

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT : DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire de
MASTER ACADEMIQUE
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Science Biologique
Spécialité : microbiologie appliquée

Thème

**Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) et
leur activité antibactérienne**

Présenté par :

BAASSI Salsabil et CHAROUILI Safa

Soutenu publiquement

Le : 20/06/2022

Devant le jury :

Mme	BELDI Nadia	MC(A)	Président	UKM Ouargla
M	HENNI Abdellah	MC(A)	Promoteur	UKM Ouargla
M	BOURICHA M'hamed	MC(B)	Co-Promoteur	UKM Ouargla
M	BELKHALFA Hakim	MR(A)	Examineur	CRAPC

Année Universitaire : 2021/2022

Dédicace

Je dédie ce travail : À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de notre vie scolaire et universitaire. Que DIEU tout puissant vous donne longue vie, santé et bonheur.

À ma chère prière sœur Tasnim, que Dieu ait pitié de vous et que ce travail soit une pour votre âme. À mes chères sœurs, AICHA, FATIMA EL ZAHRA, ZAINEB, HANANE Pour leur soutien et leur amour illimité.

Et pour la famille, merci infiniment pour votre présence, vos conseils ainsi que votre aide morale. Surtout ma chère grand-mère charifa et ma tante Aisha, ma tante Ilham, Ikram, habiba, Maria, chaima Sawsen, Dorsaf, Salsabil et Houria

À mon cher binôme, Safa

À mes chers amis et collègues, qui aidez-nous à combler les difficultés que nous avons rencontrées au cours de ce travail. Surtout Meryem, Nour El Imane, Amina, Fadila, Yamina, Souhila, Wiam, Soumia, Anwar, Nour El-Houda, Randa et Rachid, merci pour ton courage, ton sourire, ton bonheur et tous les bons moments passés ensemble . Et tous ceux qui ont reçu de près ou de loin à ce travail.

Salsabil

Dédicace

À mes chers parents, ils qui m'a doté d'une éducation digne pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse. Que DIEU tout puissant vous donne longue vie, santé et bonheur.

À vous mes frères Abdel Rahman, Oussama, Moncef Houssain, Isllam et sœur Kawther qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Et pour la famille, merci infiniment pour votre présence, vos conseils ainsi que votre aide morale.

À mon fiancé qui m'a soutenu.

À ma chère binôme Salsabil.

À mes chers amis et collègues, qui aidez-nous à combler les difficultés que nous avons rencontrées au cours de ce travail. Surtout Meryem, Nour El Imane, Amina, Fadila, Yamina, Souhila, Wiam, Soumia, Anwar, Nour El-Houda, Randa et Rachid, merci pour ton courage, ton sourire, ton bonheur et tous les bons moments passés ensemble. Et tous ceux qui ont reçu de près ou de loin à ce travail

Safa

Remerciements

Tout au long de ce cycle universitaire après de gros efforts et de persévérance de la part de tous ceux qui nous ont accompagné, aidé, encouragé et encadré, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et remerciements à :

Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons particulièrement à adresser nos remerciements à Monsieur le Docteur HENNI Abdellah notre promoteur, pour avoir dirigé ce travail et accepter de nous encadrer, conseiller et de nous orienter dans cette démarche scientifique.

Nous tenons à remercier Monsieur le Docteur BOURICHA M'hamed notre Co encadreur pour nous aider dans la partie biologique de cette étude.

Nous remercions également Madame BELDI Nadia d'avoir Accepté la présider le jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers Monsieur le Docteur BELKHALFA Hakim d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nos remerciements vont aussi à tous les membres de l'équipe de laboratoire CRAPC de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, de nous avoir accueillis au sein du laboratoire.

Liste des tableaux

Tableau I:1: Comparaison entre la synthèse biologique et la synthèse physico-chimique	6
Tableau I:2: la synthèse des AgNPs à l'aide des bactéries.....	7
Tableau II:1: Généralités sur les souches bactériennes utilisées.....	15
Tableau II:2: Généralités sur les bactéries utilisées pour l'activité anti bactériennes.	20
Tableau II:3: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	21
Tableau III.1: Mesures des zones d'inhibition pour l'activité antibactérienne.	26

Liste des figures

Figure I-1 : Classifications des nanomatériaux (a) 0D sphères et clusters, (b) 1D nano fibres, fils et tiges, (c) 2D films, plates, et réseaux, (d) 3D nanomatériaux	4
Figure I-2 : Mécanismes d'action supposés des nanoparticules	10
Figure I-3 : Les mécanismes possibles des AgNPs à induire une cytotoxicité dans les lignées cellulaires cancéreuses	12
Figure II-1 : Etapes de synthèse de nanoparticules d'argent	17
Figure II-2 :Les étapes de Rinçage et Séchage de nanoparticules d'argent.....	18
Figure II-3 : Etapes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.....	21
Figure III-1 : les masses des nanoparticules d'argent obtenue.	23
Figure III-2 :Spectre UV-visible de nanoparticules d'argent synthétisées par A : <i>Escherichia coli</i> , B : <i>Bacillus subtilis</i> , C : <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24
Figure III-3 : Spectre ATR-FTIR de nanoparticules d'argent bio synthétisées à l'aide de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
Figure III-4 : Image MEB d'AgNPs synthétisée par <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
Figure III-5 : Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisée par <i>Escherichia coli</i> contre (A) <i>E coli</i> , (B) <i>S. enterica</i>	27
Figure III-6 : Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisée par <i>Bacillus subtilis</i> contre(A). <i>S. aureus</i> , (B) <i>S. enterica</i>	27
Figure III-7 : Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisée par <i>Saccharomyces cerevisiae</i> contre (A) <i>P. aeruginosa</i> , (B) <i>E. coli</i>	27
Figure III-8 : les zones d'inhibition d'AgNPs synthétisée par <i>Escherichia coli</i> avec des différentes concentrations contre différentes bactéries pathogènes.	28
Figure III-9 : Les zones d'inhibition d'AgNPs synthétisée par <i>Bacillus subtilis</i> avec différentes concentrations contre différentes bactéries pathogènes.	28
Figure III-10 : Les zones d'inhibition d'AgNPs synthétisée par <i>Saccharomyces cerevisiae</i> avec différentes concentrations contre différentes bactéries pathogènes.	29

Table de matières

Dédicace	
Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction :.....	1
chapitre I Synthèse Bibliographique	4
I.1 Généralité sur les nanoparticules	4
I.2 Classification des nanoparticules	4
I.2.1 Les nanoparticules inorganiques	5
I.2.1.1 À base de métal	5
I.2.1.2 À base d'oxydes métalliques	5
I.3 Synthèse des nanoparticules	5
I.3.1 Méthode physique et chimique	5
I.3.2 Méthode biologique.....	6
I.3.2.1 Biosynthèse des nanoparticules par des bactéries	6
I.3.2.1.1 Biosynthèse extracellulaire.....	7
I.3.2.1.2 Biosynthèse intracellulaire	7
I.3.2.2 Biosynthèse des nanoparticules par des levures.....	8
I.4 Applications des nanoparticules	8
I.4.1 Effets antimicrobiens des nanoparticules	8
I.4.1.1 Effets antibactériens des nanoparticules	8
I.4.1.1.1 Mécanismes antibactériens des AgNPs	9
I.4.1.2 Effets antifongiques des nanoparticules	10
I.4.2 Activités antioxydants des nanoparticules.....	8
I.4.3 Toxicité des nanoparticules.....	8
I.4.4 Effets photo catalytique des nanoparticules	12

chapitre II Matériels et méthodes	14
II.1 Objectif	Erreur ! Signet non défini.
II.2 Matériel biologique	15
II.2.1 Origine de souches utilisées	15
II.2.2 Caractéristiques des souches utilisées	15
II.3 Méthodes	16
II.3.1 Préparation de culture bactérienne	16
<i>II.3.1.1 Conservation des souches étudiées</i>	16
<i>II.3.1.2 Ensemencement des souches conservées</i>	16
II.3.2 Préparation des suspensions microbiennes	16
<i>II.3.2.1 Préparation des suspensions bactériennes</i>	16
<i>II.3.2.2 Préparation d'une suspension de levure (Saccharomyces cerevisiae)</i>	16
II.3.3 Biosynthèse des nanoparticules d'argent	16
II.3.4 Rinçage et séchage des solutions d'AgNPs	17
II.3.5 Caractérisation des nanoparticules d'AgNPs	18
<i>II.3.5.1 Spectrophotomètre UV-visible</i>	18
<i>II.3.5.2 Microscope électronique à balayage (MEB)</i>	19
<i>II.3.5.3 Analyse par spectroscopie réflectance totale atténuée (ATR-FTIR)</i>	19
II.3.6 Evaluation de l'activité antibactérienne	19
chapitre III Résultats et discussions	22
III.1 biosynthèse des nanoparticules d'argent	23
III.2 Rendement des poudres d'AgNPs	23
III.3 Caractérisation d'AgNPs	23
III.3.1 Analyse UV- visible d'AgNPs	23
III.3.2 Analyse par spectroscopie réflectance totale atténuée (ATR-FTIR)	24
III.3.3 Caractérisation par microscope électronique à balayage MEB et EDX	25
III.4 Évaluation de l'activité antibactérienne	26

Conclusion.....	33
Références	34
Annexe	
Résumé	

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Argent
Ag⁺	Ion d'argent
AgNO₃	Nitrate d'argent
AgNPs	Nanoparticules d'argent
ATP	Adénosine triphosphate
Au	Or
CeO₂	L'oxyde de cérium
CuO	D'oxyde de cuivre
CuO-NPs	Nanoparticules d'oxyde de cuivre
FeNPs	Nanoparticules de fer
Fe₂O₃	L'oxyde de fer
Fe₃O₄	La magnétite
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
ATR-FTIR	Analyse par spectroscopie réflectance totale atténuée
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
MEB	Microscopie électronique à balayage
MtNPs	Nanoparticules métalliques
NPs	Nanoparticules
pH	Potentiel d'Hydrogène
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SiO₂	Le dioxyde de silicium
TiO₂	L'oxyde de titane
TiO₂NPs	Nanoparticules l'oxyde de titane
UV	Ultra-violet
UV - vis	Ultraviolet visible spectromètre
ZnO	Oxyde de zinc
ZnO	l'oxyde de zinc
ZnO-NPs	Nanoparticules d'oxyde de zinc

Introduction

Introduction

Introduction :

La nanotechnologie est un domaine en développement rapide en raison de son large éventail d'applications dans divers domaines de la technologie et de la science. (Heiligtag et al .2013) Les composants de base de la nanotechnologie sont les nanoparticules. Les nanoparticules sont des particules dont la taille varie de 1 à 100 nanomètres et se composent de carbone, métal, oxydes métalliques ou matière organique (Hasan et al. 2015).

Les nanoparticules métalliques ont été étudiées en raison de leurs propriétés physiques et chimiques uniques contrôlées par leur taille et leur forme, Il existe divers procédés de production de nanoparticules tels que chimiques, physiques et biologiques. Les techniques conventionnelles de la synthèse chimique et physique impliquent habituellement l'utilisation des produits chimiques toxiques, un coût élevé et des appareils complexes. Par contre, la synthèse écologique des nanoparticules par des entités biologiques telles que les plantes, les algues, les bactéries (Deli et al.2016), les champignons, est considérée comme une nouvelle alternative simple, rapide, économique et écologique (Rai et al., 2012). La synthèse biogénique peut également produire de grandes quantités de nanoparticules qui sont exemptes de contamination et ont une taille et une morphologie bien définies (Bonnia et al .2016). En raison des propriétés des nanoparticules métalliques et des oxydes métalliques, leurs applications se développent rapidement sur divers domaines comme biomédical, pharmaceutique, catalyse, administration de médicaments, agro-alimentaire et antimicrobien, etc (Ahmed et. Ikram.2015).

Parmi ces nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont attiré l'attention en raison de ses propriétés telles que la non-toxicité, son faible coût, sa disponibilité et son absorption optique importante dans le domaine visible et ultraviolet (Quelemes et al. 2013). La production de nanoparticules métalliques par les bactéries et levures est l'une des plus réussies stratégies car elles peuvent s'adapter à diverses conditions, croissance rapide et peu coûteuses (Tsai et al .2014). L'objectif global de ce travail est d'étudier la possibilité de synthèse de nanoparticules d'argent à travers la voie verte, simple, rapide et propre vis-à-vis de l'environnement et du manipulateur. Pour répondre à ces critères, nous avons choisi de synthétiser les NPs d'Ag à l'aide des bactéries et levures pour application antimicrobienne. Le mémoire décrivant ce travail est entamé par cette introduction générale qui donne une idée sur l'importance de synthèse des nanoparticules et permet d'atteindre l'objectif visé. Donc nos objectifs seront :

- Biosynthétiser des nanoparticules d'argent.

Introduction

- Caractérisation de ces nanoparticules par, UV visible, ATR FTIR et MEB.
- Tester l'activité antibactériennes.

Afin de réaliser nos objectifs ,nous avons diviser le travail en 3chapitre.

Le chapitre I est consacré à une étude bibliographique sur nanotechnologies, et nanoparticules métalliques et plus particulièrement les nanoparticules d'argent, où nous avons présenté une synthèse sur les nanoparticules.

Le chapitre II traite les méthodes expérimentales utilisées pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir des deux bactéries pathogènes et une levure. Ainsi que les techniques de caractérisation utilisées.

Le chapitre trois présente l'ensemble des résultats obtenus de notre travail ainsi que leurs discussions. Nous terminons par une conclusion générale où sont résumés les principaux résultats de ce travail.

