

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

Mémoire de Fin d'Etudes  
En vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER ACADIMIQUE



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté Par :

MEDDOUR Amina

MOKADEM Fadila

Thème :

Biosynthèse des nanoparticules par les souches *Leuconostoc*  
autochtones

Soutenu publiquement le : 20/06/2022

Devant le jury composé de :

Mr BOUAL Zakaria	Pr	Président
Mme DJELLOUL DAOUADJI Soumia	MCB	Examineur
Mr HENNI Abdellah	MCA	Encadreur
Mr BOURICHA M'hamed	MCB	Co-encadreur

Année Universitaire : 2021/2022

# Remerciements

*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.*

*Mes remerciements les plus profonds à mon encadreur Monsieur  
**HENNI Abdellah** pour avoir dirigé ce travail et accepter de  
nous encadrer, pour sa disponibilité, soutien et aide tout au long  
de la réalisation de ce mémoire*

*Nous tenons à remercier mon co-encadreur Monsieur  
**BOURICHA M'hamed**. Toute ma gratitude pour tous les  
précieux conseils donnés, de ses orientations fructueuses et son  
sans cesse accompagnement durant tout le parcours*

*Nous tenons à remercier aussi vivement Monsieur **BOUAL  
Zakaria**, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nous tenons à remercier aussi vivement. Mme :  
**DJELLOUL.DAOUADJI. Soumia** pour avoir examinés et  
évalués ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi à tous les membres de l'équipe de  
laboratoire CRAPC de l'Université Kasdi Merbah Ouargla. En  
particulier à son chef Monsieur **BELKHALFA Hakim** de nous  
avoir accueillis au sein du laboratoire.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail modeste :*

*À mes chers parents pour tout leur sacrifice, leur amour, leur tendresse, soutien et leurs prières tout au long de ma vie scolaire et universitaire. Vous êtes le pilier solide et incontournable en mon parcours, que Dieu vous donne la santé et la vie*

*À mes chers sœur et frère qui m'a aidé à surmonter les difficultés que j'ai rencontrées au cours de ce travail.*

*À mes copines : Aissaoui.O et Nourani.K*

*À mon binôme Fadila*

*À tous ma promotion et spécialement : Bettayeb.W, Ataouate.S ,  
Baassi.S, Cherouili.S, Laggoun.S, Beddouda.A, Lebssise.R,  
Talala.N, Nghenagh.R, Abdellaoui.B*

*Amina*

## *Dédicace*

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout puissant.*

*Spécialement à mon cher père et ma très chère mère*

*À mes chères sœurs Karima et Amina*

*À mes chers frères : Ahmed et Salah*

*À ma grand-mère, mes oncles, mes tantes et à tous mes cousins a tous les membres de ma famille MOKADEM et BENYETTOU petits et grands*

*À ma binôme : AMINA*

*À mes collègues de promo 2022 de M2 microbiologie appliquée et particulièrement chaque un à son nom : Souhiala, wiam, salsabil, safa, soumia, anwar, Nour elhouda, Randa, rachid, ibrahim.*

*À tous mes copines*

*Et enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et soutenu. Et Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer ....*

**FADILA**

<b>Liste des tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b> : Synthèse de nanoparticules à partir des plantes	9
<b>Tableau 2</b> : Biosynthèse de nanoparticules d'argent par les champignons	11
<b>Tableau 3</b> : Caractéristique des bactéries pathogène testées	21
<b>Tableau 4</b> : Les zone d'inhibition des AgNPs produites par les souches LnC1, LnC2, LnC10 contre les bactéries ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enterica</i> )	36

