

Évaluation de la résistance bactérienne aux antibiotiques et potentialisation de l'activité antibactérienne par des nanoparticules biogéniques dérivées de *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. (Crassulaceae)

Jonathan MOKUBA LOKOLE¹, Adrien TUWISANA MASUNDA¹, Christian MWAN-ZA-KA KAHUSU², Albert KONGO BUSHABU¹, Jean Paul ENGEMBE IYOMBE^{1,3}, Joseph MANSI MBASANI¹, Jean Pierre KANZA BASILUA¹, Raphaël MASAMBA MULONGO¹, Pitchou BOKOLOMBE NGOY⁴, Jean Paul KOTO-TE-NYIWA NGBOLUA^{1,3, 5,*}

¹Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales, Kinshasa, RD Congo ;

²Département d'immunologie clinique, Institut National de Recherche Biomédicale, Kinshasa, RD Congo ;

³Centre de Recherche en Pharmacopée et Médecine Traditionnelle, ISTM/KIN, Kinshasa, RD Congo ;

⁴Département de Chimie & Industries, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, Kinshasa, RD Congo

⁵Département de Biologie, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, Kinshasa, RD Congo ;

RESUME:

La résistance aux antibiotiques constitue une menace mondiale majeure de santé publique, particulièrement préoccupante dans les contextes à ressources limitées. La présente étude visait (i) à évaluer le profil épidémiologique de la résistance bactérienne dans un contexte local, et (ii) à tester une approche innovante basée sur la synthèse de nanoparticules biogéniques de cuivre (NPs-Cu) issues de *Kalanchoe pinnata*. Une enquête microbiologique a identifié *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter* sp. comme principales souches résistantes, avec une sensibilité partielle à la nitrofurantoïne, la ciprofloxacine et la gentamicine. Les NPs-Cu, caractérisées par diffraction et fluorescence X, ont révélé la présence de Cu, Sr, Fe et Ca. Bien que leur action seule ait été limitée selon l'antibiogramme, leur combinaison avec la ciprofloxacine a significativement renforcé l'efficacité antibactérienne, notamment contre *E. coli* et *K. pneumoniae*. Par ailleurs, la méthode photodynamique a montré un potentiel accru des NPs-Cu, particulièrement lorsqu'elles étaient associées à un photosensibilisateur (5-Bromo-2-Nitrovanilline). Ces résultats suggèrent que *K. pinnata* peut constituer une source prometteuse de nanomatériaux synergiques avec certains antibiotiques et approches photodynamiques. Pour maximiser l'impact, il est recommandé : (1) de renforcer la surveillance nationale de la résistance bactérienne par des réseaux de laboratoires accrédités ; (2) d'intégrer les nanomatériaux verts dans des programmes de recherche translationnelle ; (3) de promouvoir des politiques de bon usage des antibiotiques afin de limiter les pressions sélectives ; et (4) de soutenir la recherche interdisciplinaire associant ethnopharmacologie et nanotechnologies dans la lutte contre les souches multirésistantes.

Mots clés : Résistance bactérienne ; antibiotiques ; nanoparticules biogéniques ; *Kalanchoe pinnata* ; photodynamique.

ABSTRACT :

Antibiotic resistance is a major global public health threat, particularly alarming in resource-limited settings. This study aimed (i) to assess the epidemiological profile of bacterial resistance in a local context, and (ii) to test an innovative approach based on the synthesis of biogenic copper nanoparticles (Cu-NPs) derived from *Kalanchoe pinnata*. A microbiological survey identified *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* sp. as the main resistant strains, with partial susceptibility to nitrofurantoin, ciprofloxacin, and gentamicin. The Cu-NPs, characterized by X-ray diffraction and fluorescence, revealed the presence of Cu, Sr, Fe, and Ca. Although their standalone activity was limited according to the antibiogram, their combination with ciprofloxacin significantly enhanced antibacterial efficacy, particularly against *E. coli* and *K. pneumoniae*. Moreover, the photodynamic method showed increased potential of Cu-NPs, especially when associated with a photosensitizer (5-Bromo-2-Nitrovanillin). These findings suggest that *K. pinnata* may represent a promising source of nanomaterials with synergistic activity alongside selected antibiotics and photodynamic approaches. To maximize impact, the following are recommended: (1) strengthening national surveillance of bacterial resistance through accredited laboratory networks; (2) integrating green nanomaterials into translational research programs; (3) promoting policies for the rational use of antibiotics to reduce selective pressures; and (4) supporting interdisciplinary research linking ethnopharmacology and nanotechnology in the fight against multidrug-resistant strains.

Keywords : Bacterial resistance; antibiotics; biogenic nanoparticles; *Kalanchoe pinnata*; photodynamic therapy.

*Adresse des Auteur(s)

Jonathan MOKUBA LOKOLE, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa, RD Congo ;

Adrien TUWISANA MASUNDA, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa, RD Congo ;

Christian MWAN-ZA-KA KAHUSU, Département d'immunologie clinique, Institut National de Recherche Biomédicale, Kinshasa, RD Congo ;

Albert KONGO BUSHABU, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa, RD Congo ;

Jean Paul ENGEMBE IYOMBE, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa & Centre de Recherche en Pharmacopée et Médecine Traditionnelle, ISTM/KIN, RD Congo ;

Joseph MANSI MBASANI, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa, RD Congo ;

Jean Pierre KANZA BASILUA, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa, RD Congo ;

Raphaël MASAMBA MULONGO, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa, RD Congo ;

Pitchou BOKOLOMBE NGOY, Département de Chimie & Industries, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, Kinshasa, RD Congo ;

Jean Paul NGBOLUA KOTO-TE-NYIWA, Section Biologie médicale, Institut Supérieur des Techniques Médicales de Kinshasa ; Centre de Recherche en Pharmacopée et Médecine Traditionnelle, ISTM/KIN, Kinshasa & Département de Biologie, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Kinshasa, Kinshasa, RD Congo ;

1. INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques (RAB) constitue aujourd'hui l'une des menaces les plus graves pour la santé publique au XXI^e siècle, car elle résulte de modifications bactériennes qui réduisent l'efficacité des traitements antimicrobiens. Selon une étude commandée par le gouvernement britannique, la RAB pourrait être responsable de 10 millions de décès par an d'ici 2050. Ce phénomène est largement favorisé par l'usage inapproprié et excessif d'antibiotiques dans les secteurs humain, animal et environnemental, ainsi que par le transfert mondial de bactéries et de gènes de résistance entre ces

compartiments. Les antibiotiques administrés aux animaux incluent souvent des molécules essentielles à la médecine humaine, favorisant ainsi l'émergence de souches résistantes. Ces bactéries peuvent ensuite transmettre leurs gènes de résistance aux microorganismes commensaux du tube digestif humain, et par ricochet aux agents pathogènes responsables d'infections [1].

Les infections dues à des organismes multirésistants accroissent considérablement la morbidité, la mortalité et les coûts liés aux soins. Des études moléculaires ont montré que la multirésistance est souvent acquise par capture et amplification de gènes préexistants, processus largement facilité par les éléments génétiques mobiles (MGE), capables de transférer l'ADN au sein d'une cellule (chromosome-plasmide) ou entre cellules différentes [35]. Bien que les antibiotiques restent la première ligne de traitement pour les infections bactériennes, l'augmentation des doses ou de la fréquence d'administration dans un contexte de résistance contribue à la multirésistance (MDR) et à des effets indésirables graves [40].

En République Démocratique du Congo (RDC), l'absence de coordination nationale dans la lutte contre la RAB aggrave la situation. La surveillance se limite essentiellement à quelques pathogènes, notamment *Mycobacterium tuberculosis* et *Salmonella Typhi*. Les laboratoires médicaux de l'Est du pays sont majoritairement de faible à moyenne qualité, avec des analyses réalisées principalement à visée thérapeutique plutôt qu'épidémiologique. Seules quelques structures privées et publiques disposent d'une accréditation. Le renforcement de la surveillance pourrait passer par l'exploitation systématique des données générées par les laboratoires de microbiologie, qui identifient et testent régulièrement la sensibilité des bactéries isolées à partir d'échantillons cliniques. Ces informations, si elles étaient centralisées et analysées, permettraient de suivre l'évolution de la résistance dans le temps et selon les régions [9]. Face à cette impasse, les nanotechnologies offrent des alternatives prometteuses. Les nanomatériaux – qu'ils soient métalliques, carbonés, polymériques ou intelligents – présentent un potentiel unique pour contourner les mécanismes classiques de résistance [27].