Synthèse Bibliographique

chapitre I Synthèse Bibliographique

I.1 Généralité sur les nanoparticules

Généralement, les nanoparticules (NPs) sont des particules dont le diamètre est compris entre 1 et 100 nm ($\leq 0,1 \mu\text{m}$) et dont les propriétés uniques dépendent principalement de leur taille. (Blanco et al.2015). Les nanoparticules sont constituées des dizaines ou des centaines d'atomes ou de molécules, les nanoparticules peuvent avoir une variété de tailles et de morphologie telles qu'amorphe, cristalline, sphérique...etc. (Lee et al. 2014) (Figure I.1). Les nanoparticules ont des propriétés différentes par rapport au même matériau du fait que le rapport surface/volume des nanoparticules augmente considérablement avec la diminution de la taille des particules. En effet, aux dimensions nanométriques, la fraction de molécule de surface est sensiblement augmentée, ce qui améliore certaines propriétés des particules telles que le l'échange thermique, le transfert de masse, la vitesse de dissolution et l'activité catalytique. (Dizaj et al. 2014). Les nanoparticules métalliques telles que l'or, l'argent, le zinc, le titane, le fer et le cuivre ont acquis une considération colossale ces derniers temps en raison de leurs propriétés catalytiques, électroniques, magnétiques, chimiques, photo électrochimique et optiques uniques. (Hulkoti et al. 2014). Qui peuvent être appliqué dans plusieurs domaines tels que la biomédecine, la pharmacie, la catalyse, la délivrance de médicaments, les antimicrobiens, etc. (Ahmed et al. 2016).

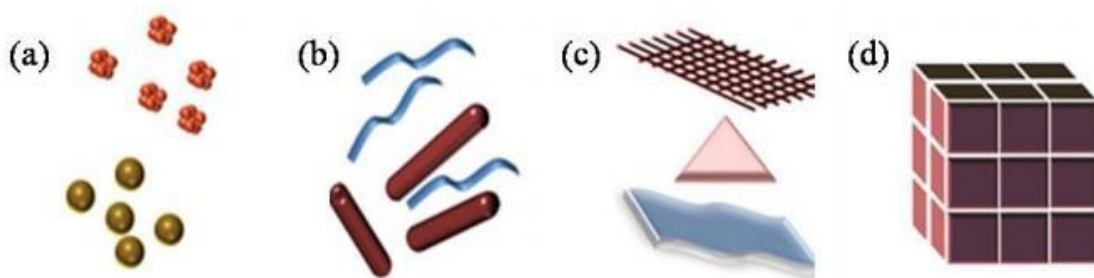


Figure I-1 : Classifications des nanomatériaux (a) 0D sphères et clusters, (b) 1D nano fibres, fils et tiges, (c) 2D filmes, plates, et réseaux, (d) 3D nanomatériaux (Singh et al. 2017).

I.2 Classification des nanoparticules

Les nanoparticules sont généralement classées comme organiques, inorganiques et à base de carbone.

I.2.1 Les nanoparticules inorganiques

I.2.1.1 À base de métal

Les nanoparticules synthétisées à partir des ions métalliques avec une taille nanométrique par des méthodes destructives ou constructives sont des nanoparticules à base de métal. La majorité des métaux peuvent être synthétisés en leurs nanoparticules. Les métaux couramment utilisés pour la synthèse des nanoparticules sont l'aluminium, le cadmium, le cobalt, le cuivre, l'or, le fer, l'argent et le zinc (Yadav et al. 2012).

I.2.1.2 À base d'oxydes métalliques

Les nanoparticules à base d'oxyde métallique sont synthétisées à base de leurs métaux respectives, par exemple les nanoparticules de fer sont immédiatement oxydées en oxyde de fer (Fe_2O_3) en présence d'oxygène à température ambiante. Les composés synthétiques couramment utilisés sont l'alumine (Al_2O_3), l'oxyde de cérium (CeO_2), l'oxyde de fer (Fe_2O_3), la magnétite (Fe_3O_4), le dioxyde de silicium (SiO_2), l'oxyde de titane (TiO_2) et l'oxyde de zinc (ZnO). Ces nanoparticules ont quelques propriétés supérieures par rapport aux nanoparticules métalliques (Ealia et Saravanakumar.2017).

I.3 Synthèse des nanoparticules

Les voies de NPs peuvent être divisées en trois groupes : méthode physiques, méthode chimique et méthode biologiques.

I.3.1 Méthode physique et chimique

La synthèse des nanoparticules métalliques est réalisée avec différentes techniques physiques, chimiques. Parmi les méthodes électro physiques très réussies pour la synthèse des nanoparticules, on compte la photo-irradiation, la radiolyse, les ultrasons, la vaporisation chimique et les méthodes chimiques. Cependant, les méthodes physiques ont un succès limité et, par conséquent, les méthodes sont largement acceptées et souvent utilisées pour la synthèse des nanoparticules inorganiques. Les nanoparticules oxydes métalliques peuvent être synthétisées par la voie chimique par la réduction ou l'oxydation des ions métalliques ou par la précipitation des ions précurseurs nécessaires en solution. Pour la synthèse des nanoparticules, on utilise soit des solvants organiques, soit de l'eau, en fonction de l'application ultime des nanoparticules. (Lampre et Remita.2021). Les méthodes physiques et chimiques sont plus courantes pour la synthèse des nanoparticules, mais les substances toxiques présentes dans les composés sont principalement utilisées pour leurs applications (Chokriwa et al. 2014).

I.3.2 Méthode biologique

Utilise des systèmes biologiques tels que des bactéries, des champignons, des levures, des actinomycètes et des extraits des plantes, etc. Pour la synthèse des NPs à base des métaux et d'oxydes métalliques (Dhand *et al.* 2015). Les méthodes biologiques sont des procédés sûrs, rentables, durables et respectueux de l'environnement pour la synthèse de nanoparticules (Chaudhari *et al.* 2012). Tableau I.1 présente la différence entre la synthèse biologique et la synthèse chimique et physiques. La capacité des micro-organismes à sécréter une grande quantité d'enzymes réductases, en fait un choix idéal pour la synthèse des NPs dans des tailles et des formes spécifiques. La synthèse des NPs peut être à la fois extracellulaire et intracellulaire en méthodologies (Akther *et al.* 2019)

Tableau I:1: Comparaison entre la synthèse biologique et la synthèse physico-chimique (Rafique *et al.* 2016).

Synthèse des nanoparticules		
Méthodes vertes	Méthodes chimiques	Méthodes physiques
- les microorganismes (bactéries, champignons et les levures) - les algues - les plants et leurs extraits.	-Méthode de précipitation -Réduction chimique des sels métalliques -Méthode électrochimique -Procédé sol-gel	-Lithographie par faisceau d'électrons -Implantation ionique -Condensation de gaz inerte -Meulage mécanique -Fraisage -Synthèse en phase vapeur
Non toxique	Toxique	

I.3.2.1 Biosynthèse des nanoparticules par des bactéries

Les bactéries possèdent une capacité unique à réduire les ions métalliques en nanoparticules, et sont l'un des candidats les plus appropriés pour la synthèse de nanoparticules en raison de leurs manipulations faciles, et leurs taux de croissance élevés. Contrairement à d'autres microbes, les bactéries peuvent être facilement moulées et manipulées génétiquement pour la bio minéralisation des ions métalliques (Gahlawat *et al.* 2019). La synthèse de NPs par les bactéries résulte d'une exposition à des substances toxiques par sécrétion de substances extracellulaires, ou peuvent être formées par voie enzymatique avec des enzymes extracellulaires ou intracellulaires, quelques recherches récentes sur la synthèse des AgNPs à l'aide des bactéries sont résumées dans le Tableau I. 2 (Patel *et al.* 2015).

Tableau I:2:la synthèse des AgNPs à l'aide des bactéries (Patel et al...2015).

Bactérie	Taille	Localisation	Références
<i>Actinobacteria</i>	5–50 nm	Intracellulaire	(Suman et al. 2014)
<i>Bacillus subtilis</i>	10-100nm	Extracellulaire	(Venkatesan et al. 2013)
<i>Escherichia coli</i>	10-100nm	Extracellulaire	(Ghorbani 2013)
<i>Lactobacillus spp.</i>	2–20nm	Extracellulaire et Intracellulaire	(Ranganath et al. 2012)
<i>Rhodococcus spp.</i>	5–50 nm	Intracellulaire	(Otari et al. 2015)

I.3.2.1.1 Biosynthèse extracellulaire

Les enzymes microbiennes extracellulaires sont connues pour agir comme agents réducteurs dans la production de NPs (Bose et al. 2016). D'autre étude montre que Les enzymes réductase, protéines, des acides aminés, polysaccharides sont responsable de la réduction des ions métalliques (Ag^+) en (Ag^0) (Sreedevi et al. 2015). Beaucoup d'autres facteurs, y compris la concentration des précurseurs, le pH, la température et la durée de la réaction sont des facteurs limitants contrôlant la taille des NPs. Les micro-organismes utilisent divers mécanismes pour la synthèse des NPs, y compris la solubilité, la bio sorption, la complexation des métaux, la précipitation extracellulaire et la toxicité via l'oxydoréduction (Patra et al. 2014).

I.3.2.1.2 Biosynthèse intracellulaire

Parmi les mécanismes de bio réduction des métaux des cellules bactériennes et fongiques, les enzymes intracellulaires capturent les ions métalliques du milieu, et les réduire à l'intérieur des cellules. Lorsqu'ils sont observés au microscope, les MtNPs s'accumulent dans l'espace périphérique, la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire, par exemple dans l'étude de Ovaise et al, il a été démontré que *Pseudomonas stutzeri* et *Bacillus* accumulent des AgNPs dans l'espace périphérique intracellulaire. (Ovaise et al. 2018). Cela est dû à la diffusion des métaux lorsque les ions traversent la membrane et que la réduction enzymatique conduit à la production de MtNPs. (Dothall et al. 2016).

I.3.2.2 Biosynthèse des nanoparticules par des levures

Il est facile d'utiliser la levure dans la production de nanoparticules métalliques car elle a une croissance rapide des souches de levure et une utilisation simple des nutriments pour la production de masse de nanoparticules métalliques. A cet effet, les souches de levure *Candida glabrata* et *Saccharomyces Pombe* ont été décrites pour produire des Nanoparticules d'argent, de sélénium, de titane et d'or. (Skalickova et al. 2017).

I.4 Applications des nanoparticules

Les nanoparticules synthétisées présentent des propriétés antimicrobiennes, antioxydants, antiviral, anticancéreux et propriétés photo catalytiques (Salunke et al. 2016). Les nanoparticules ont un large éventail d'applications, de la biomédecine à la nanoélectronique et l'ingénierie mécanique en raison de sa forme variable et diverses propriétés telles que la conductivité électronique et thermique (Sardoiwala et al. 2018).

I.4.1 Activités antioxydants des nanoparticules

Les antioxydants sont des substances naturelles ou synthétiques qui peuvent prévenir ou retarder les dommages cellulaires causés par les oxydants tel que les radicaux libres. (Bedlovičová, et al .2020). Le stress oxydatif est un phénomène qui peut être défini comme un état où l'équilibre entre la défense antioxydant des cellules et des oxydants est perturbée par l'effet d'un excès d'oxydants, la présence d'oxydants entraîne également des modifications oxydatives du système biologique. (Azeez et al. 2017). Les espèces réactives de l'oxygène représentent groupe le plus important d'oxydants contenant des radicaux (hydroxyle OH, ion super oxyde O_2^-) ainsi que les non-radicaux (peroxyde d'hydrogène, peroxydes organiques). (Li, Z et al .2015). Selon l'étude de Keshari et al, il a été constaté que les AgNPs contiennent des antioxydants en raison de présence de groupes fonctionnels à la surface des AgNPs et de leur petite taille, les résultats ont confirmé que les AgNPs contiennent 29,55% d'activité antioxydant et que la vitamine C contient que 24,28%. Cela confirme que les AgNPs ont une plus grande activité antioxydant par rapport à la vitamine C. (Keshari et al .2020).

I.4.2 Effets antimicrobiens des nanoparticules

I.4.2.1 Effets antibactériens des nanoparticules

Il existe un énorme besoin de nouveaux agents antimicrobiens pour détruire les micro-organismes pathogènes multi-résistants aux antibiotiques et aux médicaments. De nombreuses études ont démontré que les AgNPs ont des propriétés antimicrobiennes avec moins de résistance aux médicaments, une biodégradabilité et une biodisponibilité améliorées. Les

nanoparticules d'argent synthétisées à l'aide de *Bacillus brevis* présentent une excellente activité antibactérienne contre les souches multi résistantes de *Staphylococcus aureus* et de *Salmonella typhi* (Saravanan et al. 2018). Shah et al ont testé des nanoparticules d'argent contre deux Bactéries à gram positifs et deux Bactéries à gram négatif. Selon leurs résultats, les AgNPs ont un fort inhibiteur de croissance des bactéries de gram négatives. (Shah et al.2019). Dans une autre étude menée par Huq, et Akter, les AgNPs ont montré une forte activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*. De plus, les analyses des cellules traitées ont montré que les AgNPs bio synthétisés peuvent endommager la paroi cellulaire, détruire l'intégrité de la membrane et modifier la forme normale pour les deux agents pathogènes, ce qui conduit à la mort cellulaire (Huq et Akter. 2021). Azam et al. Ont étudié l'activité antibactérienne de CuO contre deux bactéries gram-positives (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) et deux bactéries Gram négatives (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Selon leurs résultats, les nanoparticules de CuO ont présenté une inhibition des deux groupes de bactéries ci-dessus. Les auteurs ont conclu que l'activité bactéricide de ces nanoparticules à une relation avec leur taille, leur stabilité et concentration. (Azamet al. 2012). Selon Annu et al, les nanoparticules de ZnO sont très efficaces contre divers types de bactéries et est hautement toxique contre les bactéries halophiles et mésophiles telles que *Enterobacteria sp*, *Bacillus subtilis* et *Marinobacter sp* (Annu et al. 2018). Grâce à l'étude Folorunso, les nanoparticules d'or étaient toxiques contre *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* à différentes concentrations, l'efficacité des nanoparticules augmentait avec l'augmentation de la concentration de nanoparticules d'or (Folorunso et al. 2019). Jagathesan et al ont confirmé que Fe NPs a une bonne activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* et *Escherichia coli* (Jagathesan et al. 2018).

I.4.2.1.1 Mécanismes antibactériens des AgNPs

La chose plus importante qui fournit des nanoparticules est leur mécanisme d'action, le mécanisme dépend principalement la taille, pH et la force ionique du milieu. Il y a trois mécanismes principaux sont supposés, à savoir : Formation d'espèces oxydants réactifs (ROS), suivis du processus de libération d'ions, et enfin de l'interaction des NP avec la membrane cellulaire (Ahmad et al. 2020). Comme représenté dans figure I.2.