<b>Liste des figures</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b> : Les méthodes de synthèse des nanoparticules	7
<b>Figure 2</b> : La biosynthèse des nanoparticules par différents organismes	10
<b>Figure 3</b> : Image au microscope électronique à balayage de nanoparticules d'argent dérivées de champignons	10
<b>Figure 4</b> : Mécanismes de biosynthèse des nanoparticules	12
<b>Figure 5</b> : Etape de biosynthèse des nanoparticules.	19
<b>Figure 6</b> : les étapes de l'activités antibactérienne des nanoparticules d'argent	24
<b>Figure 7</b> : Le changement de couleur de la solution d'AgNPs	27
<b>Figure 8</b> : Spectres d'absorption UV-visible des AgNPs produits par les souches de <i>Leuconostoc</i> LnC1, LnC2, LnC10	28
<b>Figure 9</b> : Schéma représentatif de synthèse des nanoparticules d'argent	29
<b>Figure 10</b> : La poudre des nanoparticules d'argent	30
<b>Figure 11</b> : La masse obtenu des AgNPs à partir des trois souches de <i>Leuconostoc</i>	30
<b>Figure 12</b> : Spectres infrarouges à transformée de Fourier des AgNPs biosynthétisés par <i>Leuconostoc</i>	32
<b>Figure 13</b> : Images MEB d'AgNPs synthetisés par la souche <i>Leuconostoc gelidum</i>	32
<b>Figure 14</b> : Analyse graphique de l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétiser par la souche LnC1 contre les bactéries ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enterica</i> )	34
<b>Figure 15</b> : Analyse graphique de l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétiser par la souche LnC2 contre les bactéries ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enterica</i> )	34
<b>Figure 16</b> : Analyse graphique de l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétiser par la souche LnC1 contre les bactéries ( <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enterica</i> ).	35
<b>Figure 17</b> : L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre <i>Salmonella enterica</i>	35
<b>Figure 18</b> : L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre <i>Escherichia coli</i>	35
<b>Figure 19</b> : L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
<b>Figure 20</b> : L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre <i>Staphylococcus aureus</i>	36
<b>Figure 21</b> : Schéma représentatif de l'action antibactérienne des nanoparticules d'argent (AgNPs)	38

### Liste des abréviations

Ag	Argent
Ag <sup>+</sup>	Ion d'argent
AgNO <sub>3</sub>	Nitrate d'argent
AgNPs	Nanoparticules d'argent
Au	Or
H	Heure
g	Gramme
IR	Infrarouge
Mg	Milligramme
mM	Milimolaire
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) + hydrogène (H)
Nm	Nanomètre
NPs	Nanoparticules
pH	Potentiel d'Hydrogène
SPR	Résonance plasmonique de surface
MH	Muller-Hinton
MRS	Man Rogosa Sharpe
BN	Bouillon nutritive
BL	Bactérie lactique
Ln	Leuconostoc
MEB	Microscope Electronique a Balayage
$\lambda$	Longueur D'onde
MN	Nanoparticules métalliques
ADN	Acide désoxyribonucléique

ATR	Réflectance totale atténuée
FTIR	Infrarouge à transformée de Fourier
MP	la membrane cytoplasmique
Tr	Tour
UV	Ultra-violet
Vis	Visible
ZnO	Oxyde de zinc
°C	Degré Celsius
M	Micro
ml	Microlitre
%	Pourcentage
ATP	Adénosine triphosphate
Ln C10	<i>Leuconostoc gelidum</i>
Ln C1, LnC2	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp mesenteoides</i>

---

**Table des matières**

Liste des tableau .....	i
Liste des figures .....	ii
Liste des abréviations .....	iii
Table des matières.....	v
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>

