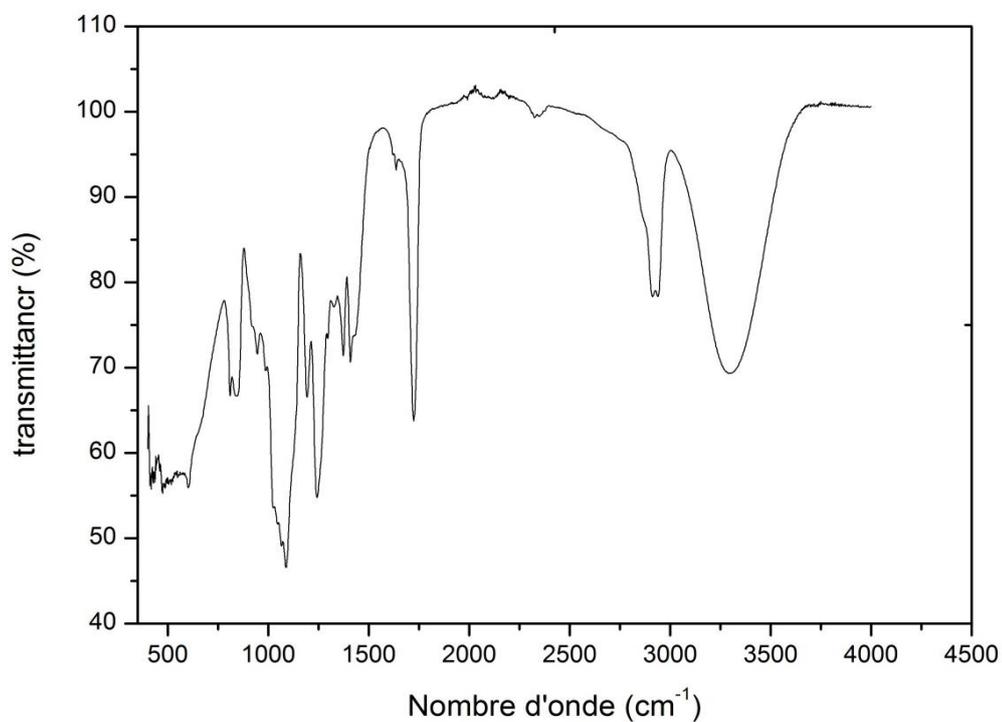


Figure IV.2: Specter IR, PVA+ TEGDA+ FeNH₄ (SO₄)₂

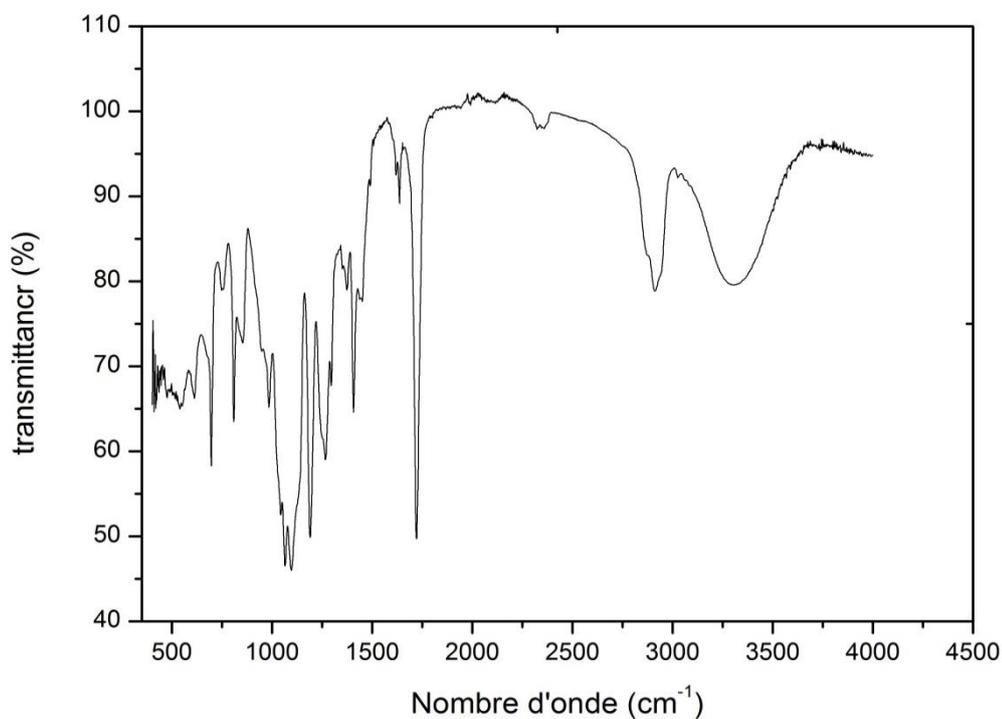


Figure IV.3: Specter IR, PVA TEGDA+ FeNH₄(SO₄)₂ + Principe active.

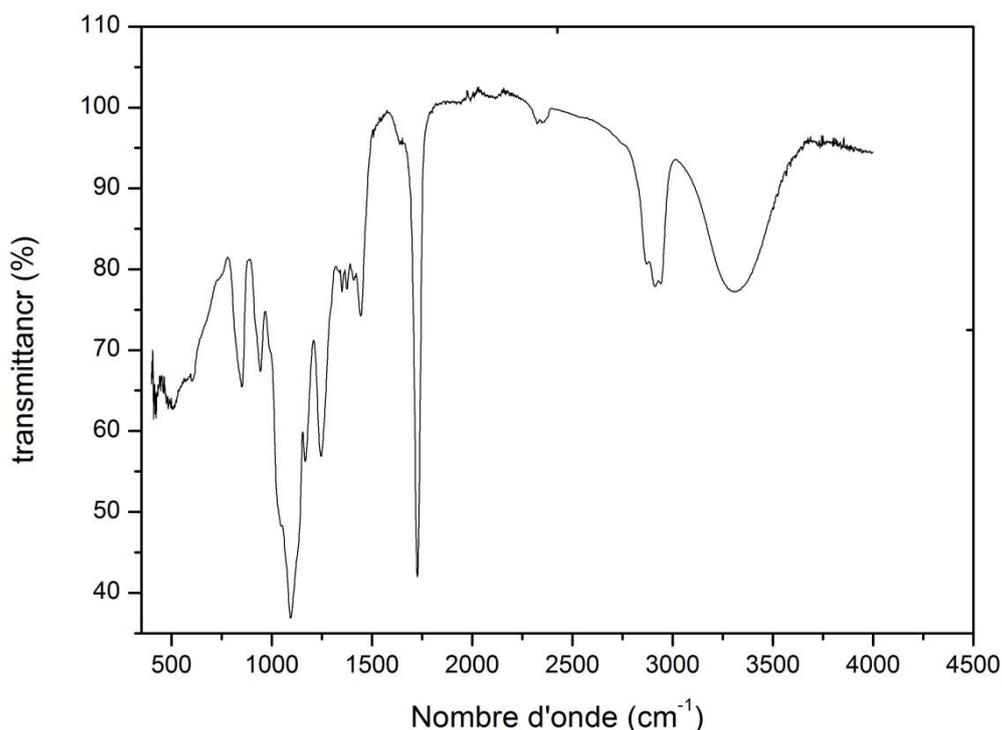


Figure IV.4: Specter IR, PVA TEGDA+ FeNH₄ (SO₄)₂ + Principe active +Ag+SO₄.

IV. 2 .2. Spectre infrarouge du polymère

Particulièrement, le PVOH, ainsi que le PTEGDA (RIP réticulé), ont été analysé par spectroscopie FTIR sous forme de film homogène sur un appareil de type Shumadzu.

Cette analyse se fait par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier pour suivre notamment la cinétique de polymérisation des systèmes préparés par rayonnement UV. Le spectre IR du polymère comme celui du monomère a été enregistré pour pouvoir attribuer les bandes d'absorbance. Le spectre du TEGDA irradié est reporté sur la figure (IV.2).