Selon études précédentes, l'action antimicrobienne des AgNPs peut être classée en deux types : l'action inhibitrice et l'action bactéricide. Dans la première stratégie, les cellules bactériennes ne sont pas tuées mais leur division est empêchée, tandis que dans la dernière, les cellules bactériennes meurent en raison de l'action de l'AgNPs. Les cations Ag^+ produits interagissent avec la charge négative sur la paroi cellulaire, et affectent la perméabilité membranaire. Les

cations nano-argent qui ont une plus grande affinité envers les composés contenant du soufre et du phosphore présent dans la membrane externe, les enzymes respiratoires, les protéines et l'ADN, pénètrent à travers la paroi cellulaire et la membrane plasmique en les déstabilisant et provoquent la dénaturation des protéines, inhibition des voies respiratoires et déplétion intracellulaire en ATP (Srikar *et al.* 2016). Dans autre étude, il a été démontré que les ions Ag^+ interagissent avec l'ADN pour afficher une activité antibactérienne et modifier la perméabilité membranaire par libération des sucres, des protéines et des matières nucléaires à travers les membranes endommagées (Chouhan et Guleria. 2020).

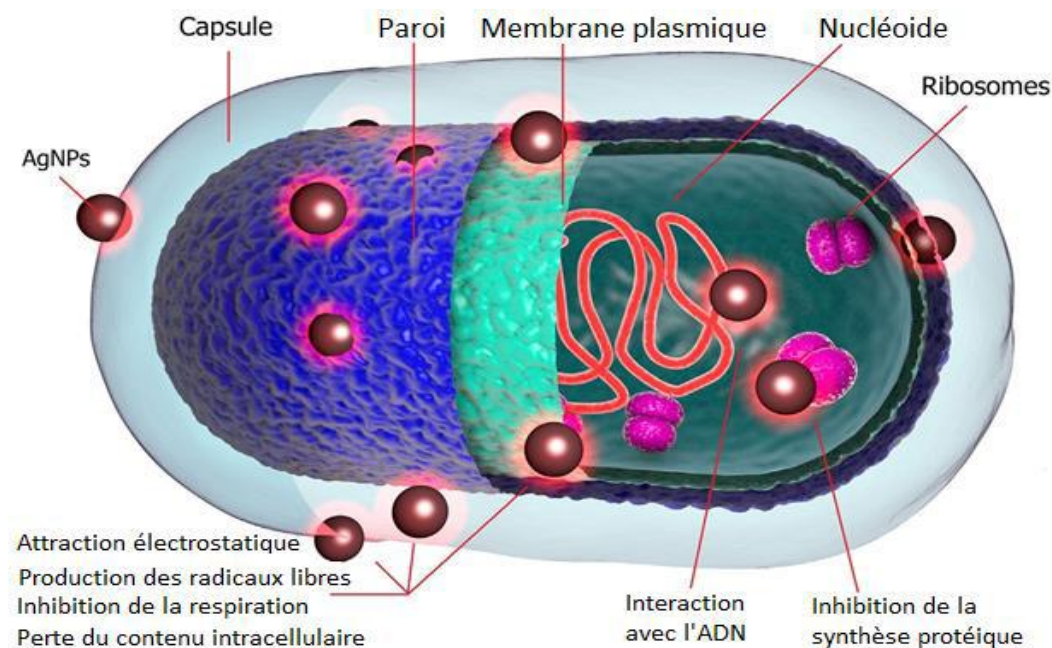


Figure I-2: Mécanismes d'action supposés des nanoparticules . (Rai *et al.* 2016)

I.4.2.2 Effets antifongiques des nanoparticules

Les résultats de Miri *et al.* ont montré que les effets antifongiques des ZnO-NPs peuvent être dus à leur attaque sur la membrane cellulaire, provoquant ses dommages et fuite de minéraux, de protéines et de matériel génétique. Ainsi, les activités antifongiques des ZnO-NPs dépendent de la dose, de sorte qu'une augmentation de concentration des ZnO-NPs entraîne une diminution de la croissance fongique (Miri *et al.* 2019). Dans l'étude d'Ahmed *et al.*, les nanoparticules d'oxyde de cuivre (CuO-NPs) ont montré une activité antifongique pour trois types de champignons phytopathogènes, à savoir : *Alternaria mali*, *Deluxeia seriata* et *Botryosphaeria dothidea* (Ahmad *et al.* 2020). Dans une étude de Dos *et al.* Les nanoparticules d'argent sont efficaces contre les champignons pathogènes pour l'homme, tels que *Phoma glomerata*, *P. herbarum*, *Fusarium semitectum* et *Trichoderma* (Dos *et al.* 2014).

D'autre part, Al-Zubaidi et al, a examiné l'effet antifongique des AgNPs contre les isolats fongiques *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Penicillin digitatum*, et ont constaté que les AgNPs inhibaient la croissance des champignons pathogènes. Ainsi, les AgNPs peuvent être considérés comme un excellent agent antifongique, ils sont susceptibles d'être largement utilisés dans des applications cliniques (Al-Zubaidi et al. 2019).

I.4.3 Toxicité des nanoparticules

L'étude de Grigore et al a montré que les nanoparticules d'oxyde de cuivre augmentaient les dommages aux mitochondries et à l'ADN, des tests en laboratoire ont révélé que la toxicité des CuONPs dépend de la taille et de la forme des particules et varie en fonction de l'état de différenciation des cellules (Grigore et al. 2016). Dans d'autre l'étude de Arias et al, montrant que les changements de taille et de forme des nanoparticules de fer jouent un rôle important dans la cytotoxicité, les FeNPs en forme de bâtonnet ou de taille nanométrique sont plus toxiques que ceux des particules en forme de billes et micrométriques. Les FeNPs chargés positivement se sont avérés plus toxiques que les FeNPs chargés négativement, car ils subissent des interactions non spécifiques (Arias et al. 2018). Dans l'étude de Cho et al, Les mécanismes moléculaires de la toxicité de l'AgNP ont été étudiés dans les cellules humaines de cancer. Les AgNPs d'un diamètre de 7,5 nm peut interagir avec les protéines membranaires, entraînant des dommages aux protéines et les acides nucléiques et finalement l'inhibition de la prolifération cellulaire. Ces résultats suggèrent que les AgNPs plus petits ont une toxicité aiguë plus élevée (Cho et al. 2018) Figure I.3 explique Les mécanismes possibles des AgNPs à induire une cytotoxicité dans les cellules cancéreuses, Les propriétés antiprolifératives des cellules cancéreuses sont dues à leur capacité à endommager l'ADN, à décomposer les chromosomes et à perturber l'homéostasie du calcium (Ca^{2+}), induisant ainsi l'apoptose et entraînant une instabilité du cytosquelette. Les dommages au cytosquelette bloquent le cycle et la division cellulaires, favorisant l'activité antiproliférative des cellules cancéreuses (Sang et Bong, 2019).

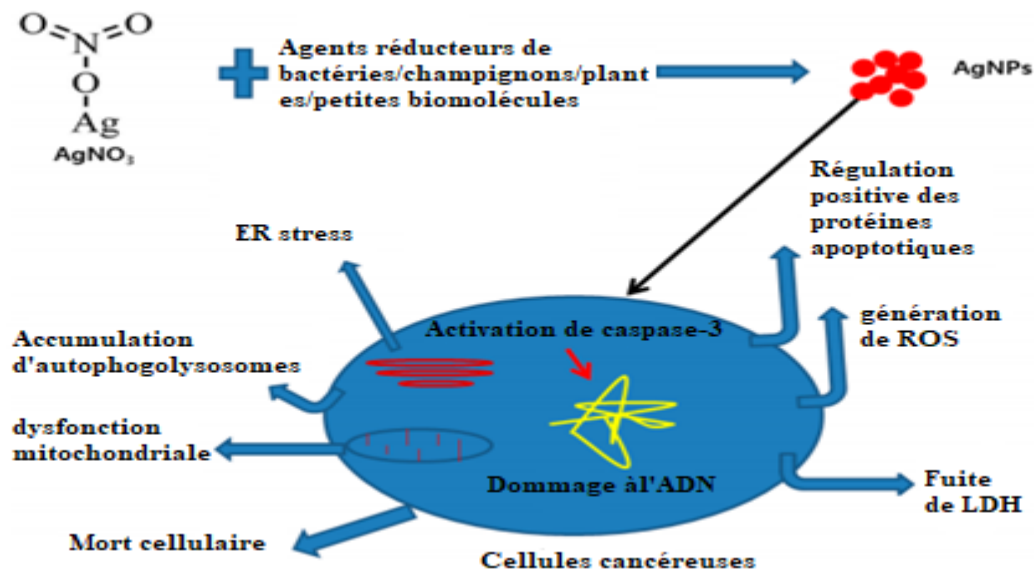


Figure I-3 : Les mécanismes possibles des AgNPs à induire une cytotoxicité dans les lignées cellulaires cancéreuses (Zhang et al., 2016).

I.4.4 Effets photo catalytique des nanoparticules

L'activité catalytique des nanoparticules de métaux et d'oxydes métalliques est un domaine de recherche important. Ainsi, l'activité catalytique de nanoparticules vertes de synthèse utilisées pour la dégradation de Colorants dangereux comme le rouge de méthyle, le bleu de méthylène, le colorant cristal violet, la safranine, le méthyle orange, etc. (Anupama et al .2017). Selon les résultats de Suresh et al, les photo catalyseur ZnO nanoparticule avec une taille de particule de 5 à 15 nm dégradent efficacement le colorant bleu de méthylène dans la présence de lumière solaire et d'éclairage UV (Suresh et al.2015). le TiO₂NPs a montré la meilleure activité photo catalytique contre le méthylène bleu, cristal violet, méthyl orange et rouge alizarine avec un pourcentage de décoloration de 86,79 %, 77,59 %, 69,09 % et 76,32 %, respectivement (Ganesan et al .2016) Radich et Kamat ont rapporté la décomposition photo catalytique de H₂O₂ ainsi que l'oxydation induite par les radicaux hydroxyles de l'oxyde de graphène réduit en présence d'or Nanoparticules (Radich et Kamat.2013) Selon l'étude de Sarathi et al, l'action photo catalytique des nanoparticules d'argent sur l'élimination de différents colorants a été testé sous la lumière directe du soleil. La dégradation l'action a été principalement diagnostiquée visuellement par une couleur progressive passer de la couleur sombre à la lumière sous la lumière du soleil avec AgNPs à intervalles de temps réguliers (0–6 h). Le taux d'activité photo catalytique était augmenté de manière significative avec l'augmentation du temps. Ce résultat suggère fortement que le colorant a été efficacement dégradé par le traitement aux nanoparticules. La présence de divers groupes hydroxyle à la surface de AgNPs synthétisés pourraient fortement interagir avec ces colorants et améliorent

la réaction photo catalytique en cassant les électrons présents dans le mélange réactionnel sous la lumière du soleil irradiation (Sarathi Kannan *et al.* 2021). Selon l'étude d'Ankamwar *et al.*, il a également été trouvé Les nanoparticules d'argent ont montré une excellente photo catalyse activité, lorsqu'il est utilisé comme photo catalyseur pour favoriser la formation de radicaux OH formés à partir de la photolyse de H₂O₂(Ankamwar *et al.* 2015). Les résultats de l'étude de Roy *et al.* montrent que les nanoparticules d'Ag bio synthétisées peuvent agir comme un photo catalyseur stable et efficace pour la décomposition du bleu de méthylène sous irradiation à la lumière visible (Roy *et al.* 2015).

Matériel et méthodes

Chapitre II Matériel et méthodes

Ce chapitre est consacré à décrire les méthodes et les techniques expérimentales utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'argent et à introduire différents appareils opératoires pour caractériser ces AgNPs. Par conséquent, nous présenterons les activités antibactériennes des nanoparticules.

II.1 Objectif

Ce travail a été réalisé aux laboratoires du Plateau Technique en Analyses Physico-chimiques (PTAPC CRAPC Ouargla). L'objectif de notre travail est de synthétiser des nanoparticules d'argent (AgNPs) à l'aide de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*, pour connaître leurs effets antibactériens sur les bactéries pathogènes.

II.2 Matériel biologique

II .2.1 Origine de souches utilisées

La synthèse des nanoparticules a été réalisée avec deux souches bactériennes et une souche de levure appartenant à la collection ATCC (American type culture collection) : *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus subtilis* ATCC6633 et *Saccharomyces cerevisiae*, qui ont été fournies par les laboratoires de recherches de l'université de Kasdi Merbah de Ouargla.

II .2.2 Caractéristiques des souches utilisées

Tableau 0:1: Généralités sur les souches bactériennes utilisées

Les bactéries	Gram	Caractéristiques	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Gram négative	Anaérobie facultatif. Ils existent dans le tube digestif et l'intestin des humains et des animaux. La température de croissance est d'environ 15 à 45 °C.	(Ghorbani et Rashidi, 2013).
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram positive	Aéroanaérobie. Ils existent dans le sol. La température de croissance est d'environ 30 à 35 °C	(Errington et van. 2020)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	/	Organisme monocellulaire. Présent dans un large éventail d'habitats.	(Parapouli et al. 2020)

II .3 Méthodes

II .3.1 Préparation de culture bactérienne

II .3.1.1 Conservation des souches étudiées

Les souches bactériennes référentielles sont conservées à 4 °C dans des tubes stériles contenant 5 ml de gélose nutritive (GN) par la méthode de piqure centrale.

II .3.1.2 Ensemencement des souches conservées

Dans un endroit stérile et à partir des souches bactériennes conservées, les souches sont revivifiées dans du bouillon nutritif (BN) à 37 °C pendant 24 h. Après, un ensemencement est effectué sur des boîtes pétri contenant de gélose nutritive suivi d'une incubation à 37 °C pendant 24 h pour vérifier leur pureté.