Leur petite taille confère aux nanoparticules (NP) des propriétés physicochimiques particulières qui améliorent l'efficacité et la biodisponibilité des agents antimicrobiens. La synthèse verte des nanomatériaux, basée sur l'utilisation de produits naturels comme agents réducteurs et stabilisants, se révèle simple, économique, évolutive et respectueuse de l'environnement, tout en limitant la toxicité pour l'être humain [30]. Parmi les plus étudiées figurent les nanoparticules d'or (Au), d'argent (Ag), de platine (Pt), d'oxyde de zinc (ZnO) et de sélénium (Se), qui trouvent déjà des applications en pharmacie, cosmétique, diagnostic et

thérapie ciblée [41]. Parallèlement, l'ethnomédecine continue d'apporter des pistes d'exploration. Les espèces du genre *Kalanchoe*, utilisées depuis longtemps dans les médecines traditionnelles pour leurs propriétés curatives, constituent un exemple d'intérêt. Toutefois, la similarité chimique et anatomique entre plusieurs espèces prête souvent à confusion, d'où la nécessité d'une caractérisation rigoureuse [3].

Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude est d'évaluer le profil épidémiologique de la résistance des souches bactériennes aux antibiotiques en RDC et d'explorer le potentiel des nanomatériaux biogéniques comme alternatives thérapeutiques innovantes.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Enquête épidémiologique

Une étude transversale a été menée dans un contexte hospitalier local afin d'identifier les souches bactériennes responsables d'infections courantes. Les prélèvements cliniques (urines, sang, pus) ont été collectés et soumis à l'isolement bactérien. L'identification des espèces a été réalisée par des méthodes microbiologiques standards (culture sélective, coloration de Gram, tests biochimiques). L'antibiorésistance a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose selon les recommandations du CLSI.

II.2. Préparation de l'extrait de *Kalanchoe pinnata*

Les feuilles fraîches de *K. pinnata* ont été récoltées, lavées, séchées à l'air libre et réduites en poudre. L'extraction a été réalisée par macération hydro-alcoolique suivie d'une filtration et concentration à l'évaporateur rotatif.

II.3. Synthèse des nanoparticules de cuivre (NPs-Cu)

Les NPs-Cu ont été obtenues par bioprécipitation en utilisant l'extrait de *K. pinnata* comme agent réducteur et stabilisant. La solution de sulfate de cuivre (CuSO_4) a été ajoutée goutte à goutte à l'extrait, puis incubée sous agitation contrôlée.

II.4. Caractérisation des nanoparticules

La morphologie et la composition élémentaire des NPs-Cu ont été analysées par diffraction des rayons X (XRD) et spectroscopie de fluorescence X (XRF).

II.5. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des NPs-Cu seules et en combinaison avec la ciprofloxacine a été évaluée par :

- la méthode de diffusion en milieu gélosé (zones d'inhibition),
- la méthode de dilution (détermination des CMI et CMB),
- la thérapie photodynamique, avec ou sans photosensibilisateur (5-Bromo-2-Nitrovanilline).

II.6. Analyse des données

Les résultats ont été exprimés en moyennes \pm écart-type. Les comparaisons statistiques entre traitements ont été effectuées à l'aide du test de Khi-carré, avec un seuil de significativité fixé à $p < 0,05$.

III. RESULTATS

III.1. Données épidémiologiques

La Figure 1 présente la distribution des participants en fonction de l'âge et du sexe, permettant de visualiser la composition démographique de l'échantillon étudié et d'identifier les groupes les plus représentés.

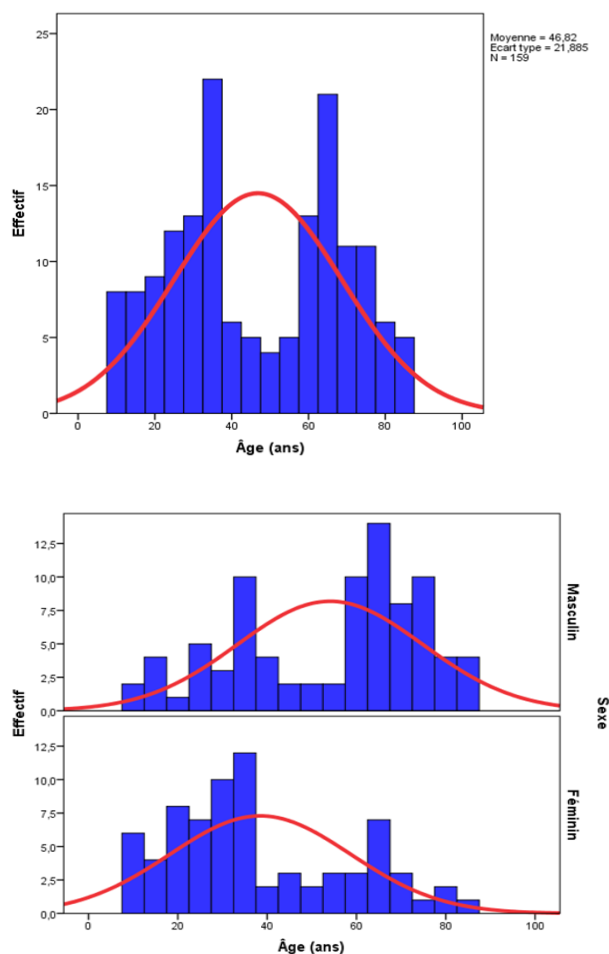


Figure 1 : Répartition des participants selon l'âge et le sexe

L'âge moyen des participants est de **46,82 ans** avec un écart-type de **21,89 ans** (IC95% : 43,39 – 50,25), tandis que la médiane s'établit à 44 ans. Les valeurs vont de **10 à 83 ans**, montrant une dispersion importante (intervalle = 73 ans ; intervalle interquartile = 39 ans). La variance élevée (478,96) traduit également une forte hétérogénéité. L'indice d'asymétrie ($-0,012$) suggère une distribution quasi symétrique, mais l'aplatissement négatif ($-1,305$) indique une courbe plus aplatie que la normale. Les tests de normalité confirment cette observation : Kolmogorov-Smirnov (stat =

0,129 ; ddl = 159 ; $p < 0,001$) et Shapiro-Wilk (stat = 0,937 ; ddl = 159 ; $p < 0,001$) rejettent l'hypothèse de normalité. En conséquence, la variable âge ne suit pas une loi normale, ce qui justifie l'utilisation d'analyses non paramétriques ou de transformations statistiques si l'on souhaite appliquer des méthodes paramétriques.

Tableau 1 : Sensibilités des disques d'antibiotiques

N°	Antibiotiques	Test de Sensibilité	
		R	S
1.	Ampicilline	49	7
2.	Céfotaxime	55	22
3.	Ceftazidime	11	17
4.	Ceftriaxone	32	14
5.	Augmentin	61	16
6.	Triméthoprim sulfaméthoxazole	20	19
7.	Acide nalidixique	4	2
8.	Levofloxacine	6	7
9.	Norfloxacine	6	9
10.	Imipénème	13	-
11.	Pipéracilline Tazobactam	31	2
12.	Céfoxitine	7	1
13.	Tétracycline	8	-
14.	Chloramphénicol	11	19
15.	Co-trimoxazol	60	31
16.	Erythromycine	6	2
17.	Gentamicine	39	65
18.	Ciprofloxacine	47	74
19.	Benzylpénicilline	2	1
20.	Kanamycine	5	-
21.	Amikacine	7	27
22.	Nitrofurantoïne	8	75
23.	Doxycycline	23	11
24.	Clindamycine	-	2
25.	Cefazoline	4	2
26.	Acide clavulanique	2	-
27.	Cefuroxime	39	22
28.	Pipéracilline	2	-
29.	Amoxicilline	1	-

L'examen du profil de sensibilité révèle une prédominance marquée de souches bactériennes multirésistantes, en particulier vis-à-vis des antibiotiques de première ligne tels que l'ampicilline (49R/7S), l'augmentin (61R/16S), la céfotaxime (55R/22S) et le co-trimoxazole (60R/31S). Cette situation traduit un phénomène préoccupant de perte d'efficacité des bêta-lactamines et des sulfamides. En revanche, certaines molécules conservent encore une activité notable : la gentamicine (65S/39R), la ciprofloxacine (74S/47R), l'amikacine (27S/7R) et surtout la nitrofurantoïne (75S/8R), qui émerge comme l'antibiotique le plus performant dans ce panel. Les fluoroquinolones, telles que la lévofloxacine et la norfloxacine, affichent des taux de sensibilité intermédiaires (7S/6R et 9S/6R), tandis que les céphalosporines de troisième génération (ceftriaxone et ceftazidime) montrent une efficacité limitée (14S/32R et 17S/11R). Par ailleurs, des antibiotiques comme la pipéracilline-tazobactam (31R/2S) et la céfoxitine (7R/1S) présentent des niveaux de résistance particulièrement élevés, réduisant leur intérêt thérapeutique.