On observe clairement dans les figures (Figure IV.2, Figure IV.3) une disparition de quelques pics dans les spectres IR après la polymérisation dans les zones de (700cm⁻¹ à 900cm⁻¹) et de (1500cm⁻¹ à 1650cm⁻¹) ainsi qu'une diminution de l'intensité d'autres bandes dans les régions de (1200cm⁻¹ à 1400cm⁻¹) et de (1700cm⁻¹ à 1800cm⁻¹).

Dans le cas des RIPs obtenus on note la présence de mêmes bandes d'absorption IR observés dans les réseaux de faibles concentrations en TGDA mais avec des intensités légèrement plus fortes en relation avec l'architecture de l'RIP considéré qui aura une structure plus ou moins fermée.

Tableau IV.1 : L'attribution des bandes observées pour l'PETGDA [37] .

<i>Attribution</i>	PVA TEGDA+ FeNH₄ (SO₄)₂	PVA TEGDA+ FeNH₄ (SO₄)₂+ Principe active	PVA TEGDA+ FeNH₄ (SO₄)₂+ Principe active +Ag⁺SO₄
$\bar{\nu}_{O-H}$	3319	3339	3336
$\bar{\nu}_{C-H}$ aliphatique	2948; 2927	2930; 2888	2950; 2928
$\bar{\nu}_{C=O}$	1733	1726	1726
$\bar{\nu}_{C=N}$	/	1640	1641
$\bar{\nu}_{NO_2}$	/	1455	1455
δ_{CH_2}	1431	1412	1412
$\bar{\nu}_{C-O}$	1257	1275	1272
$\bar{\nu}_{C-N}$	/	1196	1198

Nous nous sommes intéressés particulièrement au spectre dans la bande 750-1800 cm⁻¹ pour mieux représenter les bandes d'absorption correspondantes aux doubles liaisons acryliques. En général, dans le cas des acrylates à chaîne carbonée, on observe deux bandes d'absorption de la double liaison acrylique à 810 et 1637 cm⁻¹. L'analyse spectroscopique infrarouge à transformée de Fourier nous a permis de suivre la formation du polymère des systèmes RIPs préparés par rayonnement UV à 365 nm.

Pour les différents systèmes que nous avons étudiés par spectroscopie infrarouge, il est possible de suivre la disparition des bandes d'absorption des doubles liaisons acryliques à 810 et 1637 cm⁻¹.

(La figure IV.2), représente Le spectre infrarouge du PVOH, en présence du polymère. Ou l'on observe les différentes bandes caractéristiques des groupements constituant le polyvinyle alcool pure (PVOH), telles que les bandes à 3427 cm^{-1} (groupements hydroxyles (-OH)) et 1735 cm^{-1} (groupement esters).

Le spectre IR permet aussi de détecter des liaisons hydrogène (groupe OH lié) qui s'établissent entre molécules d'alcool. On distingue deux cas, selon l'état de l'alcool : liquide pur ou dilué dans le mélange. Dans le cas d'un alcool liquide, la bande d'absorption de liaisons OH donne une bande large entre 3300 et 3600 cm^{-1} .

Certains spectres subissent des changements flagrants par rapport aux spectres de départ du PVA, TEGDA et le PA.

Soit par des décalages des pics caractéristiques soit par leurs intensité, comme c'est le cas de la coprésence des deux composés en plus des ions Ag^+ qui de ce fait, s'affectent mutuellement, comme on peut l'observer sur les différents spectres obtenus (Figure IV.4.), du à la complexation des cations métalliques (Ag^+). C'est cette chélation qui permettra la précipitation des cations sous forme de particules nanométriques d'argent métallique.

En comparant, les bandes d'absorption des polymères (RIP) dopés par l'argent, aux bandes d'absorption FTIR, les uns par rapport aux autres, on remarque un déplacement de certaines bandes et apparition de nouvelles bandes de faibles intensités qui sont apparues entre 800 et 400 cm^{-1} , indiquant que la coordination de ligand s'est effectuée avec le cation central. Ainsi a permis de confirmer la formation des complexes métalliques.