II .3.2 Préparation des suspensions microbiennes

II.3.2.1 Préparation des suspensions bactériennes

Une ansée de colonies bien isolées (deux à trois colonies) est mise dans un tube stérile à vis contenant 5 ml de bouillon nutritif puis laissé incubé à 37 °C dans un incubateur à 120 tr/min pendant 18 h pour obtenir une culture jeune.

II .3.2.2 Préparation d'une suspension de levure (*Saccharomyces cerevisiae*)

La solution de *Saccharomyces cerevisiae* a été cultivée dans l'incubateur à 30°C avec une agitation à 100 tr/min pendant 24 heures, pour favoriser leur croissance.

II 3.3 Biosynthèse des nanoparticules d'argent

Le test a été réalisé selon le protocole décrit par : (Yurtluk *et al* .2018)

Les souches étudiées (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*) ont été inoculées dans des flacons de 250 ml contenant 200 ml de bouillon nutritif (BN) stérile après incubation. Les milieux inoculés ont été incubés à 37°C dans un incubateur à 120 tr/min pendant 24 heures. Après 24 heures, les cultures ont été centrifugées pour séparer le surnageant et le culot. La centrifugation a été effectuée à 4000 tr/min pendant 20 minutes à une température de 4°C. Les surnageants obtenus après centrifugation ont été utilisés pour synthétiser les AgNPs.

Une quantité de surnageant a été mélangé avec une même quantité de solution d'AgNO₃ (0.8Mm) et incubé à 30°C pendant 24 heures sous agitation (100 tr/min). La synthèse a été contrôlée par le changement de couleur du milieu du jaune au brun par inspection visuelle du flacon (figure II.1)

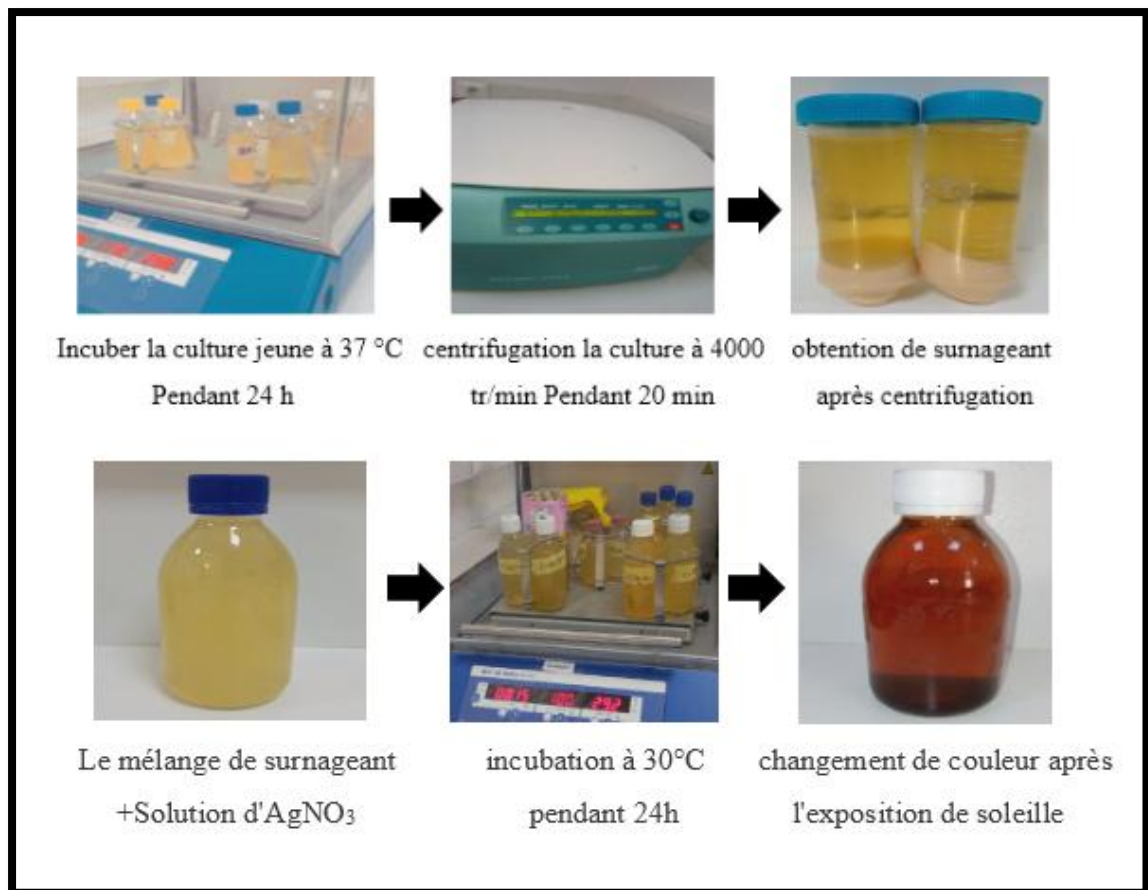


Figure 0-1 : Etapes de synthèse de nanoparticules d'argent

II .3.4 Rinçage et séchage des solutions d'AgNPs

Les solutions d'AgNPs obtenues après 24 h ont été placée dans une centrifugeuse à 4000 tr/min pendant 10 min. Les culots résultant ont été soigneusement lavé avec de l'eau distillée, puis les solutions ont été placée dans une centrifugeuse à 4000 tr/min pendant 10 min, et ce processus a été répété 3 fois. Après centrifugation, une petite quantité d'éthanol a été mélangée avec le culot, et le mélange a été séché dans l'étuve à 90°C pendant 24 heures (FigureII.2).

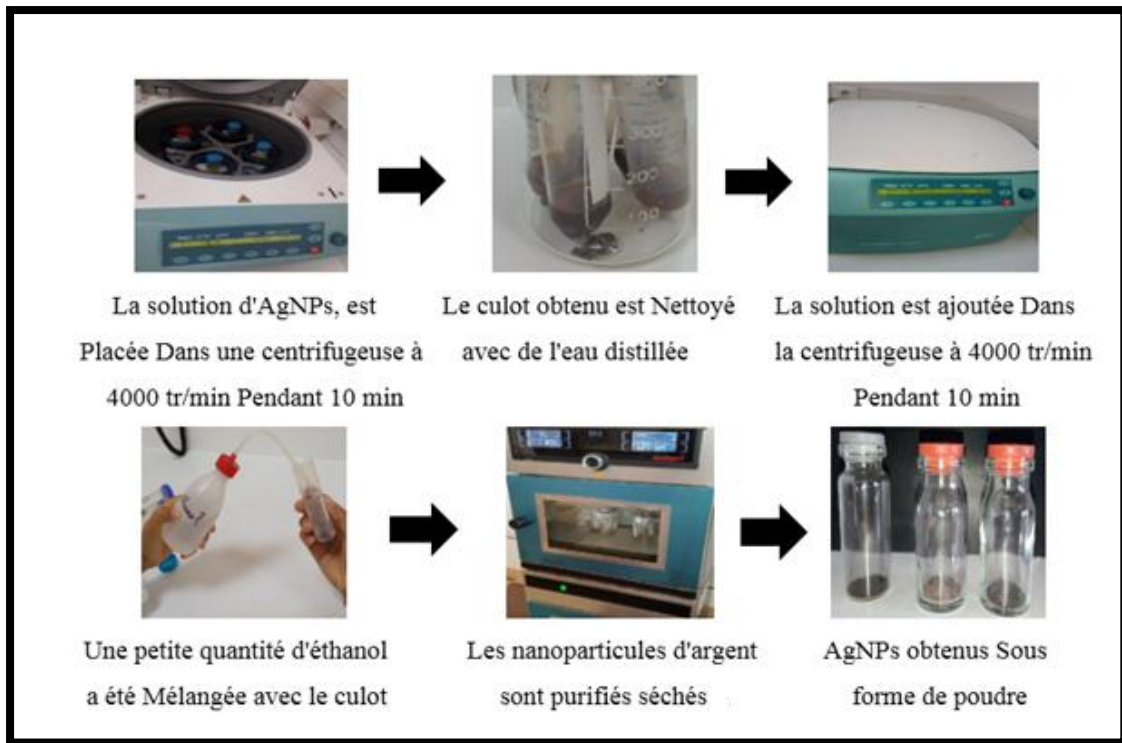


Figure 0-2: Les étapes de Rinçage et Séchage de nanoparticules d'argent.

II .3.5 Caractérisation des nanoparticules d'AgNPs

Pour étudier l'évolution et la croissance des nanoparticules nous avons réalisé une série des caractérisations. La morphologie obtenue a été étudiée par la microscopie électronique à balayage (MEB), la qualité de composition chimique du matériau synthétisé a été caractérisée par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). En fin les propriétés optiques ont été effectuées par la spectrophotomètre UV-Visible.

II .3.5.1 Spectrophotomètre UV-visible

Nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-visible de marque (Agilent Technologie, Cary 600) pour caractériser les nanoparticules synthétiques. Il s'agit de quantifier la quantité de rayonnement lumière ultraviolette ou visible absorbée par les composants en solution, et mesurer le rapport de l'intensité des deux faisceaux dans la région UV-visible.

Les spectrophotomètres UV-vis dirigent une source de lumière à travers un échantillon et un détecteur situé sur le côté opposé enregistre la lumière transmise. Généralement, les graphiques des données présentent la ligne de base en bas, les pics pointant vers le haut, et ils indiquent la longueur d'onde en nanomètres (nm) sur l'axe

de x et l'absorbance (A) sur l'axe de y . La transmittance représente la quantité de lumière absorbée à chaque longueur d'onde (Rocha *et al.* 2018).

II .3.5.2 Microscope électronique à balayage (MEB)

L'analyse morphologique et la composition d'AgNPs ont été réalisées par microscope électronique à balayage du marque (ZEISS, EVO15).

Des électrons produits par l'émission thermique d'un filament chauffant traversent le canal du vide du microscope et est focalisé par un ensemble des lentilles électromagnétiques pour contrôler la direction des électrons. À l'intérieur de la chambre de MEB sous vide, les électrons vont subi des collisions avec la surface de l'échantillon conduisant à l'Emission des électrons et ce afin de donner une image de la surface d'un trois dimensions (Epp. 2016).

II .3.5.3 Analyse par spectroscopie réflectance totale atténuée (ATR-FTIR)

La spectroscopie d'absorption infrarouge est une technique permet d'obtenir des informations sur les liaisons présentes au sein d'un matériau et de les quantifier. ATR-FTIR du marque (Agilent Technologie, Cary 600) a été utilisée pour la détection et l'analyse des groupes fonctionnels et les liaisons chimiques présentes dans du nanoparticules d'argent dans la gamme de fréquence $500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$. Le principe général d'un spectromètre ATR- FTIR est que la lumière polychromatique issue d'une source lumineuse traverse un interféromètre, où elle est convertie en un faisceau lumineux dont l'énergie est modulée en fonction du temps. Après absorption par l'échantillon, le signal détecté correspond à chaque coordonnée vibrationnelle sous forme d'interférogramme. Dans la dernière étape, cet interférogramme est converti numériquement en un spectre en appliquant une transformée de Fourier. (Sid-Sahtout *et al.*2021).

II .3.6 Evaluation de l'activité antibactérienne

Les souches sélectionnées pour tester l'activité antimicrobienne de nos produits ont été fournies par l'American Type Culture Collection (ATCC). Les germes qui ont été choisies sont expliqué dans le tableau suivant.

Tableau 0:2: Généralités sur les bactéries utilisées pour l'activité anti bactériennes.

Les Souches Testées	Gram	Habitats	Pouvoir Pathogène
<i>Escherichia coli</i>	Gram négative	-Le tube digestif. -la lumière intestinale.	-Infection des voies urinaires. -Septicémie/méningite. -Maladie entérique/diarrhéique. (Gomes et al. 2016)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérie Gram négative	-Eau et sols humides. -Surface des Végétaux.	-Infection des voies urinaires et pneumonie -Provoque une variété d'infections de peau et des tissus (Bassetti et al. 2018)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positive	- Les fosses nasales - Le tube digestif.	-la bactériémie, les infections de peau et des tissus -gastro-entérite, méningite et infections des voies urinaires. (Taylor et Unakal. 2021)
<i>Salmonella enterica</i>	Gram négative	- Eau d'assainissement.	- les maladies intestinales (La fièvre entérique et la fièvre typhoïde). -provoque maladie salmonellose. (Knodler et Eifenbein. 2019)

L'activité antibactérienne des solutions diluées d'AgNPs (10^{-5}) synthétisés par *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*, ont été évaluées in vitro, sur différentes souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) par la méthode de diffusion de puits en milieu Mueller Hinton (MH) solide.

Les bactéries pathogènes testées ont été cultivées dans un bouillon nutritif puis incubées à 37 °C dans un incubateur à 100 tr/min pendant 18 h. Après l'incubation, à

l'aide d'une anse de platine, nous ensemençons des cultures de bactéries pathogènes sur gélose MH, puis plaçons des disques stériles de 6 mm à la surface de gélose et les immergions dans 10 μ l des solutions diluées d'AgNPs à l'aide d'une micropipette. Après l'incubation à 30 °C pendant 24 h, les différents niveaux des zones d'inhibition ont été mesurés pour déterminer l'activité antibactérienne (Figure II.30), le diamètre de l'inhibition a été mesuré avec une règle et exprimé en millimètres. (Tableau II.3).