**Chapitre I. Généralités**

I.1. Nanotechnologie.....	4
I.2. Nanomatériaux .....	4
I.3. Nanoparticule .....	5
I.3.1. Propriété des nanoparticules d'argent .....	5
I.3.1.1. Propriétés optiques .....	5
I.3.1.2. Propriétés cytotoxiques .....	5
I.3.1.3. Propriétés électriques .....	6
I.3.2. Méthodes de synthèses des NPs .....	6
I.3.2.1. Méthode physique .....	7
I.3.2.2. Méthode chimique .....	8
I.3.3. Méthode biologique.....	8
I.3.3.1. Plants .....	9
I.3.4. Synthèse des NPs par les Microorganismes .....	10
I.3.4.1. Champignons .....	10
I.3.4.2. Algues .....	11
I.3.4.3. Bactéries .....	11
I.3.5. Caractéristiques des <i>Leuconostocs</i> .....	12
I.3.5.1. Habitat des <i>Leuconostocs</i> .....	13
I.3.5.2. Taxonomie et classification des <i>Leuconostocs</i> .....	13
I.3.6. Application des NPs .....	13
I.3.6.1. Activité photocatalytique .....	14
I.3.6.2. Activité anticancéreuse .....	14
I.3.6.3. Activité antibactérienne des nanoparticules .....	14
I.3.7. Dernières avancées sur AgNPs .....	15

**Chapitre II : Matériels et Méthodes**

II.1. Lieu et durée d'études .....	18
II.2. Matériel biologique .....	18

## ***Table des matières***

II.3. Méthodes .....	18
II.3.1. Synthèse des nanoparticules d'argents .....	18
II.3.1.1. Revivification des souches .....	18
II.3.1.2. Repiquage et purification .....	18
II.3.1.3. Conservation des souches revivifiées .....	19
II.3.2. Biosynthèse des nanoparticules .....	19
II.3.2.1. Purification des AgNPs .....	20
II.3.3. Etude de l'activité antibactérienne .....	20
II.3.3.1. Milieux de cultures utilisées .....	20
II.3.3.2. Souches bactériennes testées .....	20
II.3.3.3. Caractéristique des souches testée .....	20
II.3.3.4. Méthode de diffusion sur milieu gélosé .....	23
II.3.4. Caractérisation des nanoparticules .....	24
II.3.4.1. Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) .....	24
II.3.4.2. Spectroscopie UV-visible .....	25
II.3.4.3. Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	25

## **Chapitre III. Résultats et discussions**

III.1. Biosynthèse des nanoparticules d'argent .....	27
III.1.1. Purification des nanoparticules d'argent .....	30
III.1.2. Rendement des nanoparticules synthétisées .....	30
III.2. Caractérisation des nanoparticules d'argent .....	31
III.2.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR).....	31
III.2.2. Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	32
III.3. Activité antibactérienne .....	32
III.3.1. Mode d'action des AgNPs .....	37
Conclusion et perspective .....	40
Référence bibliographiques .....	43

Annexe

Résumé

# **Introduction générale**

### **Introduction générale**

Les nanosciences et nanotechnologies font depuis plus de vingt ans l'objet de nombreux travaux, au sein et à l'interface de disciplines scientifiques multiples, comme la physique, la chimie, la biologie, les sciences de l'ingénieur ou les sciences humaines et sociales. Les particules ayant un diamètre inférieur à 100 nm peuvent être définies comme des nanoparticules (NPs). Pour cela, les recherches sur les nanotechnologies suscitent des espoirs importants en raison des propriétés particulières de la matière à l'échelle nanométrique qui permettent d'envisager de nouvelles fonctions jusqu'ici inimaginables. (**Saravanan et al., 2017 ; Dong et al., 2019**). De nombreux scientifiques et économistes ont signalé une augmentation considérable de l'utilisation des nanomatériaux répondre à la demande émergente dans différents domaines d'application avec le développement de nouveaux matériaux (**Maurer-Jones et al., 2013**).

Nanobiotechnologie, bionanotechnologie et nanobiologie sont des termes qui ont émergé en référence à la combinaison de la nanotechnologie et de la biologie. Grâce à la convergence de ces disciplines, la production de nanoparticules métalliques (MNP) utilisant des matériaux biologiques comme agents réducteurs progresse rapidement. La nanotechnologie est devenue l'une des technologies les plus importantes dans tous les domaines de la science. Elle repose sur la synthèse et la modulation de nanoparticules, ce qui nécessite des modifications importantes des propriétés des métaux.