Les Figures 2, 3 et 4 présentent la fréquence des bactéries isolées au cours des mois de janvier, février et mars, permettant d'observer l'évolution mensuelle des souches bactériennes et d'identifier les espèces prédominantes au fil du temps.

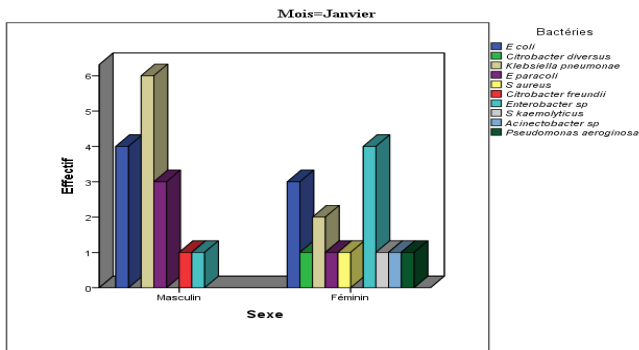


Figure 2 : Fréquence des bactéries isolées au mois de Janvier

Les résultats de cette figure ont montré que le sexe masculin a été infecté par *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. paracoli*. Et, quant au sexe féminin, nous observé une infection à *E.coli*, *Enterobacter sp*, *C. diversus*, *S. Kaemolyticus*, *Acinetobacter sp*. et *P. aeruginosa*.

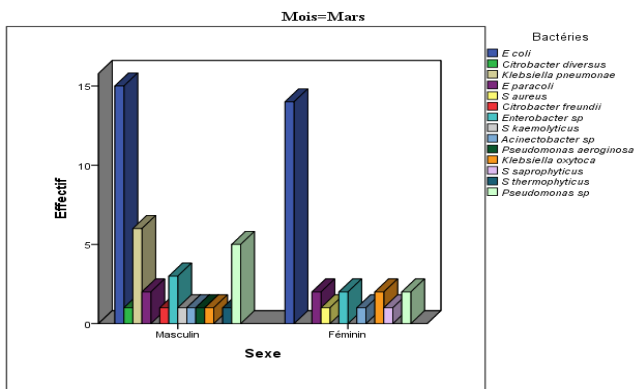


Figure 4 : Fréquence des bactéries isolées au mois de Mars

Il ressort des résultats de cette figure que *E.coli*, *C.diversus*, *C. freundii*, *Enterobacter sp*, *P. aeruginosa*, *S. thermophyticus* et *Psudomonas sp* ont été les bactéries les plus fréquentes pour le sexe masculin. *S.aureus*, *S.saprophyticus* et *K. oxytoca* ont été les plus représentés pour le sexe féminin.

Les Figures 5 à 9 présentent les tests de sensibilité des différentes souches bactériennes aux antibiotiques testés, permettant d'évaluer leur efficacité relative et de mettre en évidence les souches résistantes ou sensibles selon l'antibiogramme.

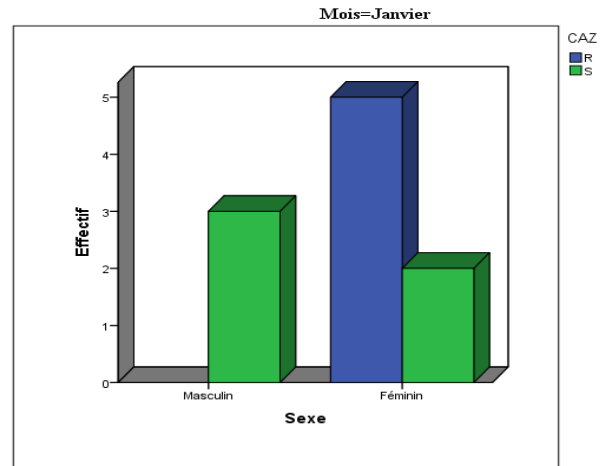


Figure 5 : Test de sensibilité de CAZ aux souches bactériennes

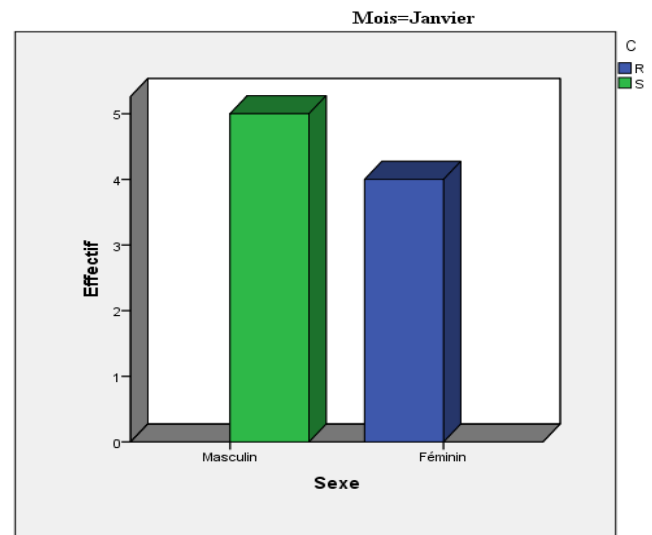


Figure 6 : Test de sensibilité de C aux souches bactériennes

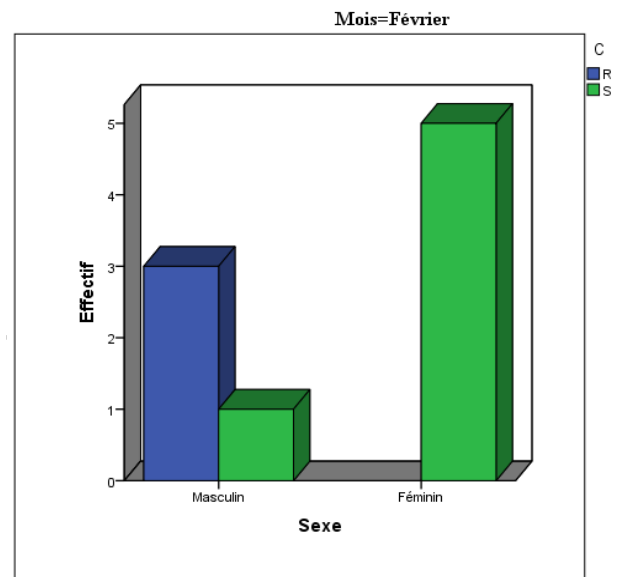


Figure 7 : Test de sensibilité de C aux souches bactériennes

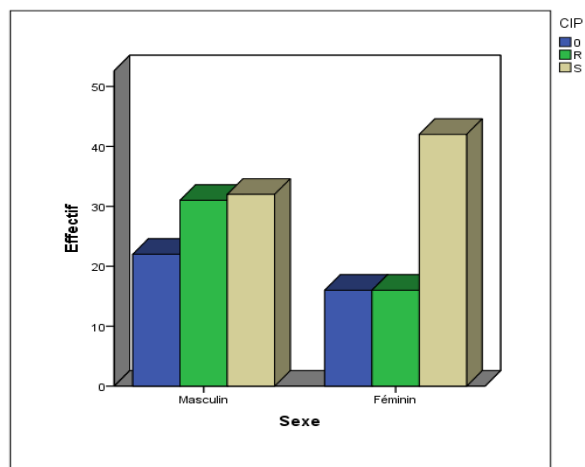


Figure 8 : Test de sensibilité de CIP aux souches bactériennes

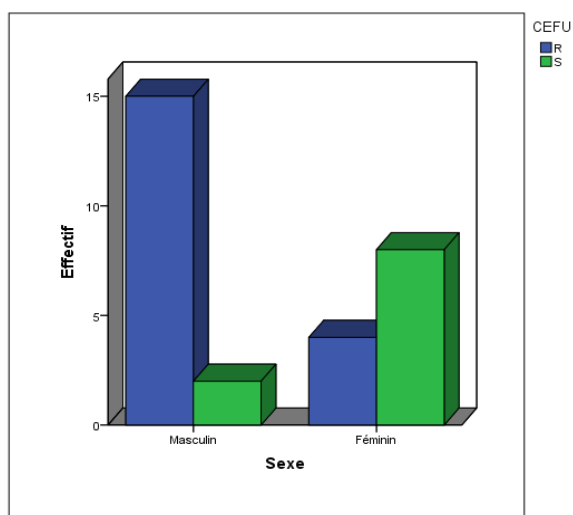


Figure 9 : Test de sensibilité de CEFU aux souches bactériennes

III.2. Caractérisation des nanoparticules

La Figure 10 illustre le spectre UV-Visible des nanoparticules de cuivre obtenues par biosynthèse à partir de *Kalanchoe pinnata*, mettant en évidence les bandes d'absorption caractéristiques liées à la présence de nanoparticules et à leur taille particulière.