IV. 3. Résultats d'activité bactérienne des disques

Tableau IV.2 .a : Résultats de l'activité antibactérienne 1pt.

Escherichia coli				
Les échantillons	A	B	C	D
Disques des films	11mm	6mm	20 mm	12mm
Disques Gentamicine	20mm	20 mm	20mm	20mm
Disques Erythromycine	AA	AA	AA	AA
Disques Médicament	AA	AA	AA	AA

AA : Aucune activité

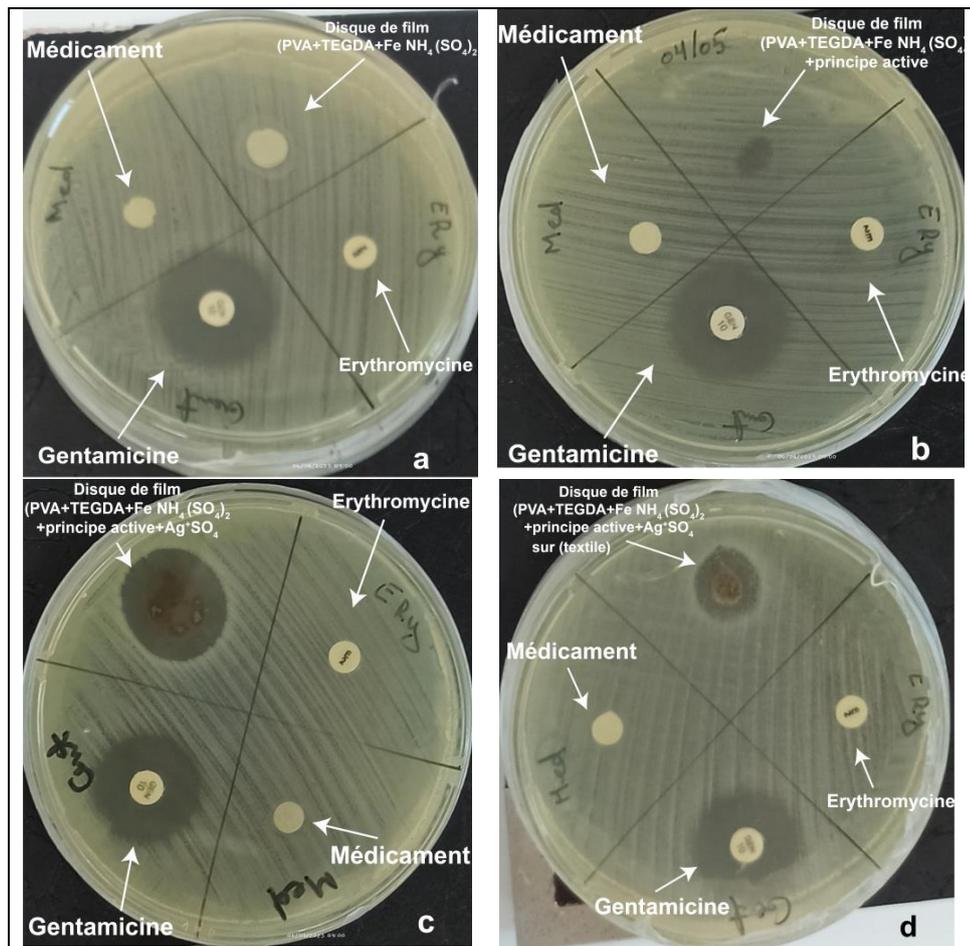


Figure IV.5 .a : Résultats de test d'activité antibactérienne

Des effets des différents disques sur E. coli 1pt.

Tableau IV.3 .b : Résultats de l'activité antibactérienne 2pt.