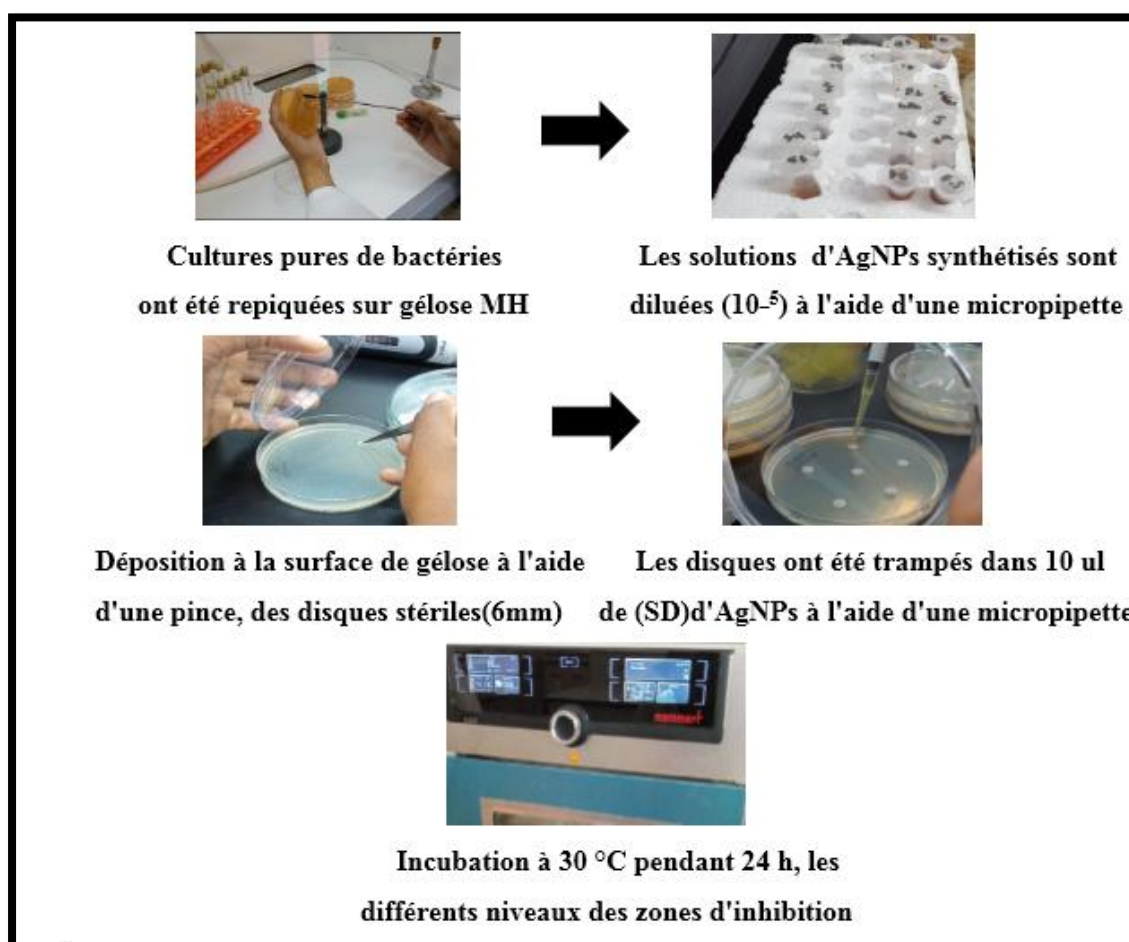


Figure 0-3: Etapes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.

Tableau 0:3: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition. (Mouas et al.2017)

Sensibilité	Zone d'inhibition
Souche résistante	Diamètre < 8 mm
Souche sensible	$9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$
Souche très sensible	$15\text{mm} \leq D \leq 19\text{ mm}$
Souche extrêmement sensible	$D > 20\text{ mm}$

Résultats et discussion

Chapitre III Résultats et discussions

Dans ce chapitre, la biosynthèse des AgNPs par *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae* sera discutée, en optimisant divers paramètres fonctionnels et antibactériens. Le choix des bactéries pour la synthèse dépend de leur adaptation à différentes conditions, telles que la température, la ventilation et le temps d'incubation, ainsi que de leur croissance rapide.

III.1 Biosynthèse des nanoparticules d'argent

La biosynthèse d'AgNPs a été confirmée par un changement de couleur du milieu du jaune au brun après l'ajout d' AgNO_3 et incubation.

III.2 Rendement des poudres d'AgNPs

Après le séchage des solutions d'AgNPs dans l'étuve, les poudres d'AgNPs obtenue à des différents rendements sont présenté sur Figure III.1. On observe que la quantité d'AgNPs synthétisée par *Saccharomyces cerevisiae* est plus élevée par rapport à *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*.

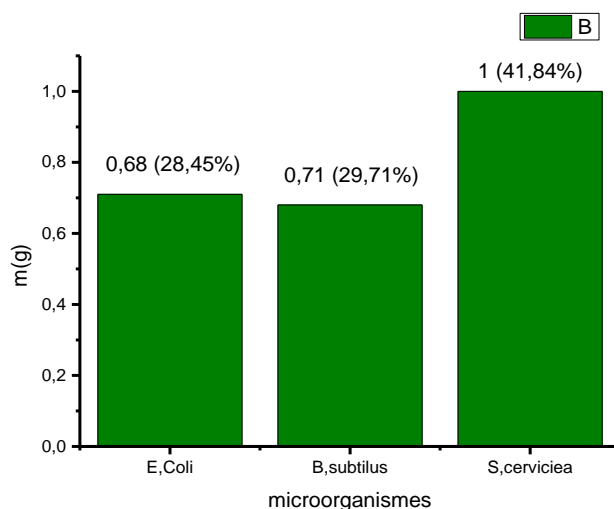


Figure 0-1: les masses des nanoparticules d'argent obtenue.

III.3 Caractérisation d'AgNPs

III.3.1 Analyse UV- visible d'AgNPs

La figure III-2 représente les spectres UV-visible de nanoparticules d'argent synthétisées. Les nanoparticules d'argent synthétisées par *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae*, ont été mesurés par spectrophotomètre UV-Vis dans la plage de 300 à 800 nm. Des pics caractéristiques sont observés à 470 nm pour *Saccharomyces cerevisiae*, à 467 nm pour *Escherichia coli* et à 450 nm pour *Bacillus subtilis*.

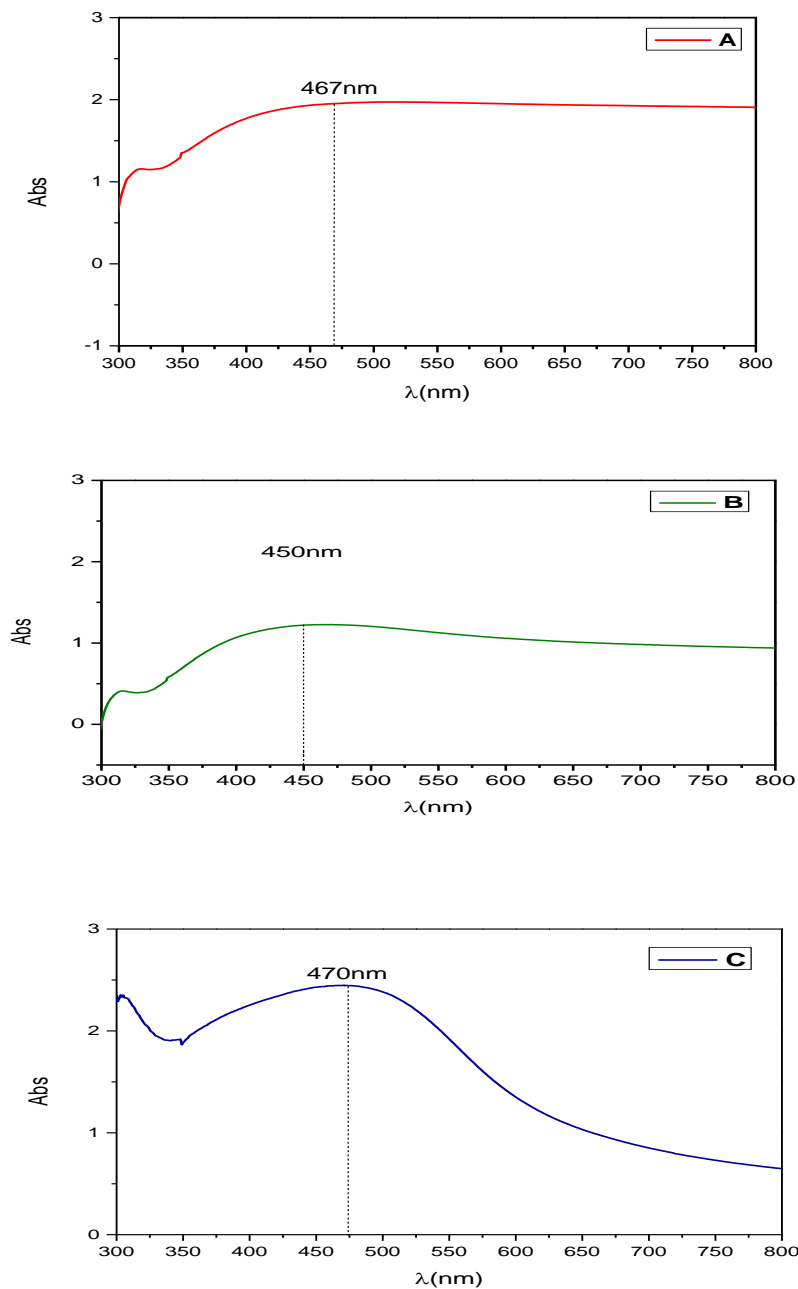


Figure 0-2 : Spectre UV-visible de nanoparticules d'argent synthétisées par A : *Escherichia coli*, B : *Bacillus subtilis*, C : *Saccharomyces cerevisiae*

III .3.2 Analyse par spectroscopie réflectance totale atténuée (ATR-FTIR)

Pour étudier les interactions possibles entre la surface des nanoparticules d'argent et *Saccharomyces cerevisiae*, des spectres ATR-FTIR des nanoparticules d'argent ont été enregistrées dans un intervalle de nombre d'onde entre 4000 et 450 cm^{-1} (Figure III.3) L'étirement de la liaison est dû à l'étirement du carbonyle dans la liaison amide de la protéine qui a capacité de lier l'argent. (Sowbarnika et al. 2018).

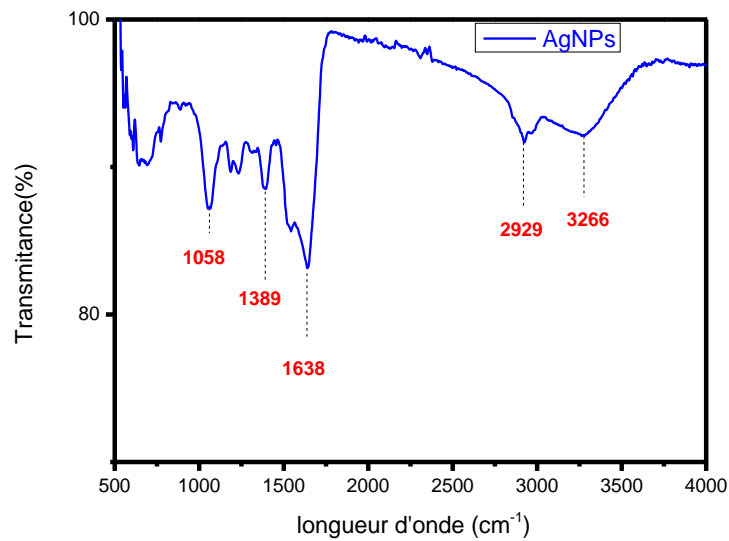


Figure 0-3: Spectre ATR-FTIR de nanoparticules d'argent bio synthétisées à l'aide de *Saccharomyces cerevisiae*.

III .3.3 Caractérisation par microscope électronique à balayage MEB

Dans le cadre de notre étude, l'analyse par microscope électronique à balayage MEB a principalement été réalisée pour connaître deux types d'informations : la taille et la morphologie des particules synthétisées. L'image MEB des AgNPs synthétisées par *Saccharomyces cerevisiae* est représentée dans la figure 0III.4.

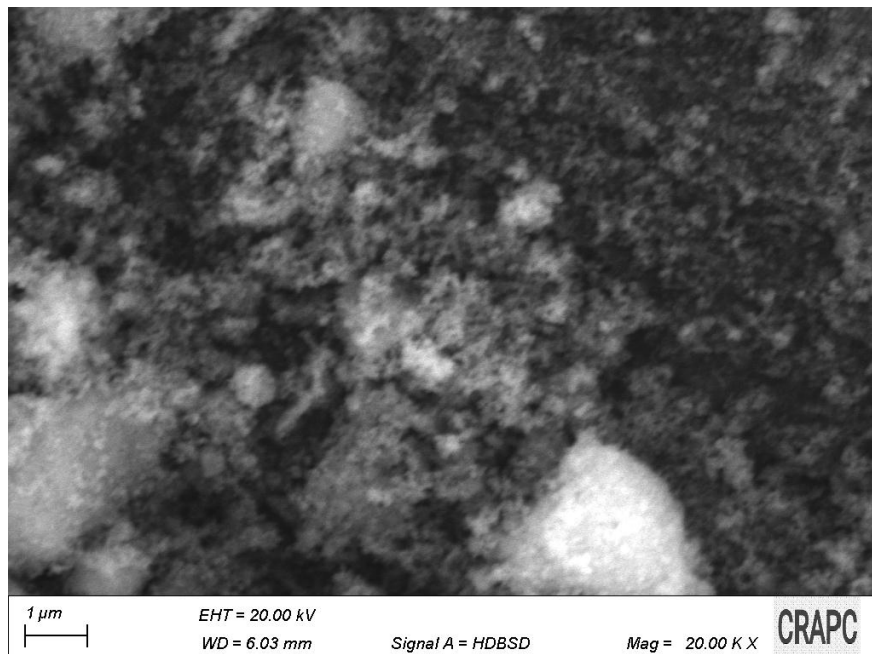


Figure 0-4: Image MEB d'AgNPs synthétisée par *Saccharomyces cerevisiae*.

III.4 Évaluation de l'activité antibactérienne

Les AgNPs, qui ont été synthétisées par diverses bactéries, ont montré un certain degré d'activité antibactérienne avec différentes concentrations (**sm**: 10 µl; **c1**: 5 µl; **c2**: 2,5 µl; **c3**: 1,25 µl; **c4**: 0,62 µl; **c5**: 0,31), contre des bactéries pathogènes à Gram négative: *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et une bactérie à Gram positive (*Staphylococcus aureus*). Les activités observées dans les boîtes de Pétri utilisées sont présentées dans la figure III.5,6,7. La taille moyenne des zones d'inhibition (mm) mesurées pour toutes les souches a été présentée dans le tableau III.1. Le diamètre de la zone d'inhibition reflète l'ampleur de la sensibilité du micro-organisme. Les souches sensibles présentent une zone d'inhibition plus grande, tandis que les souches résistantes présentent une zone d'inhibition plus petite (Gajbhiye et al. 2009).