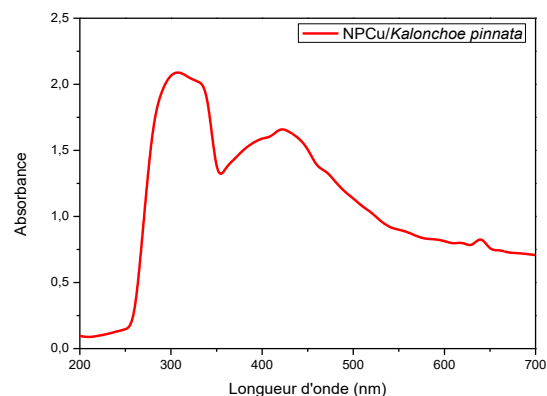


Figure 10 : Spectre UV-Visible des nanoparticules de cuivre biosynthétisées à l'aide de *Kalanchoe pinnata*.

Les résultats du spectre d'absorption ont montré que le NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* ont donné trois spectres : à 310 nm, 430 nm et 640 nm.

La Figure 11 présente le spectre DRX des nanoparticules de cuivre biosynthétisées à partir de *Kalanchoe pinnata*, révélant la cristallinité des particules et confirmant la présence de phases métalliques spécifiques identifiées par comparaison avec les bases de données ICDD-PDF.

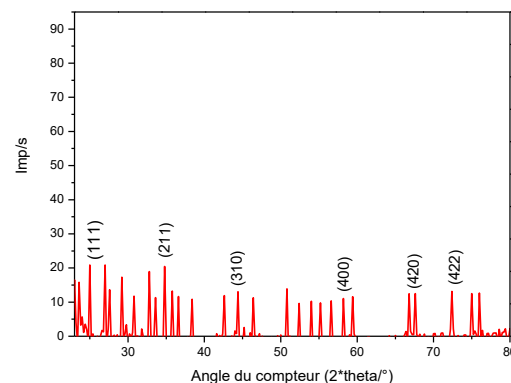


Figure 11 : spectre de la diffraction X des nanoparticules de Cu-*Kalanchoe pinnata*

Cette figure nous montre les différents spectres identifiés après la diffraction X des nanoparticules de cuivre dérivées des extraits de *Kalanchoe pinnata*. Il ressort de ces résultats que ces molécules identifiées dépendent des angles 2 theta.

Le Tableau 2 présente les différentes phases cristallines détectées dans les nanoparticules biosynthétisées à partir de

Kalanchoe pinnata, ainsi que leur quantification semi-quantitative selon les données de la base ICDD-PDF, confirmant la nature cristalline et la composition des nanomatériaux obtenus.

Tableau 2 : Phases cristallines identifiées et quantification semi-quantitative par DRX (ICDD-PDF) des nanoparticules biosynthétisées à partir de *Kalanchoe pinnata*

Score	Compound name	Chemical formula	Scale factor	Semi-quant [%]
6	Poly[tetraaqua(μ~8~-butane-1,2,3,4-tetracarboxylato)distrontium]	Sr ₄ O ₂₄ H ₂₈ C ₁₆	1,043	12
11	7056890	Se ₈ N ₂₄ C ₅₆ O ₈ H ₆₄	0,676	7
13	4301897	Fe ₄ Cu ₈ Cl ₁₆ N ₃₂ C ₉₆ H ₆₄	0,506	10
5	7106873	Ag ₂ N ₁₀ C ₃₂ H ₂₈ O ₁₀	0,441	7
8	Poly[diacubis(μ~7~-benzene-1,3,5-tricarboxylato)dicalcium(II)copper(II)]	Ca ₂ Cu O ₁₄ C ₁₈ H ₁₀	0,300	7
12	Dipotassium aquabis cuprate(II) hexahydrate	Cu ₂ K ₄ N ₈ C ₂₄ H ₃₆ O ₃₀	0,312	6
9	Diaquabis(2-oxo-2<i>H</i>-chromene-3-carboxylato-λ ² <i>O</i>^2)manganese(II)	Mn O ₁₀ H ₁₄ C ₂₀	0,736	16
11	4303065	V ₄ C ₃₂ H ₈₈ O ₄₄ N ₄	0,718	10
8	4081964	P ₄ H ₂₀ O ₄ C ₂₀	0,739	13
14	7211576	Cu ₄ V ₄ P ₄ O ₂₂ N ₈ C ₆₀ H ₄₀	0,505	9
5	4000641	Mg ₄ O ₂₄ N ₈ F ₇₂ C ₁₀₀ H ₁₀₈	0,076	4

Légende : Tableau présentant les phases cristallines identifiées par diffraction des rayons X à l'aide de la base ICDD-PDF et leur contribution relative (%) dans l'échantillon. Les résultats mettent en évidence la nature multiphasique des nanoparticules biosynthétisées à partir de *Kalanchoe pinnata*, avec une prédominance de complexes de manganèse, de composés phosphorés et de strontium, ainsi que la présence de plusieurs phases hybrides contenant du cuivre.

La Figure 12 illustre le spectre de fluorescence X des NPs-Cu dérivées de *Kalanchoe*.

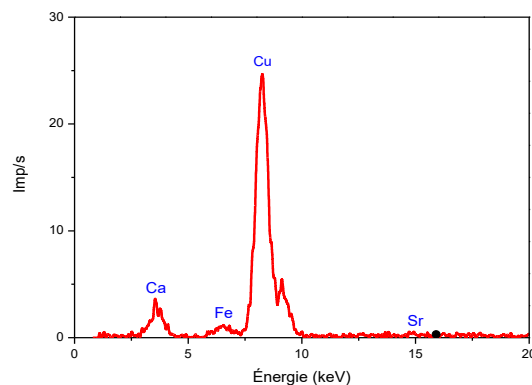


Figure 12 : Fluorescence au rayon X des NPs-Cu dérivées de *Kalanchoe pinnata*

Les résultats de cette figure ont montré que ces NPs-Cu dérivées de *Kalanchoe pinnata* contiennent des composés sous forme métallique à savoir Cu, Ca, Fe, Sr et d'autres en plus petites quantités.

III.3. Screening chimique

Le Tableau 3 présente le profil phytochimique des extraits aqueux de *Kalanchoe pinnata*,

Tableau 3 : Screening phytochimique des extraits aqueux de *Kalanchoe pinnata*

Métabolites secondaires	Test
Polyphénols	○ Polyphénols totaux ○ Flavonoïdes ○ Tanins ○ Quinones ○ Anthocyanes
Terpenoïdes	Positif
Saponines	Positif

Les résultats obtenus ont montré la présence de des trois métabolites secondaires : les polyphénols, les terpenoïdes et les saponines. Le test des anthocyanes a été négatif.

III.4. Activité antibactérienne

III.4.1. Antibiotogramme par la méthode de diffusion

Le Tableau 4 présente les diamètres moyens des zones d'inhibition mesurés pour les NPs-Cu dérivées de *Kalanchoe pinnata*, mettant en évidence leur activité antibactérienne variable selon les souches testées

Tableau 4 : Diamètre d'inhibition des NPs-Cu dérivées de *Kalanchoe pinnata*

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)					
	1000 µg/ mL	500 µg/ mL	400 µg/ mL	300 µg/ mL	200 µg/ MI	100 µg/ mL
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter sp</i>	0	0	0	0	0	0

Il ressort de ces résultats obtenus que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter sp* ont été résistants aux extraits de NPs-Cu dérivés des *Kalanchoe pinnata*.