Escherichia coli				
Les échantillons	A	B	C	D
Disque de films	13mm	15 mm	13 mm	10 mm
Disques Gentamicine	19mm	18 mm	20 mm	20 mm
Disques Erythromycine	AA	AA	AA	AA
Disques Médicament	AA	AA	AA	AA

AA = Aucune activité

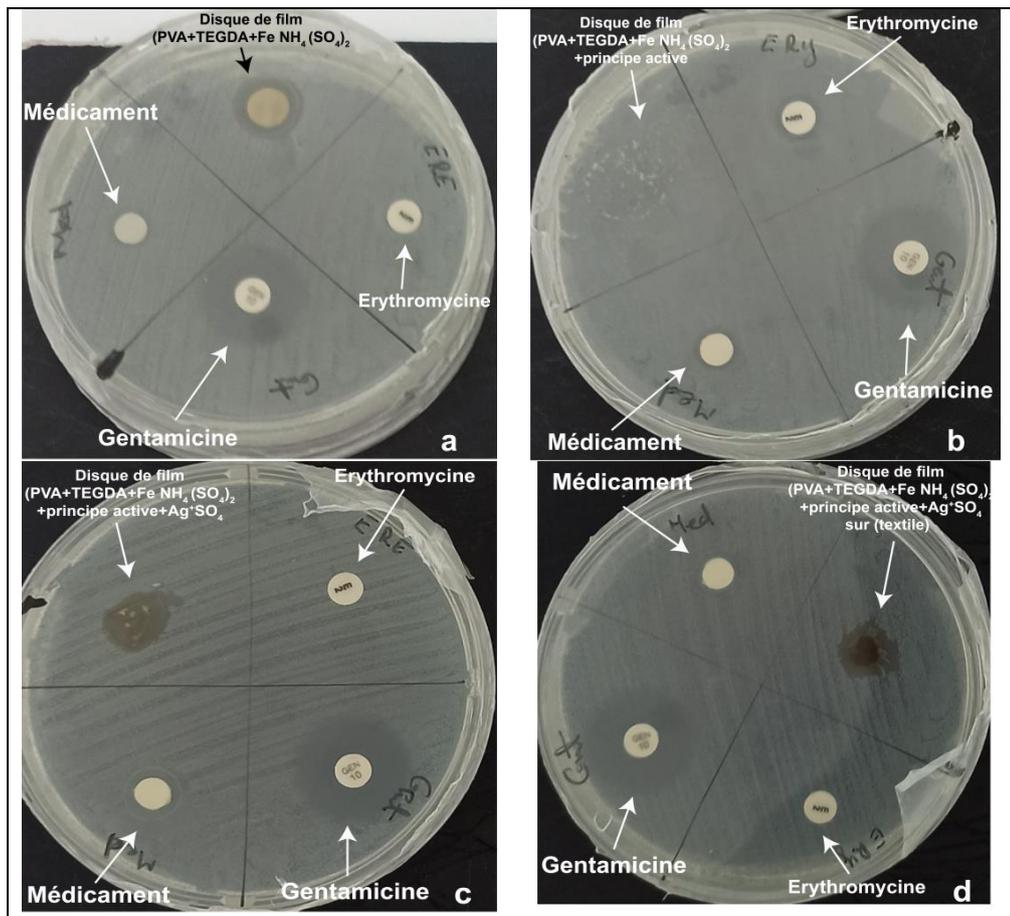


Figure IV.6 .b : Résultats de test d'activité antibactérienne

Des effets des différents disques sur E. coli 2pt.

Tableau IV.4.c : Résultats de l'activité antibactérienne 4pt.

Escherichia coli				
Les échantillons	A	B	C	D
Disques des films	Dsd	Dsd	12 mm	13mm
Disques Gentamicine	20mm	18 mm	19mm	20mm
Disques Erythromycine	AA	AA	AA	AA
Disques Médicament	AA	AA	AA	AA