Tableau 0.1: Mesures des zones d'inhibition pour l'activité antibactérienne.

Les nanoparticules d'argent	Concentration (µl)	Les souches			
		<i>S. enterica</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S.aureus</i>
		Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
Synthétisée Par <i>E. coli</i>	10	17	14	14	15
	5	16	17	15	16
	2,5	16	16	14	14
	1,25	16	15	13	13
	0,62	15	14	11	11
	0,31	14	14	10	10
Synthétisée Par <i>Bacillus subtilis</i>	10	14	15	14	15
	5	14	14	13	14
	2,5	16	15	16	14
	1,25	14	13	12	14
	0,62	12	17	11	13
	0,31	6	12	9	11
Synthétisée Par <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10	13	14	13	14
	5	12	15	12	15
	2,5	13	15	12	15
	1,25	14	13	12	13
	0,62	12	12	11	12
	0,31	11	11	7	11

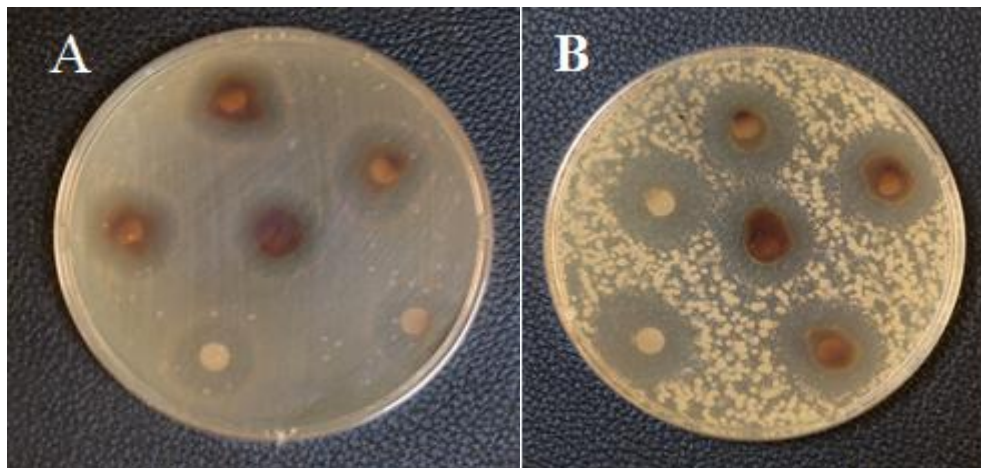


Figure 0-5: Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisée par *Escherichia coli* contre (A) *E coli*, (B) *S. enterica*.

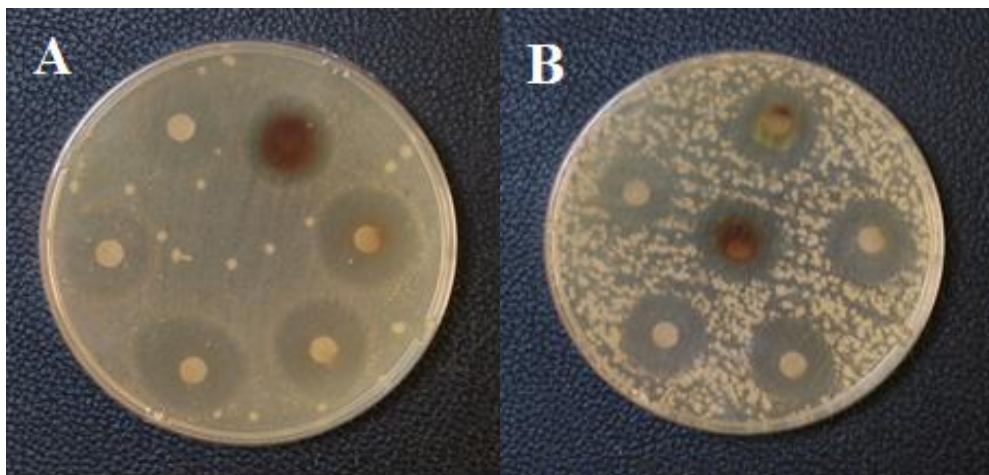


Figure 0-6: Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisée par *Bacillus subtilis* contre (A) *S. aureus* , (B) *S. enterica*.

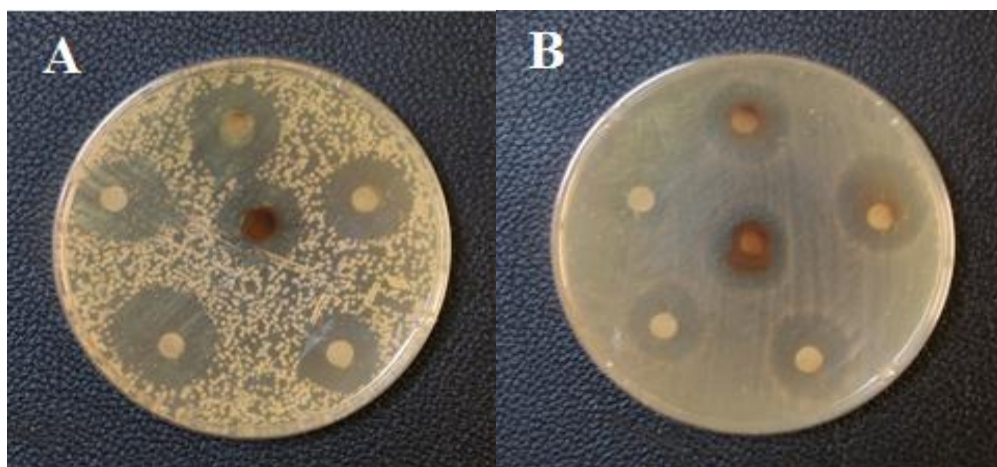


Figure 0-7: Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent synthétisée par *Saccharomyces cerevisiae* contre (A) *P. aeruginosa* , (B) *E. coli*.

On remarque que les différentes souches des bactéries (gram positives et gram négatives) interagissent avec les AgNPs synthétisées, les résultats ont montré que *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont les souches les plus sensibles alors que *Escherichia coli* la souche la moins sensible, l'histogramme (figure III.8,9,10) représente les zones d'inhibition pour chaque souche testée.

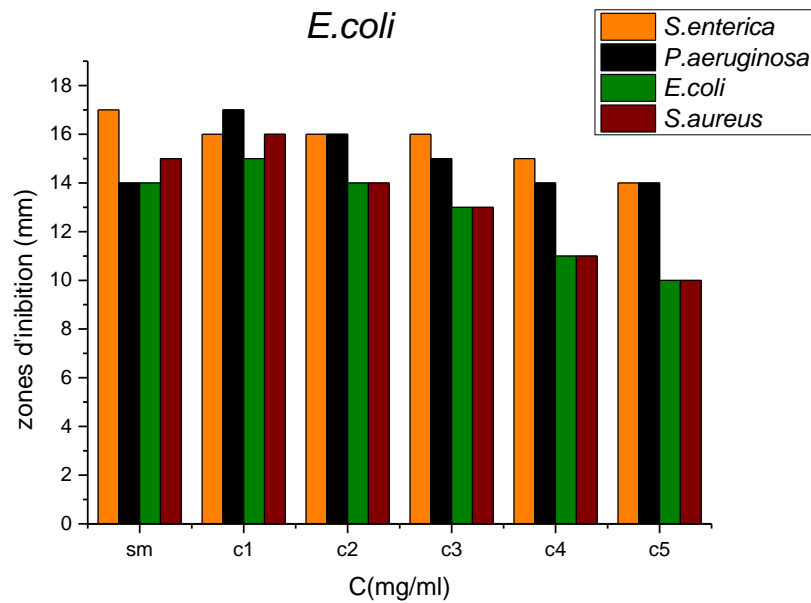


Figure 0-8: les zones d'inhibition d'AgNPs synthétisée par *Escherichia coli* avec des différentes concentrations contre différentes bactéries pathogènes.

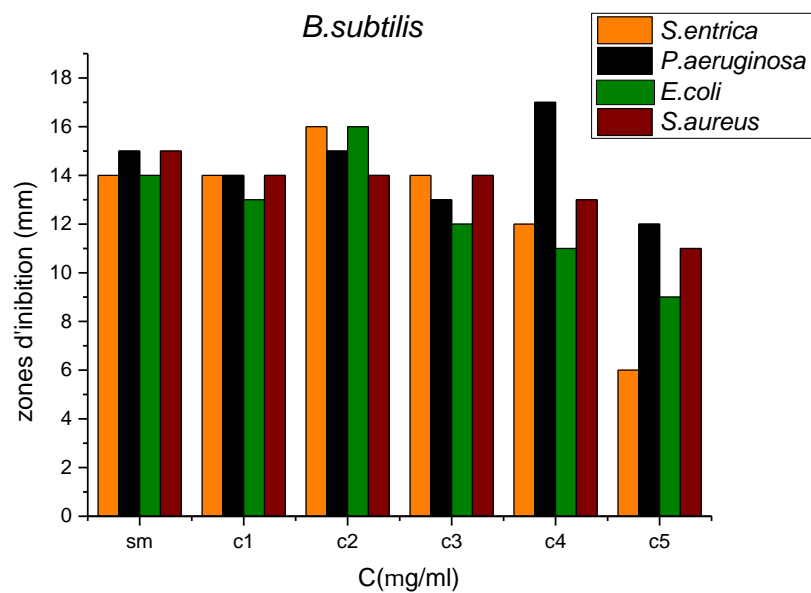


Figure 0-9: Les zones d'inhibition d'AgNPs synthétisée par *Bacillus subtilis* avec différentes concentrations contre différentes bactéries pathogènes.

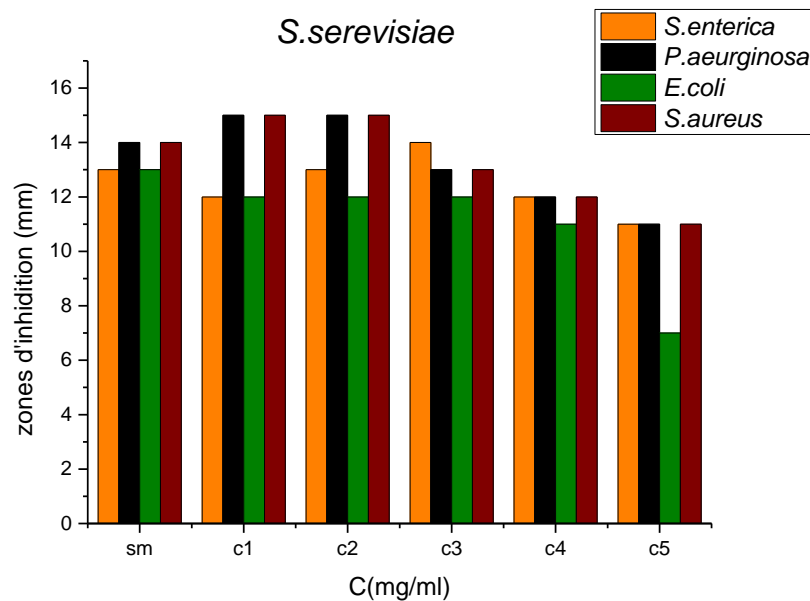


Figure 0-10: Les zones d'inhibition d'AgNPs synthétisée par *Saccharomyces cerevisiae* avec différentes concentrations contre différentes bactéries pathogènes.

Pour l'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétisée par *E. coli* contre quatre bactéries pathogènes, on observe que la zone maximale d'inhibition est 17 mm pour *Salmonella enterica* et *Pseudomonas aeruginosa* à concentration 10 et 5 (mg/ml) Une zone de 16 mm pour *Staphylococcus aureus* et 15 mm pour *Escherichia coli* est obtenue pour une concentration de 5 mg/ml. La zone d'inhibition la plus faible a été observé pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (10mm) à une concentration de 0,31mg/ml.

Dans l'étude de Grigoriev et al. (Grigoriev et al. 2013), ont constaté que les AgNPs étaient adsorbées sur la membrane externe des bactéries Gram négatif (*Salmonella Typhimurium*) et sur la paroi cellulaire des bactéries Gram positif (*S. aureus*). Ce résultat est cohérent avec nos résultats.

Tandis que la zone d'inhibition maximale d'AgNPs synthétisée par *Bacillus subtilis* atteint 17 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* avec une concentration 0,61mg/ml, et 16 mm Pour *Salmonella Enterica* et *E. coli* avec une concentration 2,5 mg/ml. Ce résultat est cohérent avec la littérature (saravanan et al. 2011). Les résultats obtenus confirment que l'AgNPs synthétisés ont une activité antibactérienne remarquable contre les agents pathogènes.

Alors que, la zone d'inhibition l'AgNPs synthétisée par *Saccharomyces cerevisiae* atteint 15 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* à une concentration de 5 et 2,5 μ g/ml, et 14 mm pour *Salmonella enterica* à une concentration 1,25 mg/ml. Des observations similaires ont été faites par Jaidev et Narasimha avec d'AgNPs synthétisée par *Aspergillus niger*. (Jaidev et Narasimha. 2010).

Discision :

L'apparition d'une couleur brune foncé dans la biomasse est un indicateur de réduction des ions métalliques (Ag^+) et la formation de nanoparticules d'argent par des enzymes, des protéines, des acides aminés, polysaccharides etc., en raison de la résonance de plasmon de surface dans les AgNPs (Abdeen *et al.* 2014).

Les résultats des Rendement des poudres d'AgNPs est similaire à celui de Hamidi *et al.* 2014, qu'ils utilisaient *Saccharomyces cerevisiae* pour la biosynthèse d'AgNPs extracellulaire avec des dimensions comprises entre 5 et 60 nm. Le rendement obtenu est peut-être lié au milieu extracellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* qu'est plus riche en protéines enzymatiques, qui a la capacité de réduire les cations d'argent dans la solution de réaction. Il faut noter aussi que les levures sont faciles à manipuler, nécessitant des matières premières simples et ont une grande capacité de liaison aux parois (Ray *et al.* 2012). Dans d'autres études de Mülle *et al.*, et Al-Samhari, ils ont utilisé *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* pour la synthèse de nanoparticules d'argent, le rendement était important et cela est en accord avec nos résultats. (Mülle *et al.* 2016 ; Al-Samhari. 2020).