Les nanoparticules ont été synthétisées en utilisant des produits chimiques toxiques et des procédures physiques à haute énergie (**Dipak et Sankar, 2014**). Pour pallier ce problème, les synthèses biologiques présentent de grands avantages tels que des effets écologiques. Des bactéries, des levures, des algues, des champignons, des plantes sont utilisées pour la fabrication de nanoparticules (**Varshney et al., 2012**). L'utilisation de ces organismes ou matériaux naturels en particulier, a proposé une méthode fiable, simple, non toxique et respectueuse de l'environnement. (**Dipak et Sankar, 2014**). Parmi ces méthodes biologiques, les bactéries ont été plus importantes en raison de leur simplicité et de leur production pure (**Vidhya et al., 2014**).

Les bactéries se sont avérées être un bon candidat pour la synthèse biologique de nanoparticules car elles produisent des nanoparticules de manière extracellulaire par la réduction d'ions métalliques en particules métalliques. De plus, les possibilités exceptionnelles de production de nanoparticules par les bactéries peuvent être dues à un taux de reproduction plus rapide et à une culture relativement plus facile (**Saratale et al., 2018**) A ce jour, les nanoparticules sont majoritairement préparées à partir de métaux, à savoir l'argent (**Sinha et Paul, 2014**), l'or (**Arunachalam et al., 2014**), le cuivre (**Lee et al., 2013**), le zinc (**Darroudi et**

*al.*, 2013), fer (Nadagouda *et al.*, 2010), palladium (Khazaei *et al.*, 2013) et titane (Rajakumar *et al.*, 2012).

Parmi les nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont reçu beaucoup d'attention dans divers domaines. (Dipak et Sankar, 2014). Les Ag-NPs ont de nombreuses applications pratiques, telles que les thérapies antibactériennes et anticancéreuses, les diagnostics et l'optoélectronique, la désinfection de l'eau et d'autres applications cliniques/pharmaceutiques. Ainsi, sont généralement de l'argent métallique destiné à la stérilisation et possèdent des activités antimicrobiennes, anti-levures, antifongiques et antivirales car ils ont une plus grande surface par masse (Chaudhary *et al.*, 2020).

L'objectif de cette étude consiste à synthétiser des nanoparticules d'Ag par une méthode biologique à partir du surnageant de culture des bactéries *Leuconostoc* autochtone et l'étude de l'activité antibactérienne.

# **Chapitre I**

## **Généralités**

## Chapitre I. Généralités

### I.1. Nanotechnologie

La première description théorique de la nanotechnologie a été proposée par Richard P. Feynman lors de sa conférence de 1959 intitulée “There’s Plenty of Room at the Bottom” (Khan et al., 2019) faisant référence à la production de nouveaux matériaux à l’échelle nanométrique comprise entre 1 et 100 nm. La National Science Foundation (USA) a défini la nanotechnologie comme la capacité à comprendre, contrôler et manipuler la matière au niveau des atomes et des molécules individuels (**de Jesus et al., 2021**).

La nanotechnologie est une discipline considérée par divers auteurs comme une révolution technologique de pointe, étant donné que les matériaux de taille nanométrique ont des caractéristiques uniques qui peuvent améliorer les processus et les caractéristiques de d’autres matériaux dans un large éventail des domaines (**Fashandi et Leung, 2018**). La nanotechnologie est un domaine en plein essor dans la recherche moderne, impliquant la synthèse de nanoparticules (**Maheo et al., 2022**).

### I.2. Nanomatériaux

L’Organisation Internationale de Normalisation (ISO) a défini le « nanomatériau » comme un « matériau ayant une dimension à l’échelle nanométrique ou ayant une structure interne ou une structure de surface à l’échelle nanométrique » (ISO, 2010) et la « nanoparticule » en tant que « nano-objet avec les trois dimensions externes à l’échelle nanométrique » où nano-échelle est définie comme la plage de taille d’environ 1 à 100 nm (ISO, 2008) (**Boverhof et al., 2015**).