AA : Aucune activité

Dsd = Disque soluble dispersé

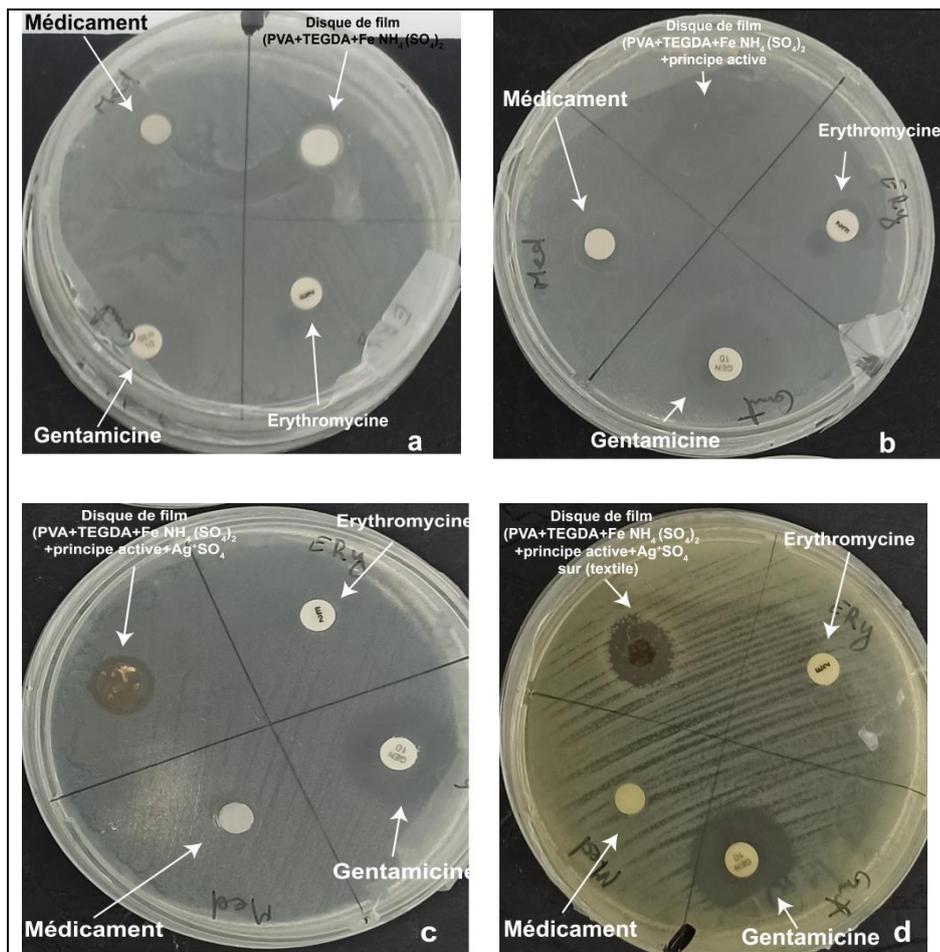


Figure IV.7.c: Résultats de test d'activité antibactérienne

Des effets des différents disques sur E. coli 4pt.

IV. 3. 1. Ana lyses Bactériologiques

Les résultats indiquent que le PVA pure n'a pas d'activité antimicrobienne forte. Les RIPs obtenues et du mélange en présence d'ions métalliques Ag^+ ont présenté une activité contre *E. coli* tandis que le PA est non sensible. Les diamètres des zones d'inhibition vont de 10 mm à 20 mm. Donc, les données indiquaient que *E. coli* étaient les souches les plus sensibles au et présente une résistance accrue vis-à-vis. Cette variabilité d'activité peut s'expliquer par des différences dans la méthode de préparation, la composition des films. Dans notre cas, une activité plus forte en présence d' Ag^+ peut être liée à ses propriétés antibactériens décrites précédemment voir chapitre II. Cela veut dire que les ions Ag^+ complexés avec les différents constituants à des faibles concentrations peuvent agir et inhiber la croissance de *E. coli* et la détruire ; ce qui est expliqué par la zone d'inhibition obtenue dans les boites de pétris.

Un taux élevé de réticulations présente aussi un effet non négligeable. Dans l'ensemble, les activités antibactériennes des films préparés peuvent être considérées comme convaincantes du moins pour ce cas précis. Notamment du à effet de synergie des différents constituants. Ces résultats confirment nos attentes.

Conclusion

Le but de ce travail était de synthétiser un RIP et d'améliorer ses propriétés antibactériennes, par dopage on y incorporant des ions métalliques Ag^+ en présence d'un principe actif (médicament antibactérien) afin de booster l'efficacité du mélange contenu dans notre substrat RIP, et d'étudier également son activité antibactérienne.