Les pics d'absorptions sont expliqués par le phénomène de la résonance plasmonique de surface des nanoparticules d'argent. (Moideen et Prabha. 2014).

Les résultats obtenus d'analyse (ATR-FTIR) sont similaires aux résultats de de Daz *et al.*, Badhusha *et al.*, Feroze *et al.* et Gudikandula *et al.* OÙ le pic à 3266 cm^{-1} fait référence aux vibrations d'étirement des liaisons O-H dans un composé phénolique (Das *et al.* 2013), tandis que le pic à 2929 cm^{-1} est dû aux vibrations d'étirement du C-H aldéhydique (Badhusha *et al.* 2016). La bande à 1638 cm^{-1} représente la vibration d'étirement des liaisons N-H de groupe amine (Feroze *et al.* 2020) Les bandes à 1389 cm^{-1} et 1058 cm^{-1} représentent les amines aromatiques et aliphatiques de C-N étirant les vibrations de protéines. Les résultats ATR-FTIR ont confirmé que la protéine pourrait être responsable de la formation de nanoparticules d'argent, ainsi, les groupes carbonyles de résidus d'acides aminés et de peptides ont une forte capacité de se lier à l'argent. (Gudikandula *et al.* 2017).

Nous observons dans l'analyse MEB des petites nanoparticules d'argent sphériques et homogènes d'un diamètre d'environ 60 nm. Les mêmes résultats ont été similaire avec Sahib *et al.* (Sahib *et al.* 2017).

Ainsi, on peut dire que l'effet antibactérien de l'AgNPs dépend de la dose et du type de bactéries. Ce qui signifie que l'inhibition maximale de la croissance bactérienne varie d'une concentration à l'autre, selon le type de bactérie qui synthétise l'AgNPs, ce résultat est cohérent avec les résultats de Rajeshkumar et Malarkodi. 2014. D'autres études (Shrivastava

et al. 2009), ont montré que l'activité antimicrobienne des AgNPs contre *Escherichia coli* était supérieure à celle contre *Staphylococcus aureus*. Les auteurs affirment que cette découverte peut être due à des différences dans la structure de la paroi cellulaire entre les bactéries à Gram positives et à Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries à Gram positives est composée d'une épaisse couche de peptidoglycane, constituée de chaînes polysaccharidiques linéaires réticulées par des peptides courts, formant ainsi une structure plus rigide qui rend les AgNPs impénétrables. Contrairement aux bactéries Gram négatives, la paroi cellulaire a une couche plus mince du peptidoglycane. Nos résultats contredisent cette affirmation, puisque nous avons pu constater que l'activité antibactérienne de l'AgNPs était proportionnelle entre les différentes souches testées, qu'elles soient sensibles ou pathogènes, Gram positives ou Gram négatives. Plusieurs chercheurs ont rapporté des propositions pour le mécanisme d'action des nanoparticules d'argent sur diverses souches bactériennes. Choi et al. 2013 pensent que cela peut être lié à la taille et/ou à la morphologie des AgNPs, qui sont responsable de la pénétration à travers les parois bactériennes et exercent ainsi une activité antibactérienne. Ainsi, les AgNPs ont une plus grande surface d'interaction avec les bactéries et ont une activité antibactérienne puissante.

Les résultats ont indiqué que l'effet antibactérien était dépendant de la concentration. Il est rapporté que plus la taille des AgNPs est petite, plus l'activité antimicrobienne est supérieure. (Vanlalveni et al. 2021). Le mécanisme d'inhibition de l'activité bactérienne des AgNPs sur les microorganismes est partiellement connu (Katva et al. 2018). De nombreuses études soutiennent la proposition selon laquelle les d'AgNPs pénètrent à travers les parois bactériennes. Où les ions d'Ag⁺ sont libéré l'intérieur de la cellule et activés les radicaux libres (ROS) (Rai et al. 2016). Les ions d'Ag⁺ conduit à l'inactivation des protéines membranaires, à la dénaturation d'enzymes importantes en interagissant avec l'ADN et les nucléosides de l'ADN, inhibition des voies respiratoires et déplétion intracellulaire en ATP pour afficher une activité antibactérienne (Liao et al. 2019).

CONCLUSION

Conclusion

Conclusion

L'objectif de notre travail est de synthétiser des nanoparticules d'argent (AgNPs) à l'aide de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae* et leurs effets antibactériens sur les bactéries pathogènes.

Les travaux présentés dans ce mémoire portent sur, la synthèse avec succès des nanoparticules d'argent par une méthode biologique simple en utilisant le surnageant de culture des souches et sans aucun agent réducteur nocif.

Les nanoparticules d'argent préparés sont caractérisées par spectrophotométrie UV-vis, ATR-FTIR, MEB et EDX. La propriété de résonance plasmonique de surface intense entre 450 et 470 nm des nanoparticules synthétisées a été étudiée par spectroscopie UV-Vis.

L'étude morphologique des AgNPs synthétisée par *S. cerevisiae* à l'aide de MEB suggère que les nanoparticules sont de forme sphérique avec un diamètre d'environ 10 nm à 60 nm. Les protéines ayant des groupes fonctionnels d'amines, phénol, d'aldéhydes, etc., ont été trouvés à partir des résultats ATR-FTIR.

Les nanoparticules d'argent bio synthétisées ont montré une excellente activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et Gram négatives. L'activité antibactérienne a été bien démontrée par les zones d'inhibition entre 10 et 17 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*. Ce résultat pourrait être intéressant dans les domaines pharmacologique et médical.

Perspectives

Et comme perspectives, nous proposons ce qui suit :

- Synthétiser d'autres nanoparticules telles que les nanoparticules de ZnO et de CuO.
- Tester l'activité antifongique.
- Tester d'autres activités biologiques comme l'activité photo catalytique, l'activité antioxydant.
- Optimisation des nanoparticules d'argent par les paramètres cinétiques de formation des nanoparticules.
- Caractérisation des nanoparticules par l'appareil de diffraction des rayons X (XRD).

Références

Références

- Ahmad**, H., Venugopal, K., Bhat, A. H., Kavitha, K., Ramanan, A., Rajagopal, K., ... & Manikandan, E. (2020). Enhanced biosynthesis synthesis of copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) for their antifungal activity toxicity against major phyto-pathogens of apple orchards. *Pharmaceutical Research*, 37(12), 1-12.
- Ahmad**, S. A., Das, S. S., Khatoon, A., Ansari, M. T., Afzal, M., Hasnain, M. S., & Nayak, A. K. (2020). Bactericidal activity of silver nanoparticles: A mechanistic review. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 756-769.
- Ahmed**, S., & Ikram, S. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles: a green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161, 141-153.
- Akther**, T., Mathipi, V., Kumar, N. S., Davoodbasha, M., & Srinivasan, H. (2019). Fungal-mediated synthesis of pharmaceutically active silver nanoparticles and anticancer property against A549 cells through apoptosis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(13), 13649-13657.
- Al-Zubaidi**, S., Al-Ayafi, A., & Abdelkader, H. (2019). Biosynthesis, characterization and antifungal activity of silver nanoparticles by *Aspergillus niger* isolate. *Journal of Nanotechnology Research*, 1(1), 23-36.
- Ankamwar**, B., Gharge, M., & Sur, U. K. (2015). Photocatalytic activity of biologically synthesized silver nanoparticles using flower extract. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 7(6), 480-484.
- Annu**, A. A., & Ahmed, S. (2018). Green synthesis of metal, metal oxide nanoparticles, and their various applications. *Handbook of Ecomaterials*, 2018, 1-45..
- Anupama**, N., & Madhumitha, G. (2017). Green synthesis and catalytic application of silver nanoparticles using *Carissa carandas* fruits. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 47(1), 116-120.
- Azam**, A., Ahmed, A. S., Oves, M., Khan, M. S., & Memic, A. (2012). Size-dependent antimicrobial properties of cuo nanoparticles against Gram-positive and-negative bacterial strains. *International journal of nanomedicine*, 7, 3527.
- **Arias**, L. S., Pessan, J. P., Vieira, A. P. M., Lima, T. M. T. D., Delbem, A. C. B., & Monteiro, D. R. (2018). Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: A perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. *Antibiotics*, 7(2), 46.
- **azeez**, I.; lateef, a.; adebisi, s.a. Silver nanoparticles (agnps) biosynthesized using pod extract of *cola nitida* enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *amaranthus caudatus* linn.appl. *Nanosci.* 2017, 7, 59–66
- Bassetti**, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in context*, 7.

Références

- Bedlovičová, Z.**, Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020). A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191.
- Blanco, E.**, Shen, H., & Ferrari, M. (2015). Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nature biotechnology*, 33(9), 941-951.
- Bonnia, N.N.**, Kamaruddin, M.S., Nawawi, M.H., Ratim, S., Azlina, H.N. and Ali, E.S., 2016. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Polygonum Hydropiper* and study its catalytic degradation of methylene blue. *Procedia Chemistry*, 19, pp.594-602.
- **Bose, D.**; Chatterjee, S. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using guava (*Psidium guajava*) leaf extract and its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Nanosci.* 2016, 6, 895–901.
- **Chokriwal, A.**, Sharma, M. M., & Singh, A. (2014). Biological synthesis of nanoparticles using bacteria and their applications. *American Journal of PharmTech Research*, 4(6), 38-61.
- **Chouhan, S.**, & Guleria, S. (2020). Green synthesis of agnps using *Cannabis sativa* leaf extract: Characterization, antibacterial, anti-yeast and α -amylase inhibitory activity. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 536-544.
- Céline, A.**, Gonçalves, O., Jacquemin, F., & Fréour, S. (2014). Utilisation de la spectrométrie infrarouge pour une quantification rapide du taux d'humidité dans des fibres végétales. *Revue des composites et des matériaux avancés*, 24(1), 81-95.
- Chaudhari, P. R.**, Masurkar, S. A., Shidore, V. B., & Kamble, S. P. (2012). Effect of biosynthesized silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus* biofilm quenching and prevention of biofilm formation. *Nano-Micro Letters*, 4(1), 34-39.
- Cho, Y. M.**, Mizuta, Y., Akagi, J. I., Toyoda, T., Sone, M., & Ogawa, K. (2018). Size-dependent acute toxicity of silver nanoparticles in mice. *Journal of toxicologic pathology*, 31(1), 73-80.
- Dauthal, P.**; Mukhopadhyay, M. Noble metal nanoparticles: Plant-mediated synthesis, mechanistic aspects of synthesis, and applications. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2016, 55, 9557–9577.
- Deli Jiang**, Chaosheng Xing, Ximeng Liang, Leqiang Shao, Min Chen, *Colloid. Interf.*
- Dhand, C.**, Dwivedi, N., Loh, X. J., Ying, A. N. J., Verma, N. K., Beuerman, R. W., ... & Ramakrishna, S. (2015). Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *Rsc Advances*, 5(127), 105003-105037.
- Dizaj, S. M.**, Lotfipour, F., Barzegar-Jalali, M., Zarrintan, M. H., & Adibkia, K. (2014). Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 44, 278-284.
- Dos Santos, C. A.**, Seckler, M. M., Ingle, A. P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., ... & Rai, M. (2014). Silver nanoparticles: therapeutical uses, toxicity, and safety issues. *Journal of pharmaceutical sciences*, 103(7), 1931-1944.

Références

- Dubchak** S., Ogar A., Mietelski J.W. and Turnau K., Influence of silver and titanium nanoparticles on arbuscular mycorrhiza colonization and accumulation of radiocaesium in *Helianthus annuus*, *Span. J. Agric. Res.*, 8(1), 103-108, (2010)
- **Ealia**, S. A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017, November). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 263, No. 3, p. 032019). IOP Publishing.
- **Epp**, J. (2016). X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization. In *Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods* (pp. 81-124). Woodhead Publishing.
- Errington**, J. and van der Aart, L.T., 2020. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse. *Microbiology*, 166(5), p.425.
- Folorunso**, A., Akintelu, S., Oyebamiji, A. K., Ajayi, S., Abiola, B., Abdusalam, I., & Morakinyo, A. (2019). Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of gold nanoparticles from leaf extracts of *Annona muricata*. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 9(2), 111-117.
- **Gahlawat**, G., & Choudhury, A. R. (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC advances*, 9(23), 12944-12967.
- Ganesan**, S., Babu, I. G., Mahendran, D., Arulselvi, P. I., Elangovan, N., Geetha, N., & Venkatachalam, P. (2016). Green engineering of titanium dioxide nanoparticles using *Ageratina altissima* (L.) King & HE Robines. Medicinal plant aqueous leaf extracts for enhanced photocatalytic activity. *Ann. Phytomed*, 5(2), 69-75.
- Ghorbani** H. 2013. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Escherichia coli*. *Asian J Chem*. 25:1247
- **Ghorbani**, H. R., & Rashidi, R. (2013). Biosynthesis of gold nanoparticles by *Escherichia coli*. *Minerva Biotechnologica*.
- **Gomes**, T. A., Elias, W. P., Scaletsky, I. C., Guth, B. E., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M., ... & Martinez, M. B. (2016). Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 3-30.
- **Grigore**, M. E., Biscu, E. R., Holban, A. M., Gestal, M. C., & Grumezescu, A. M. (2016). Methods of synthesis, properties and biomedical applications of CuO nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 9(4), 75.
- Heiligtag**, F. J., & Niederberger, M. (2013). The fascinating world of nanoparticle research. *Materials Today*, 16(7-8), 262-271.
- Hulkoti**, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.