Les Tableaux 5, 6 et 7 présentent respectivement les diamètres moyens des zones d'inhibition des différents disques d'antibiotiques testés.

Tableau 5 : Diamètre d'inhibition de ciprofloxacine 500 mg

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)			
	1000 µg/mL	500 µg/mL	100 µg/mL	CIP/NPs (75/25)
<i>Escherichia coli</i>	20	20	14	22
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	20	15	21
<i>Enterobacter sp</i>	11	11	8	8

Les résultats obtenus dans ce tableau 6 ont montré que la ciprofloxacine à 1000µg/mL et 500 µg/mL ont donné une zone d'inhibition de 20 mm et le mélange CIP-NPs 22 mm pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 6 : Diamètre d'inhibition de tétracycline 250 mg

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)			
	1000 µg/mL	500 µg/mL	100 µg/MI	TETRA /NPs (75/25)
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0
<i>Enterobacter sp</i>	8	7	6	9

Les résultats obtenus dans ce tableau 6 ont montré que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont été résistants à la tétracycline et au mélange Tetra-NPs. Et, *Enterobacter sp* ont été moins sensibles.

Tableau 7 : Diamètre d'inhibition des disques d'antibiotiques

Souches	Diamètre d'inhibition (mm)			
	CN	CIP	TETRA	CTX
<i>Escherichia coli</i>	29	17	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	20	5	0
<i>Enterobacter sp</i>	7	0	6	0
Sensibilité	≥ 15	≥ 31	≥ 22	≥ 26

Il ressort des résultats obtenus dans ce tableau 8 que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont été sensibles à la CN. Et, *Enterobacter sp* ont été résistants.

III.4.2. Détermination de la CMI par la méthode de dilution

Les Tableaux 8, 9 et 10 présentent respectivement les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits ou antibiotiques testés contre les souches de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter sp*.

Tableau 8 : Concentration minimale inhibitrices de la drogue vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli*

Droque	Concentration minimale inhibitrice (CMI, µg/mL)					
	1000	500	250	125	62,5	35,25
NPs Cu-K. <i>pinnata</i>						
CIP-NPs Cu-K. <i>pinnata</i>						CMI
TETRA-NPs Cu-K. <i>pinnata</i>	CMI					

Les résultats de ce tableau ont montré une CMI à 62,5 µg/mL pour les extraits de CIP-NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* et pour les extraits de TETRA-NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* une CMI à 1000 µg/mL. Le test du Khi-deux ($p > 0,05$) a montré aucune différence significative ($\chi^2 = 6$; ddl = 5 ; $p = 0,306$).

Tableau 9 : Concentration minimale inhibitrices de la drogue vis-à-vis des souches de *Klebsiella pneumoniae*

Droque	Concentration minimale inhibitrice (CMI, µg/mL)					
	1000	500	250	125	62,5	35,25
NPs Cu-K. <i>pinnata</i>						
CIP-NPs Cu-K. <i>pinnata</i>						CMI
TETRA-NPs Cu-K. <i>pinnata</i>	CMI					

Les résultats de ce tableau ont montré une CMI à 35,25 µg/mL pour les extraits de CIP-NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* et pour les extraits de TETRA-NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* une CMI à 1000 µg/MI.

Tableau 10 : Concentration minimale inhibitrice de la drogue vis-à-vis des souches d'*Enterobacter sp*

Drogue	Concentration minimale inhibitrice (CMI, $\mu\text{g/mL}$)					
	1000	500	250	125	62,5	35,25
NPs Cu-K. <i>pinnata</i>						
CIP-NPs Cu-K. <i>pinnata</i>			CMI			
TETRA-NPs Cu-K. <i>pinnata</i>	CMI					

Les résultats de ce tableau ont montré une CMI à 250 $\mu\text{g/mL}$ pour les extraits de CIP-NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* et pour les extraits de TETRA-NPs Cu-*Kalanchoe pinnata* une CMI à 1000 $\mu\text{g/mL}$.

IV. DISCUSSION

IV.1. Enquêtes épidémiologiques

Nos analyses n'ont montré globalement aucune association significative entre le sexe des patients et les types de bactéries isolées, ni avec leur profil de résistance, que ce soit mensuellement ou sur l'ensemble de la période étudiée. Les tests du Khi-deux ($p > 0,05$) et la régression logistique (OR proches de 1, non significatifs) indiquent que la répartition des souches bactériennes et leur résistance ne varient pas selon le sexe dans cet échantillon. Ces observations sont cohérentes avec la littérature : Flores-Mireles et al. (2015) ont montré que les infections urinaires chez l'homme et la femme sont dues aux mêmes agents pathogènes principaux (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. saprophyticus*), sans distinction qualitative selon le sexe, tandis que Zhan et al. (2024) soulignent que l'âge et la saison influencent davantage la distribution des pathogènes urinaires que le sexe. La prévalence plus élevée des infections urinaires chez les femmes découle surtout de facteurs anatomiques et comportementaux, sans impact marqué sur les espèces isolées, ce qui rejoint nos résultats. Cependant, certaines analyses révèlent des associations ponctuelles. Pour la céftazidime (CAZ), une différence significative est observée en janvier ($\chi^2 = 4,286$; $p = 0,038$), mais disparaît les mois suivants et en cumul. Le chloramphénicol (C) montre des écarts significatifs en janvier et février ($p < 0,05$), mais non confirmés en mars ni globalement. La ciprofloxacine (CIP) présente une association uniquement sur l'ensemble de la période ($\chi^2 = 6,355$; $p = 0,042$), suggérant un effet cumulatif. Enfin, la céfuroxime (CEF) révèle en mars une différence nette et hautement significative ($\chi^2 = 9,385$; $p = 0,002$), confirmée par le test exact de Fisher. Ces disparités, parfois marquées mais non persistantes, pourraient refléter des facteurs biologiques (réponse immunitaire, expression différentielle des gènes de résistance) ou sociaux et comportementaux (automédication, accès aux soins, rôles liés au genre).

Néanmoins, la robustesse statistique est limitée par la taille réduite de l'échantillon, la courte durée de collecte (trois mois) et la faible fréquence de certaines espèces. Ainsi, le sexe n'apparaît pas comme un facteur déterminant de la résistance bactérienne dans cet échantillon, mais il pourrait intervenir de manière contextuelle et spécifique selon l'antibiotique et la période. Des études sur de plus larges cohortes, intégrant des variables de confusion (âge, comorbidités, sévérité clinique), sont nécessaires pour confirmer ces tendances et adapter les stratégies thérapeutiques.

Notons que les résultats sur la RAB rejoignent ceux déjà décrits dans plusieurs études menées en RDC et ailleurs en Afrique subsaharienne, qui rapportent des taux très élevés de résistance aux pénicillines et au co-trimoxazole. De plus, la diminution d'efficacité des céphalosporines de troisième génération et l'émergence d'isolats producteurs de BLSE sont largement documentées, confirmant les tendances observées ici [19,29]. À l'inverse, l'activité encore conservée de la nitrofurantoïne, ainsi que celle des aminosides et de la ciprofloxacine, correspond à des observations similaires rapportées dans d'autres contextes africains [39]. L'automédication, l'accès facile aux antibiotiques sans ordonnance, l'usage empirique excessif de certaines molécules à l'hôpital, ainsi qu'un contrôle pharmaceutique limité sont autant de facteurs qui expliquent cette situation, déjà soulignés dans la littérature congolaise [18,29]. Au final, ces données confirment une tendance régionale : la perte d'efficacité des antibiotiques de première intention et la persistance relative de quelques options de seconde ligne. Elles appellent à une révision des protocoles locaux d'antibiothérapie empirique, à une surveillance accrue (y compris le dépistage des BLSE et carbapénémases) et à une mise en place effective de programmes de stewardship antimicrobien afin de ralentir la progression de la multirésistance.