Une synthèse d'un substrat constituer de molécules de PVA emprisonnées dans un réseau constituer par des molécules de polymère réticulées le tétraéthylène glycol di-acrylate dont le monomère est bi fonctionnel comportant de groupes acrylate (TEGDA) est effectuée à température ambiante sous lampe UV a 365nm le et en présence d'amorceur $FeNH_4(SO_4)_2$ dans un milieu en présence d'un solvant organique polaire (eau-éthanol).

Pour améliorer certaines propriétés de notre polymère, un dopage chimique est réalisé par introduction des cations métalliques Ag^+ . Les films dopés ainsi préparés ont été récupérée et caractérisée par différentes méthodes : spectroscopie infrarouge et analyses bactériologique. La spectroscopie IR nous a permis de confirmer la formation des RIPs attendus ainsi que l'établissement de complexes métalliques par chélation avec les différentes molécules présentes dans le matériau et attribuer la nature de la liaison molécules-métal par déplacement de certaines bandes du polymère ou du principe actif et apparition de nouvelles bandes de faibles intensités qui sont apparues vers 800 cm^{-1} indiquant que la présence de liaisons de coordination s'est effectuée avec le cation métallique.

L'étude de l'activité antibactérienne nous a permis de voir l'influence de PVA et TEGDA et Ag^+ sur la souche bactérienne (E. Coli).

A ce titre nous suggérons que le mécanisme responsable dans ce cas ne concerne pas que la présence de PVA, PA, connus déjà pour leur pouvoir antibactériens mais également pour des propriétés antibactériennes dues aux interactions des charges positives de la chaîne avec la paroi cellulaire des bactéries et qui ont pour conséquences sa destruction.

Références bibliographiques

[1] : G. Gaucher. Mise au point de nanoparticules polymères pour l'administration parentérale d'agents anticancéreux hydrophobes, Faculté de Pharmacie, Université de Montréal. Aout 2000.

[2] : T. Gerard. Elaboration et caractérisation de matériaux multiphasiques à base de polyacide (PLA) et de polyhydroxyalcanoates (PHA), Thèse de l'École Nationale Supérieure des Mines de Paris, Sciences et Génie des Matériaux, 29 août 2013.

[3] : X. Guillory. Silanisation de polysaccharides en milieu liquide ionique et réactivité d'un organoalkoxysilane vis-à-vis de nucléophiles simples : vers des hydrogels injectables pour l'ingénierie tissulaire du cartilage, Thèse de Doctorat, l'Université de Nantes, mars 2016.

[4] : S. Worley and G. Sun, "Biocidal Polymers," Trends polymer Science, Vol. 4, 1996, pp. 364-370.

[5] : S. Berardi. Surfaces polymères antibactériennes à base de polyionènes : synthèses et études aux interfaces en physico-chimie et biologie. Polymères. Université Paris-Saclay, 2020. Français.

[6] : www.antibio-responsable.fr consulte le 03/05/2023 à 14H

[7] : A. Veyssiere. La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. Ffdumas02432394 PAGE 33.

[8] : T. Heart, P. Shears, Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences-Flammarion. 1997, pp 71-79.