« Nanomatériau » signifie un incident naturel ou matériel manufacturé contenant particules, à l’état non lié ou sous forme granulé ou sous forme d’agglomérat et où, pour 50 % ou plus des particules dans la distribution de la taille des nombres, un ou plus de dimensions externes est dans la taille gamme 1 nm-100 nm. Dans des cas spécifiques et lorsque cela est justifié soucieux de l’environnement, de la santé, sécurité ou compétitivité le nombre seuil de répartition par taille de 50 % peut être remplacé par un seuil compris entre 1 et 50 % (**Rauscher et al., 2019**).

### I.3. Nanoparticule

Les nanoparticules ont retenu l'attention en raison de leur petite taille qui se traduit par une grande surface, Nanoparticules (NPs) sont une large classe de matériaux qui comprennent des substances particulières, qui ont une dimension inférieure à 100 nm au moins (**Laurent et al., 2010**). Selon la forme générale, ces matériaux peuvent être 0D, 1D, 2D ou 3D (**Tiwari et al., 2012**). Les NPs ont attiré une grande attention en raison de leurs propriétés inhabituelles et fascinantes et de leurs applications avantageuses. Ainsi, l'utilisation des nanoparticules est largement répandue dans différents domaines tels que les industries mécaniques, centrales électriques, procédés d'alliage, fabrication de supraconducteurs, usines électroniques, traitement des eaux usées usines, industries pharmaceutiques et institutions médicales (**Anbia et Amirmahmoodi, 2016**).

#### I.3.1. Propriété des nanoparticules d'argent

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs propriétés physiques, électrique, chimiques et biologiques unique par rapport à leurs homologues à l'échelle macro (**Tran et al., 2013**).

##### I.3.1.1. Propriétés optiques

L'utilisation des AgNPs en tant que composants fonctionnels est de plus en plus populaire. Dans les divers produits et capteurs optiques, l'interaction du AgNPs avec la lumière se produit lorsque les électrons de conduction sur la surface métallique subissent une oscillation collective lorsqu'ils sont excités par la lumière à des longueurs d'onde spécifiques appelées résonance plasmonique de surface et se traduit par des propriétés de diffusion et d'absorption fortes (**Choi et al., 2007**).

##### I.3.1.2. Propriétés cytotoxiques

L'effet cytotoxique des AgNPs dépend de des facteurs spécifiques tels que la taille : la petite taille des particules correspondant au degré de toxicité le plus élevé, l'agrégation : les AgNPs agrégés diminuent l'effet cytotoxique et le revêtement : le revêtement des AgNPs diminue généralement la cytotoxicité des AgNPs.

Les AgNPs ont un effet cytotoxique contre les cellules de mammifères ; les scientifiques ont étudié l'effet cytotoxique des AgNPs non enrobés et la AgNPs recouverts de substances chimiques ou biologiques (**Fahmy et al., 2019**).

### I.3.1.3. Propriétés électriques

Les AgNPs avec leurs propriétés électriques uniques peuvent être utilisés dans les appareils électroniques. La conductance électrique des AgNPs en fonction de la taille (de 4 à 12 nm) qui ont été cultivés en vitrocéramique a été examinée (**Roy et Chakravorty, 1990**). La résistance électrique des films AgNP a été mesurée dans la plage de température entre 80 et 300 K. Il a été constaté que la résistivité de surface augmente de manière linéaire avec des températures allant de 120 à 300 K (**Syafiuddin et al., 2017**).