IV.2. Caractérisation des nanoparticules

Le spectre UV-visible des nanoparticules de cuivre (NPs-Cu) synthétisées à partir de *Kalanchoe pinnata* présente un pic intense vers ~ 300 nm, correspondant à la résonance plasmonique de surface (SPR), signature caractéristique confirmant leur formation [15,20]. Des bandes secondaires apparaissent autour de 370 nm et 430 nm, attribuées respectivement aux transitions électroniques $\pi-\pi^*$ et $n-\pi^*$ des composés phénoliques et flavonoïdiques de la plante, jouant un rôle clé dans la réduction et la stabilisation des nanoparticules [33,38]. Une absorption résiduelle vers 600 nm suggère la présence d'agrégats ou d'interactions nanoparticule-matrice organique [17]. L'analyse par diffraction des rayons X (DRX) confirme la nature cristalline

des nanoparticules. Les pics observés aux angles $2\theta = 25^\circ$, 35° , 45° , $58,8^\circ$, $67,2^\circ$ et $72,2^\circ$ ont été indexés aux plans de Miller (111), (211), (310), (400), (420) et (422), en accord avec une structure cubique typiquement rapportée pour les oxydes de cuivre (CuO , Cu_2O). Le pic dominant sur le plan (111) reflète une orientation préférentielle de la croissance cristalline, phénomène fréquent dans les nanoparticules obtenues par phytosynthèse. La cristallinité observée traduit le rôle déterminant des métabolites secondaires (flavonoïdes, polyphénols, tanins) dans la réduction des ions Cu^{2+} et la stabilisation structurale des NPs. Ces observations rejoignent les résultats d'Alshammari, Mahmoud et al. (2023), Hamouda et al. (2023) et Todorova & Kosateva (2025), qui rapportent des structures similaires avec des tailles nanométriques et des plans cristallographiques caractéristiques des oxydes de cuivre. L'analyse semi-quantitative par DRX, basée sur la base de données ICDD-PDF (International Centre for Diffraction Data – Powder Diffraction File), révèle toutefois que les nanoparticules ne sont pas uniquement constituées de $\text{CuO}/\text{Cu}_2\text{O}$ purs, mais présentent une nature multiphasique et hétérogène. Plusieurs phases cristallines hybrides sont identifiées, incluant un complexe organométallique de manganèse ($\text{Mn O}_{10} \text{H}_{14} \text{C}_{20}$, 16 %), un composé phosphoré ($\text{P}_4 \text{H}_{20} \text{O}_4 \text{C}_{20}$, 13 %) et un polycomplexe de strontium ($\text{Sr}_4 \text{O}_{24} \text{H}_{28} \text{C}_{16}$, 12 %). Le cuivre est retrouvé sous différentes formes, en association avec le fer ($\text{Fe}_4 \text{Cu}_8 \text{Cl}_{16} \text{N}_{32} \text{C}_96 \text{H}_{64}$, 10 %), le calcium ($\text{Ca}_2 \text{Cu O}_{14} \text{C}_{18} \text{H}_{10}$, 7 %), le potassium ($\text{Cu}_2 \text{K}_4 \text{N}_8 \text{C}_{24} \text{H}_{36} \text{O}_{30}$, 6 %) et même des phases hybrides Cu-V-P ($\text{Cu}_4 \text{V}_4 \text{P}_4 \text{O}_{22} \text{N}_8 \text{C}_{60} \text{H}_{40}$, 9 %).

De façon inattendue, des traces de vanadium (10 %) et de sélénium (7 %) sont également détectées, probablement liées à l'absorption de microéléments par la plante ou à des correspondances issues de la base ICDD. Ainsi, la phytosynthèse par *K. pinnata* aboutit non pas à des nanoparticules de cuivre oxydé homogènes, mais à une matrice complexe de phases cristallines hybrides résultant de l'interaction des ions métalliques avec les métabolites secondaires.

Cette diversité structurale, bien documentée dans la littérature sur les synthèses vertes, confère aux nanoparticules des propriétés catalytiques, électroniques et biologiques renforcées. De telles caractéristiques ouvrent la voie à des applications variées en nanomédecine et en environnement, en particulier dans le domaine antimicrobien où leur efficacité a déjà été démontrée [37]. L'analyse par spectroscopie de fluorescence X des nanoparticules synthétisées à partir des extraits de *Kalanchoe pinnata* met en évidence plusieurs éléments caractéristiques. Le spectre présente un pic intense attribué au cuivre (Cu) à environ 8 keV, traduisant une forte abondance de ce métal dans l'échantillon. Ce résultat confirme la réduction efficace des ions Cu^{2+} issus du précurseur métallique et atteste de la

formation de nanoparticules de cuivre ou d'oxydes de cuivre. En complément, des signaux secondaires de calcium (Ca), de fer (Fe) et de strontium (Sr) ont été observés, bien que d'intensité relativement faible. Ces éléments peuvent provenir de la composition endogène de la plante. Leur présence pourrait influencer certaines propriétés physico-chimiques et biologiques des nanoparticules, notamment leurs activités catalytiques ou antimicrobiennes. Ces observations corroborent des travaux antérieurs indiquant que l'EDX est une technique fiable pour identifier les éléments constitutifs et confirmer la nature métallique des nanoparticules biosynthétisées [41]. Les NP présentent tous les avantages des suppléments minéraux conventionnels appliqués aux plantes, avec en plus la propriété de réduire la toxicité et une concentration d'application relativement faible. Un aspect important des perspectives d'utilisation des nanomatériaux réside également dans leur effet sur les micro-organismes [36].

IV.3. Screening phytochimique

Kalanchoe pinnata (Lam.) contient une large diversité de composés bioactifs, parmi lesquels des alcaloïdes, des triterpènes, des glycosides, des flavonoïdes, des stéroïdes, des bufadiénolides, des lipides et des acides organiques. Ces métabolites secondaires remplissent des fonctions physiologiques et biochimiques essentielles, contribuant à l'adaptation et à la survie de la plante face aux stress biotiques et abiotiques, et modulant ses interactions avec l'environnement. Les flavonoïdes, en particulier, jouent un rôle clé non seulement dans la croissance et le développement végétal, mais aussi dans la défense contre les pathogènes, la signalisation cellulaire et la communication avec d'autres organismes, renforçant ainsi la résilience écologique de la plante et sa capacité à s'adapter à des conditions environnementales variables [34]. Le dépistage chimique des principaux métabolites secondaires dans les extraits de *K. pinnata* montre la présence de polyphénols totaux, de flavonoïdes, de tanins, de quinones, de triterpènes et de saponines, tandis que les anthocyanes n'ont pas été détectés. La présence de ces composés, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et cytoprotectrices, suggère leur rôle potentiel dans la réduction et la stabilisation des nanoparticules de cuivre biosynthétisées. Les polyphénols et flavonoïdes, en particulier, participent à la capping des nanoparticules et à la prévention de leur agrégation, tandis que les tanins et les saponines peuvent renforcer la stabilité colloïdale et moduler l'interaction avec les membranes cellulaires lors d'activités antibactériennes. Cette composition phytochimique explique en partie l'efficacité biologique des extraits de *K. pinnata* et leur intérêt pour la synthèse verte de nanomatériaux fonctionnels.