[9] : D. Salvador, «Étude structurale d'un système d'efflux tripartite bactérien MexAB-OprM impliqué dans la résistance aux antibiotiques chez Pseudomonas aeruginosa. », thèse doctorat, L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [10] : YD. tremblay , S;hathroubi.M, Jacques . revue canadienne de recherché veterinaire. L'UNIVERSITÉ Ouébec . canada vol (78) , p (110-116).
- [11] : Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284:1318–1322.
- [12] : Hall-Stoodley. L, Costerton. JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2:95–108.
- [13]: Richards. JJ, Melander .C. Controlling bacterial biofilms.*ChemBioChem* .2009;10:2287-2294.
- [14]: Van Houdt. R, Michiels .CW. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J ApplMicrobiol*. 2010; 109:1117–1131.
- [15]: microscopie confocale suite à une coloration du biofilm à l'aide de FilmTracer™ FM® 1–43.
- [16]: Kaplan JB. Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dent Res*. 2010; 89:205–218.
- [17]: Karatan E, Watnick P. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *MicrobiolMolBiol Rev*. 2009; 73:310–347.
- [18]: R.Kohil ,k.Mittal «Developments in surface contamination and cleaning»;Elesvier,2016.
- [19] : Mortazavian, H. Foster, L. L. Bhat, R. Patel, S. Kuroda, K. Decoupling the Functional Roles of Cationic and Hydrophobic Groups in the Antimicrobial and Hemolytic Activities of Methacrylate Random Copolymers. *Bio macromolécules* 2018, 19 (11), 4370–4378.
- [20] :M. Bensaid, « Etude des polymères par dynamiques moléculaire», thèse doctorat, université d'Oran des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf, Algérie (2015)
- [21] : B. Soumia « détermination de la constante de temps de gonflement de réseau de polymères interpénètres »mémoire master université Abou-BekrBelkaide Tlemcen.Algerie 2016.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [22]: K. Kaminski, M. Paluch, R. Wrzalik, J. Ziolo, R. Bogoslovov, C. Michael Roland. Pressure-Induced Polymerization of Tetraethylene Glycol Dimethacrylate. Published online in Wiley InterScience, Received 28 December 2007; accepted 4 March 2008.
- [23]: F. Danusso, chimica macromolecolare, Facoltà di Ingegneria del Politecnico di Milano Istituto di Chimica Industriale, copyright clup, milano prima edizione: dicembre 1972 seconda edizione: novembre 1980.
- [24]: J. P. Mercier et E. Maréchal, « Chimie des polymères. Synthèses, réactions, dégradations » Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, (1993).
- [25]: B. Abdelmounaim « préparation des particules nano-bio composite caractère médicamenteux : Antibactérienne » ; mémoire master université Mohamed el Bachir el Ibrahim-Bourj Bou Arredj ; 2022.
- [26] : L.H. Sperling; Polymeric Materials Encyclopedia; Vol 5; CRC Press: Boca Raton, FL, (1996)
- [27] : D. Chakrabarty, Polymer Gels and Networks, Vol 6; 191-204, (1998). 26. S. J. Kim, S. G. Yoon; S. I. Kim; Polym. Int., 54 149-152 (2005)
- [28] : Y. BIAN. Durabilité des géotextiles en pol (alcool vinylique) Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure d'Arts et Métiers. Paris 2019.
- [29] : A. AfKIR, Utilisation du polyvinylalcool (PVOH) autant que drug delivery system, Thèse Doctorat. université SAAD DAHLAB, BLIDA1. 2017.
- [30] : A. AMINA G. KELTHOUM, Effet antibactérien des nanoparticules « cuivre, argent » mémoire master. Université Frères Mentouri Constantine 1. Le 15-09-2020.
- [31] : C. Boyer, Le Développement Des Nanoparticules D'argent Comme Agent Antibactérien : Quels Risques Pour La Santé et L'environnement, Thèse Doctorat, université de PICARDIE JULES VERNE le 23 avril 2021.
- [32] : Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramirez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. Oct 2005; 16(10):2346-53.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[33]: Flores López LZ, EspinozaGómez H, Somanathan R. Silver nanoparticles: Electron transfer, reactive oxygen species, oxidative stress, beneficial and toxicological effects. Journal of Applied Toxicology 2019 ; 39(1):pp16-26.

[34] : M, Issam. Elaboration de surfaces biocides contenant des nanoparticules d'argent. Thèse de doctorat Rouen : Université d'INSA, HAL. 2011.

[35] : KeLuo, et al. On shockwave propagation and attenuation in poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels. J MechBehavBiomed Mater. 2021 Jun;118:104423

[36] : H Yassine. F. Djamel Eddine «Synthèse et caractérisation des copolymères (vinyle imidazolium-covinyle pyridine et vinyle imidazolium-co-méthacrylate de méthyle) et liquide ionique.» ; mémoire master Université Ibn Khaldoun – TIARET.

[37] : www.syracuse-university-organic-chemistry-i-laboratory ,le03/05/2023à9H.