Références

- **Huq, M., & Akter, S.** (2021). Bacterial mediated rapid and facile synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial efficacy against pathogenic microorganisms. *Materials*, 14(10), 2615.
 - **Jagathesan, G., & Rajiv, P.** (2018). Biosynthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Eichhornia crassipes* leaf extract and assessing their antibacterial activity. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 13, 90-94.
 - Jose, Sr & Thomas, Femy.,** 2020. Photocatalytic degradation of methylene blue using iron oxide nanoparticles synthesized using *Annona muricata* leaf extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 12, pp.46-51
 - Kaneva, N. V., Yordanov, G. G., & Dushkin, C. D.** (2009). Photocatalytic action of ZnO thin films prepared by the sol–gel method. *Reaction Kinetics and Catalysis Letters*, 98(2), 259-263.
 - **Keshari, A. K., Srivastava, R., Singh, P., Yadav, V. B., & Nath, G.** (2020). Antioxidant and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cestrum nocturnum*. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 11(1), 37-44.
 - Knodler, L. A., & Elfenbein, J. R.** (2019). *Salmonella enterica*. *Trends in microbiology*, 27(11), 964-965.
- Le tableau. Montre les différentes stratégies utilisées pour la synthèse des nanoparticules.
- **Lampre, I., & Remita, H.** (2021). Nanoparticules métalliques et rayonnements ionisants : synthèse et applications. *L'Actualité Chimique*.
 - Lee, S. H., Salunke, B. K., & Kim, B. S.** (2014). Sucrose density gradient centrifugation separation of gold and silver nanoparticles synthesized using *Magnolia kobus* plant leaf extracts. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 19(1), 169-174.
 - **Li, Z., Jiang, H., Xu, C., & Gu, L.** (2015). A review: Using nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of phenolic phytochemicals. *Food Hydrocolloids*, 43, 153-164.
 - **Miri, A., Mahdinejad, N., Ebrahimi, O., Khatami, M., & Sarani, M.** (2019). Zinc oxide nanoparticles: Biosynthesis, characterization, antifungal and cytotoxic activity. *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109981.
 - Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C.** (2017). Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* l. *Revue agrobiologia*, 7(1), 363-370.
 - _ **Otari S, Patil R, Ghosh S, Thorat N, Pawar S.** 2015. Intracellular synthesis of silver nanoparticle by actinobacteria and its antimicrobial activity. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc.* 136:1175–1180.
 - Ovais, M., Khalil, A. T., Ayaz, M., Ahmad, I., Nethi, S. K., & Mukherjee, S.** (2018). Biosynthesis of metal nanoparticles via microbial enzymes: a mechanistic approach. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 4100.

Références

- **Patra**, C.R.; Mukherjee, S.; Kotcherlakota, R. Biosynthesized silver nanoparticles: A step forward for cancer theranostics? *Nanomedicine* 2014, 9, 1445–1448
- Quelemes P.**, Araruna V., Kuckelhaus S., *et al.*, 2013. Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* ; 14 :4969-4981 ; doi :10.3390/ijms14034969.
- **Ranganath E**, Rathod V, Banu A. 2012. Screening of *Lactobacillus* spp, for mediating the biosynthesis of silver nanoparticles from silver nitrate. *IOSR J Pharm.* 2:237–241.
- Radich, E. J.**, & Kamat, P. V. (2013). Making graphene holey. Gold-nanoparticle-mediated hydroxyl radical attack on reduced graphene oxide. *ACS nano*, 7(6), 5546-5557.
- Rafique, M.**, Sadaf, I., Rafique, M. S., & Tahir, M. B. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(7), 1272-1291.
- Rai M.**, Kon K., Gade A., *et al.*, (2016). Antibiotic Resistance : Can Nanoparticles Tackle the Problem? Elsevier Inc. doi :10.1016/B978-0-12-803642-6.00006-X
- Rai M.K.**, Deshmukh S.D., Ingle A., *et al.*,. (2012). Silver Nanoparticles: The Powerful Nanoweapon against Multidrug-resistant Bacteria. *Journal of Applied Microbiology.* ; 112 :841–852. doi :10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x.
- Rocha, FS**, Gomes, AJ, Lunardi, CN, Kaliaguine, S., & Patience, GS (2018). Méthodes expérimentales en génie chimique : Spectroscopie visible dans l'ultraviolet—UV-Vis. *La Revue canadienne de génie chimique* , 96 (12), 2512-2517.
- Roy, K.**, Sarkar, C. K., & Ghosh, C. K. (2015). Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract. *Applied Nanoscience*, 5(8), 953-959..
- **Sang H., Jun B., (2019).** Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *Int. J. Mol. Sci.* ; 20 : 865. doi :10.3390/ijms20040865
- **Sid-Sahtout, N.**, Hank, D., & Hellal, A. (2021). Synthèse et caractérisation de membrane composite pour l'application de dialyse : une méthodologie d'adsorption et surface de réponse pour l'élimination du phénol de l'eau. *Journal d'ingénierie et de gestion de l'environnement (EEMJ)* , 20 (12).
- **Skalickova, S.**, Baron, M., & Sochor, J. (2017). Nanoparticles biosynthesized by yeast: a review of their application. *Kvasny Prumysl*, 63(6), 290-292.
- _**Suman J**, Neeraj S, Rahul J, Sushila K. 2014. Microbial synthesis of silver nanoparticles by *Actinotalea* sp. MTCC 10637. *Am J Phytomed Clinical Therap.* 2:1016–1023.
- Hasan S 2015 A Review on Nanoparticles : Their Synthesis and Types Biosynthesis :
S. Ahmed, S. Ikram, Synthesis of gold nanoparticles using plant extract : an overview,

Références

- Salunke**, B. K., Sawant, S. S., Lee, S. I., & Kim, B. S. (2016). Microorganisms as efficient biosystem for the synthesis of metal nanoparticles: current scenario and future possibilities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(5), 1-16.
- Sarathi Kannan**, D., Mahboob, S., Al-Ghanim, K. A., & Venkatachalam, P. (2021). Antibacterial, antibiofilm and photocatalytic activities of biogenic silver nanoparticles from *Ludwigia octovalvis*. *Journal of Cluster Science*, 32(2), 255-264.
- Saravanan**, M., Barik, S. K., mubarakali, D., Prakash, P., & Pugazhendhi, A. (2018). Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microbial pathogenesis*, 116, 221-226.
- Sardoiwala**, M. N., Kaundal, B., & Choudhury, S. R. (2018). Development of engineered nanoparticles expediting diagnostic and therapeutic applications across blood–brain barrier. *Handbook of nanomaterials for industrial applications*, 696-709.
- Sci. 461 (2016) 25–31
- Sengul**, A. B., & Asmatulu, E. (2020). Toxicity of metal and metal oxide nanoparticles: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18(5), 1659-1683.
- Shah**, A., Haq, S., Rehman, W., Waseem, M., Shoukat, S., & Rehman, M. U. (2019). Photocatalytic and antibacterial activities of paeonia emodi mediated silver oxide nanoparticles. *Materials Research Express*, 6(4), 045045.- **Singh**, R., & Singh, R. K. (2017). A review on nano materials of carbon. *J. Appl. Phys*, 9, 4257.
- Sreedevi**, T. P., Thilagam, M., Tamil Selvi, A., & Chandrasekaran, B. (2015). Synthesis, characterization and antibacterial studies of silver nanoparticles using *Lactobacillus plantarum*. *World journal of pharmaceutical research*, 4(8), 1757-1773.
- Srikar**, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., & Upadhyay, S. N. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles: a review. *Green and Sustainable Chemistry*, 6(1), 34-56.
- Suresh**, D., Nethravathi, P. C., Rajanaika, H., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C. (2015). Green synthesis of multifunctional zinc oxide (zno) nanoparticles using *Cassia fistula* plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 31, 446-454.
- Tsai**, Y.-J.; Ouyang, C.-Y.; Ma, S.-Y.; Tsai, D.-Y.; Tsengand, H.-W.; Yeh, Y.-C. Biosynthesis and display of diverse metal nanoparticles by recombinant *Escherichia coli*. *RSC Adv.* **2014**, 4, 58717–58719.
- **Taylor**, T. A., & Unakal, C. G. (2021). *Staphylococcus aureus*. *StatPearls [Internet]*.
- Venkatesan KR**, Vajrai R, Nithyadevi M, Arun KP, Uma Maheswari K, Brindha P. 2013. Characterization and Antimicrobial effect of silver nanoparticles synthesized from *Bacillus subtilis* (MTCC 441). *Int J Drug Dev Res.* 5:187–193.

Références

- _ **Yadav**, TP, Yadav, RM et Singh, DP (2012). Broyage mécanique : une approche descendante pour la synthèse de nanomatériaux et de nanocomposites. *Nanosciences et nanotechnologies* , 2 (3), 22-48.
- Yurtluk**, T., Akçay, FA, & Avci, A. (2018). Biosynthèse de nanoparticules d'argent à l'aide du nouveau *Bacillus* sp. SBT8. *Biochimie préparative & biotechnologie* , 48 (2), 151-159.
- **Zhang, X. F.**, Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.

Annexe

Annexe1 : Matériel

- Becher en verre
- Erlenmeyer en verre
- Micropipette
- Bec benzène
- Spatule
- Flacon en verre
- Tubes à essais
- Boite de pétri
- barreau magnétique
- Agitateur
- anse de platine
- éprouvette dégrader
- plaque chauffante

Annexe 2 : Produits chimiques

- Nitrate d'argent (AgNO_3)
- Eau distillée
- Ethanol

Annexe 3 : Appareils

- Centrifugeuse (ROTINA 380 R) (Sigma 2-16P)
- Autoclave (AE-75 DRY)
- Etuve (Mettler)
- Agitateur-incubateur de paillasse KS 3000
- Réfrigérateur

- l'hotte
- sonicateur
- Spectrophotométrie UV-visible du marque (Agilent Technologie Cary 100 UV Vis).



- Microscope électronique à balayage (MEB) du marque (ZEISS, EVO15).



- Analyse par spectroscopie réflectance totale atténuée (ATR-FTIR) du marque (Agilent Technologie, Cary 600).



Annexe4 : Milieux de culture utilisée (Composition en g / l L d'eau distillée)

- **Bouillon nutritif (BN)**

- Polypeptone.....5 g
- Extrait de levure3 g
- Glucose.....20 g

➤ **Gélose nutritive (BN)**

- Polypeptone.....5 g
- Extrait de levure3g
- Glucose.....20 g
- Agar agar 15g

➤ **Gélose Mueller Hinton (MH)**

- Poudre déshydraté..... 38g

Annexe 5 : Les solutions

➤ Solution de *Saccharomyces cerevisiae*

- Levure de boulanger.....10g
- _Saccharose.....10g
- Bicarbonate de sodium.....0,5g
- l'eau distillée100 ml

➤ Solution d'argent

- Nitrat d'argent (AgNO_3)0.8g
- l'eau distillée1l

➤ Solution d'AgNPs

- poudre d'AgNPs10mg
- l'eau distillée1ml

Résumé

Le processus de biosynthèse pour la production des nanoparticules est considéré comme un processus durable, respectueux de l'environnement, sans toxines et biocompatible. Celui-ci peut être synthétisé en utilisant des bactéries et des levures comme agents réducteurs et stabilisants. Les bactéries pathogènes *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Saccharomyces cerevisiae* ont été utilisées pour former les nanoparticules d'argent. Ces nanoparticules sont consacrées par diverses méthodes d'analyses physico-chimiques telles que ATR-FTIR, UV-vis, MEB et évalué in vitro leur effet antimicrobien par la méthode de diffusion de puits en milieu solide. Les nanoparticules d'argent synthétisées ont été montrés un effet bactéricide très efficace contre les quatre types des bactéries (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). La somme des résultats obtenus au cours de cette étude montre clairement que Les nanoparticules d'argent possèdent un potentiel important pour les activités biologiques investiguées. De ce fait, Les bactéries et les levures ont été efficaces dans la synthèse des nanoparticules d'Ag avec une efficacité biologique qui offre la possibilité de l'incorporer dans la composition des produits alimentaires, biomédical et pharmaceutiques.

Mot clés : Argent, Les bactéries pathogènes, levures, nanoparticule, biosynthèse, activité antibactérienne.

Abstract

The biosynthetic process for the production of nanoparticles is considered to be a sustainable, environmentally friendly, toxin-free and biocompatible process. It can be synthesized using bacteria and yeast as reducing and stabilizing agents. Pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* have been used to form silver nanoparticles. These nanoparticles are dedicated by various physicochemical analysis methods such as ATR-FTIR, UV-vis, SEM and evaluated in vitro their antimicrobial effect by the solid-state well diffusion method. The synthesized silver nanoparticles were shown to have a very effective bactericidal effect against the four types of bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). The sum of the results obtained in this study clearly shows that silver nanoparticles have a significant potential for the biological activities investigated. Therefore, bacteria and yeasts were effective in the synthesis of Ag nanoparticles with a biological efficiency that offers the possibility of incorporating it in the composition of food, biomedical and pharmaceutical products.

Keywords: Silver, Pathogenic bacteria, yeast, nanoparticle, biosynthesis, antibacterial activity.

المخلص

تعتبر عملية التخليق الحيوي لإنتاج الجسيمات النانوية عملية مستدامة وصديقة للبيئة وخالية من السموم ومتوافقة حيويًا. يمكن تصنيعه باستخدام البكتيريا والخميرة كعوامل تقليل واستقرار. تم استخدام البكتيريا المسببة للأمراض *Bacillus subtilis*، *Escherichia coli* و *Saccharomyces cerevisiae* لتشكيل جزيئات الفضة النانوية. يتم تخصيص هذه الجسيمات النانوية من خلال طرق تحليل فيزيائية كيميائية مختلفة مثل ATR-FTIR و UV-vis و SEM وتقييم تأثيرها المضاد للميكروبات في المختبر عن طريق طريقة الانتشار في الوسط. وقد تبين أن الجسيمات النانوية الفضية المصنّعة لها تأثير فعال للغاية في قتل الجراثيم ضد الأنواع الأربعة من البكتيريا (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*). يُظهر مجموع النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بوضوح أن جسيمات الفضة النانوية لها إمكانات كبيرة للأنشطة البيولوجية التي تم فحصها. لذلك، كانت البكتيريا والخمائر فعالة في تخليق الجسيمات النانوية الفضية ذات الكفاءة البيولوجية التي توفر إمكانية دمجها في تكوين المنتجات الغذائية والطبية الحيوية والصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: الفضة، البكتيريا المسببة للأمراض، الخميرة، الجسيمات النانوية، التخليق الحيوي، النشاط المضاد للبكتيري