IV.4. Activité antibactérienne

Les résultats d'antibiogramme par diffusion ont montré que les nanoparticules de cuivre issues de *Kalanchoe pinnata* n'étaient pas efficaces contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter sp.*, mais la méthode de dilution a révélé un potentiel synergique lorsqu'elles étaient combinées aux antibiotiques. En effet, les mélanges CIP–NPs (ciprofloxacine + NPs) ont généré des diamètres d'inhibition plus élevés, et les combinaisons avec la tétracycline ont montré des CMI comparables pour *E. coli*, *Enterobacter sp.* et *K. pneumoniae*, la plus faible étant observée chez *K. pneumoniae*. Cette synergie confirme que l'association NPs–antibiotiques réduit la probabilité d'apparition de résistances, car elle multiplie le nombre de mutations nécessaires [44]. Les nanoparticules exercent une action bactériostatique ou bactéricide via la libération d'ions Cu, la génération de ROS, l'endommagement de l'ADN et des protéines intracellulaires, ou encore des dommages mécaniques et photocatalytiques aux membranes [10,45]. Toutefois, contrairement à l'argent qui détruit directement la membrane externe, les composés Cu semblent cibler davantage des structures intracellulaires [46]. Ces propriétés ont été confirmées dans d'autres études, où des nanoparticules de cuivre biogéniques se sont révélées actives contre diverses bactéries et champignons [46]. Par ailleurs, la capacité d'*E. coli* à former des biofilms renforce sa résistance, notamment par l'expression de gènes comme *sfa* codant pour les fimbriae S, rendant les souches plus tolérantes à plusieurs antibiotiques [14,11,31]. Enfin, l'activité photodynamique (APD) des NPs Cu–*K. pinnata*, amplifiée par l'ajout du photosensibilisateur 5-bromo-2-nitrovanilline, repose sur la génération de ROS (1O_2 , O_2^- , OH^\bullet) induisant la mort bactérienne, et se révèle particulièrement prometteuse contre *E. coli* exposé à la lumière (24,28). L'efficacité de l'APD dépend de la taille, morphologie, charge et composition des NPs, ainsi que de la durée et la longueur d'onde d'irradiation (12), et pourrait être renforcée par des approches combinées avec la photothermie [43]. Toutefois, les bactéries Gram– comme *E. coli* et *K. pneumoniae* demeurent plus résistantes à l'APD en raison de leur membrane externe épaisse, soulignant la nécessité de concevoir des sensibilisateurs spécifiques [25]. Les nanoparticules sont ainsi largement étudiées en raison de leurs propriétés antibactériennes, larvicides et catalytiques. Les recherches démontrent que les nanoparticules, qu'elles soient issues de diverses plantes ou de composites métalliques, peuvent inhiber la croissance bactérienne, exercer une activité larvicide, catalyser la dégradation de colorants organiques et présenter diverses activités biologiques prometteuses, mettant en évidence le potentiel considérable des nanomatériaux d'origine végétale pour des applications biotechnologiques variées [32,5,22,23].

V. CONCLUSION

Cette étude visait à évaluer le profil épidémiologique des résistances bactériennes aux antibiotiques et à caractériser les nanomatériaux biogéniques dérivés de *Kalanchoe pinnata*. Le sexe masculin était le plus représenté dans l'échantillon, et les bactéries les plus résistantes identifiées étaient *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter sp.* Les nanoparticules de cuivre biosynthétisées à partir de *K. pinnata* (NPs Cu–*Kalanchoe pinnata*) ont montré une efficacité limitée contre ces espèces lorsqu'évaluées par les méthodes classiques d'antibiogramme (diffusion et dilution), tandis que l'activité photodynamique a révélé une forte action antibactérienne sur *E. coli*, soulignant le potentiel des nanomatériaux combinés à la photothérapie. La gentamicine s'est révélée l'antibiotique le plus efficace parmi ceux testés. L'analyse par diffraction des rayons X a mis en évidence plusieurs composés, dont le complexe poly[diacubis(μ 7-benzene-1,3,5-tricarboxylato)dicalcium(II) copper(II)], confirmant la présence de cuivre et suggérant un rôle dans l'activité antibactérienne observée. Ces résultats mettent en évidence l'intérêt de poursuivre l'optimisation des nanoparticules, notamment en modulant leur taille, morphologie et charge de surface, et d'explorer les combinaisons avec des antibiotiques pour surmonter la résistance bactérienne, réduire la dose nécessaire d'antibiotiques et améliorer la spécificité envers les pathogènes. Par ailleurs, il est recommandé de renforcer la surveillance épidémiologique locale des bactéries multirésistantes, de développer des formulations photodynamiques adaptées à un usage clinique et de poursuivre les études fondamentales sur les mécanismes d'action des nanoparticules, incluant leur internalisation, la libération d'ions cuivre et la génération de stress oxydatif, afin d'exploiter pleinement leur potentiel thérapeutique.

REFERENCES

1. Ahmad, N., Joji, R. M., & Shahid, M. (2022). Evolution and implementation of One Health to control the dissemination of antibiotic-resistant bacteria and resistance genes: A review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1065796.
2. Alshammari, S. O., Mahmoud, S. Y., & Farrag, E. S. (2023). Synthesis of green copper nanoparticles using medicinal plant *Krameria sp.* root extract and its applications. *Molecules*, 28(12), 4629.
3. Assis de Andrade, E., Machinski, I., Terso Ventura, A. C., Barr, S. A., Pereira, A. V., & Beltrame, F. L. (2023). A review of the popular uses, anatomical, chemical, and biological aspects of *Kalanchoe* (Crassulaceae): A genus of plants known as "Miracle Leaf." 28(14).

4. Basosila, N. B., Mukomena, E., Mbembo-Wa-Mbembo, B., Masengo, C. A., & Ngbolua, K.-T.-N. (2024). Efficacy of silver nanoparticles from *Jatropha curcas* leaf extracts against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. *Orapuh Journal*, 5(5), e1147. <https://doi.org/10.4314/orapi.v5i5.47>.
5. Basosila, N. B., Inkoto, C. L., Maganga, O. M., Mbembo, B., Kasiana, G. N., Kabengele, C., Falanga, C. M., Masengo, C. A., Mpiana, P. T., & Ngbolua, K.-T.-N. (2023). Biogenic synthesis, spectroscopic characterization and bioactivity of *Cymbopogon citratus* derived silver nanoparticles. *Journal of Advanced Science and Nanotechnology*, 3(4), 33–41. <https://doi.org/10.53293/jasn.2023.7012.1226>
6. Basosila, N. B., Mukomena, E., Mbembo-Wa-Mbembo, B., Masengo, C. A., & Ngbolua, K.-T.-N. (2024). Efficacy of silver nanoparticles from *Jatropha curcas* leaf extracts against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. *Orapuh Journal*, 5(5), e1147. <https://doi.org/10.4314/orapi.v5i5.47>
7. BENMALEK, K., & MEGHZILI, K. Etude de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries isolées de différents liquides de ponctions au niveau de l'hôpital pédiatrique El Mansourah Constantine.
8. Brown, A. N., Smith, K., Samuels, T. A., Lu, J., Obare, S. O., & Scott, M. E. (2012). Nanoparticles functionalized with ampicillin destroy multiple-antibiotic-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter aerogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2768–2774.
9. Bunduki, G. K., Katembo, J.-L. M., & Kamwira, I. S. (2020). Antimicrobial resistance in a war-torn country: Lessons learned in the Eastern Democratic Republic of the Congo. *One Health*, 9, 100120.
10. Das, S., Sinha, S., Das, B., Jayabalan, R., Suar, M., Mishra, A., Tamhankar, A. J., Stålsby Lundborg, C., & Tripathy, S. K. (2017). Disinfection of multidrug resistant *Escherichia coli* by solar-photocatalysis using Fe-doped ZnO nanoparticles. *Scientific Reports*, 7(1), 104.
11. Davari Abad, E., Khameneh, A., & Vahedi, L. (2019). Identification phenotypic and genotypic characterization of biofilm formation in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections and their antibiotics resistance. 12(1), 796.
12. Faundes-Gandolfo, N., Jara-Gutiérrez, C., Párraga, M., Montenegro, I., Vera, W., Escobar, M., Madrid, A., Valenzuela-Valderrama, M., & Villena, J. (2024). *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. leaf ethanolic extract exerts selective anticancer activity through ROS-induced apoptotic cell death in human cancer cell lines. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 269.
13. Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 269–284.
14. Fuzi, M., Szabo, D., & Cserecsik, R. (2017). Double-serine fluoroquinolone resistance mutations advance major international clones and lineages of various multi-drug resistant bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2261.
15. Gawande, M. B., Goswami, A., Felpin, F.-X., Asefa, T., Huang, X., Silva, R., Zou, X., Zboril, R., & Varma, R. S. (2016). Cu and Cu-based nanoparticles: Synthesis and applications in catalysis. *Chemical Reviews*, 116(6), 3722–3811.
16. Hamouda, R. A., Alharthi, M. A., & Alotaibi, A. S. (2023). Biogenic nanoparticles silver and copper and their composites derived from marine alga *Ulva lactuca*: Insight into the characterizations, antibacterial activity, and anti-biofilm formation. 28(17).
17. Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13(10), 2638–2650.
18. Ireng, L. M., Kaboru, J.-B., Buhendwa, J., Mbwele, B., Ilunga, M., & Gala, J.-L. (2014). Antimicrobial resistance in urinary isolates from inpatients and outpatients in Bukavu General Hospital, South-Kivu, Democratic Republic of Congo. *BMC Research Notes*, 7, 374. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-374>
19. Ireng, L. M., Kabego, L., Kinunu, F. B., Itongwa, M., Mitangala, P. N., & Gala, J.-L. (2015). Antimicrobial resistance of bacteria isolated from patients with bloodstream infections at a tertiary care hospital in the Democratic Republic of the Congo. *South African Medical Journal*, 105(9), 752–755. <https://doi.org/10.7196/SAMJnew.8189>
20. Kah, G., Chandran, R., & Abrahamse, H. (2023). Biogenic silver nanoparticles for targeted cancer therapy and enhancing photodynamic therapy. *Cells*, 12(15), 2012.

21. Karunakaran, G., & Sudha, K. G. (2023). Biosynthesis of nanoparticles from various biological sources and its biomedical applications. 28(11).
22. Kabengele, C. N., Kasiama, G. N., Ngoyi, E. M., Inkoto, C. L., Bete, J. M., Babady, P. B., Tshibangu, D. S. T., Tshilanda, D. D., Kalele, H. M., Mpiana, P. T., & Ngbolua, K.-T.-N. (2023). Biogenic synthesis, characterization and effects of Mn-CuO composite nanocatalysts on methylene blue photodegradation and human erythrocytes. *AIMS Materials Science*, 10(2), 356–369. <https://doi.org/10.3934/matersci.2023019>
23. Kasiama, G. N., Kabengele, C. N., Kilembe, J. T., Kitadi, J. M., Mifundu, M., Ngbolua, J. P., Tshibangu, D. S. T., Tshilanda, D. D., & Tshimankinda, P. T. (2023). Green synthesis, characterization and evaluation of biological activities of Ag-MnO nanocomposites from *Cytarantus congolensis*. *Diyala Journal of Engineering Sciences*, 16(3), 24–36. <https://doi.org/10.24237/djes.2023.16303>
24. Khan, I., Khan, I., Usman, M., Imran, M., & Saeed, K. (2020). Nanoclay-mediated photocatalytic activity enhancement of copper oxide nanoparticles for enhanced methyl orange photodegradation. *Journal of Materials in Electronics*, 31(11), 8971–8985.
25. Klausen, M., & Ucuncu, M. (2020). Design of photosensitizing agents for targeted antimicrobial photodynamic therapy. 25(22).
26. Lai, C. K. C., Ng, R. W. Y., Leung, S. S. Y., Hui, M., & Ip, M. (2022). Overcoming the rising incidence and evolving mechanisms of antibiotic resistance by novel drug delivery approaches – An overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 181, 114078.
27. Li, B., Liao, Y., Su, X., Chen, S., Wang, X., Shen, B., Song, H., & Yue, P. (2023). Powering mesoporous silica nanoparticles into bioactive nanoplateforms for antibacterial therapies: Strategies and challenges. *Journal of Nanobiotechnology*, 21(1), 325.
28. Lucky, S. S., Soo, K. C., & Zhang, Y. (2015). Nanoparticles in photodynamic therapy. *Chemical Reviews*, 115(4), 1990–2042.
29. Lupande-Mwenebitu, D., Kalonda, A., Kayembe, J., Kazadi, T., & Ceysens, P.-J. (2020). Current status of resistance to antibiotics in the Democratic Republic of Congo: A review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.03.016>
30. Majoumou, M. S., & Sharma, J. R. (2020). Synthesis of biogenic gold nanoparticles from *Terminalia mantaly* extracts and the evaluation of their in vitro cytotoxic effects in cancer cells. 25(19).
31. Nasrollahian, S., Graham, J. P., & Halaji, M. (2024). A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1387497.
32. Ngbolua, K.-T.-N., Bongo, G. N., Domondo, A., Nsimba, B., Iteku, J., Lengbiye, E., Ashande, C., Claudine, T., Inkoto, C., Lufuluabo, L., Kilunga, P., Gafuene, G., Mulaji, C., Mbemba, T., Poté, J., & Mpiana, P. T. (2018). Synthesis and bioactivity of silver nanoparticles against bacteria (*E. coli* and *Enterococcus sp.*) isolated from Kalamu River, Kinshasa City, Democratic Republic of the Congo. *Frontiers in Environmental Microbiology*, 4(1), 29–40. <https://doi.org/10.11648/j.fem.20180401.15>
33. Ovais, M., Khalil, A. T., Raza, A., Islam, N. U., Ayaz, M., Saravanan, M., Ali, M., Ahmad, I., Shahid, M., & Shinwari, Z. K. (2018). Multifunctional theranostic applications of biocompatible green-synthesized colloidal nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(10), 4393–4408.
34. Pan, C., Wang, X., Xie, Y., Wei, C., Sun, X., Zhang, S., Yu, X., Chen, X., Chen, X., Tuo, C., Pan, J., Fang, Z., & Chen, J. (2024). Involvement of UDP-glycosyltransferase of *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers in quercitrin biosynthesis and consequent antioxidant defense. *Plant Physiology and Biochemistry*, 217, 109274.
35. Partridge, S. R., Kwong, S. M., Firth, N., & Jensen, S. O. (2018). Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(4).
36. Perfilova, A. I., Sukhov, B. G., Kon'kova, T. V., Strekalovskaya, E. I., & Krutovsky, K. V. (2025). Diversity of copper-containing nanoparticles and their influence on plant growth and development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 220, 109575.
37. Rispoli, F., Angelov, A., Badia, D., Kumar, A., Seal, S., & Shah, V. (2010). Understanding the toxicity of aggregated zero valent copper nanoparticles against *Escherichia coli*. *Journal of Hazardous Materials*, 180(1–3), 212–216.
38. Sharma, D., Kanchi, S., & Bisetty, K. (2019). Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 3576–3600.

39. Silago, V., Moremi, N., Mtebe, M., Komba, E., Masoud, S., Mgaya, F. X., Mirambo, M. M., Nyawale, H. A., Mshana, S. E., & Matee, M. I. (2022). Multidrug-resistant uropathogens causing community-acquired urinary tract infections among patients attending health facilities in Mwanza and Dar es Salaam, Tanzania. *Antibiotics*, 11(12), 1718. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121718>
40. Uddin, T. M., A. J. Chakraborty, A. Khusro, B. R. M. Zidan, S. Mitra, T. B. Emran, K. Dhama, M. K. H. Ripon, M. Gajdacs and M. U. K. Sahibzada (2021). "Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects." *Journal of infection and public health* 14(12): 1750-1766.
41. Yazdani, M., P. Rostamzadeh, M. Rahbar, M. Alam, K. Abbasi, E. Tahmasebi, H. Tebyaniyan, R. Ranjbar, A. Seifalian and A. Yazdani (2022). "The potential application of green-synthesized metal nanoparticles in dentistry: A comprehensive review." *Bioinorganic Chemistry and Applications* 2022(1): 2311910.
42. GOLDSTEIN, Joseph I., NEWBURY, Dale E., MICHAEL, Joseph R., et al. Qualitative elemental analysis by energy dispersive X-ray spectrometry. In : Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. New York, NY : Springer New York, 2017. p. 265-287.
43. SONGCA, Sandile Phinda et ADJEI, Yaw. Applications of antimicrobial photodynamic therapy against bacterial biofilms. *International journal of molecular sciences*, 2022, vol. 23, no 6, p. 3209.
44. Brown, A. N., K. Smith, T. A. Samuels, J. Lu, S. O. Obare and M. E. Scott (2012). "Nanoparticles functionalized with ampicillin destroy multiple-antibiotic-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter aerogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*." *Appl Environ Microbiol* 78(8): 2768-2774
45. Yu, Z., Q. Li, J. Wang, Y. Yu, Y. Wang and Q. Zhou (2020). "Reactive Oxygen Species-Related Nanoparticle Toxicity in the Biomedical Field." 15(1): 115.
46. Vasiliev, G., A. L. Kubo, H. Vija, A. Kahru, D. Bondar, Y. Karpichev and O. Bondarenko (2023). "Synergistic antibacterial effect of copper and silver nanoparticles and their mechanism of action." *Sci Rep* 13(1): 9202.
47. Zhao, H., H. Su, A. Ahmeda, Y. Sun, Z. Li, M. M. Zangeneh, M. Nowrozi, A. Zangeneh and R. Moradi (2022). "Biosynthesis of copper nanoparticles using *Allium eriophyllum* Boiss leaf aqueous extract; characterization and analysis of their antimicrobial and cutaneous wound-healing potentials." *Applied Organometallic Chemistry* 36(12): e5587.