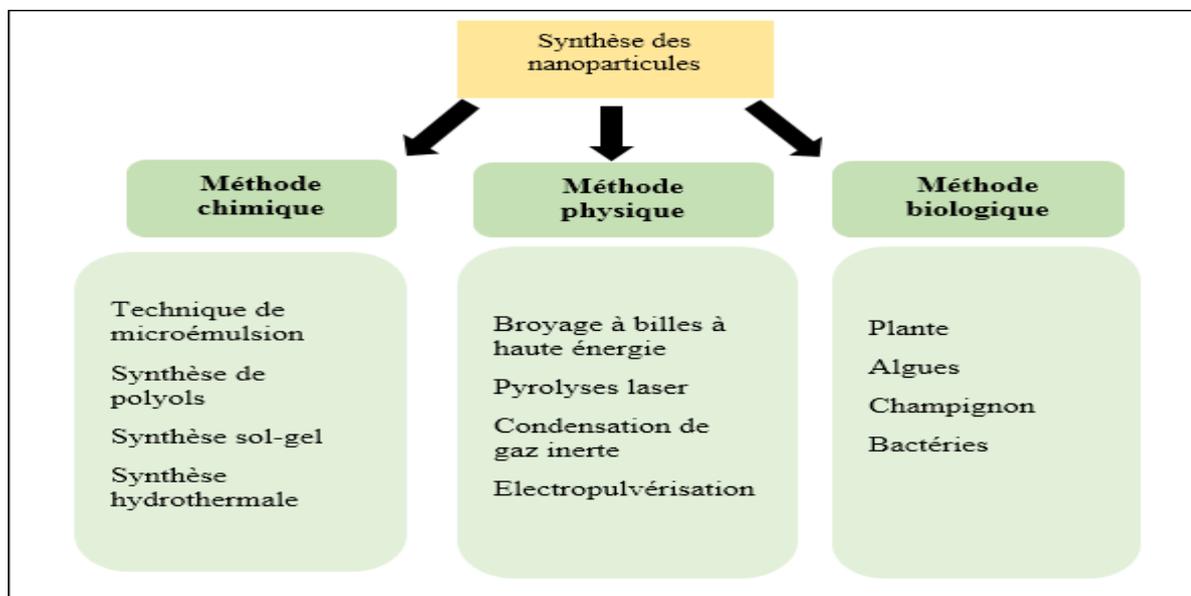
### I.3.2. Méthodes de synthèses des NPs

Les méthodes descendantes et ascendantes sont les deux principales approches de synthèse de nanoparticules (**Wong-Pinto et al., 2020**).

La méthode descendante implique généralement l'utilisation d'un apport énergétique énorme (**Dhand. Ch et al., 2015**). Les approches descendantes incluent l'ablation laser, pulvérisation ionique, broyage mécanique, etc... Bien que les approches descendantes soient relativement plus faciles à mettre en œuvre. Le changement des propriétés physico-chimiques et de surface des nanoparticules est les problèmes considérables associés à cette approche de synthèse de nanoparticules (**AgFarwal et al., 2017**).

Les méthodes ascendantes impliquent l'agrégation d'atomes, de molécules ou de particules plus petites pour former des nanoparticules (**Liu et al., 2011**). Initialement, la formation de blocs nanostructurés se produit, suivi de l'assemblage pour produire nanoparticule finale (**Atida et al., 2022**).

Ainsi, la synthèse des nanoparticules se fait par des méthodes chimiques, physiques et biologiques (**Fig. 1**). Les procédures biologiques sont encore au stade de développement (**Khan et al., 2019**).



**Figure 1** : Les méthodes de synthèse des nanoparticules (**Khan et al., 2019**).

### I.3.2.1. Méthodes physiques

Ces méthodes présentent généralement des matières premières pour le broyage, des tensioactifs qui aident à recouvrir la surface afin d'éviter les processus d'agrégation et de surchauffe, et des supports fluides qui se comportent comme un solvant de réaction. Le séchage et le broyage et la condensation de gaz et la technique pyrolyse au laser sont des méthodes utilisées dans la synthèse des NPs (**de Jesus et al., 2021**).

Dans la méthode de broyage, le mouvement des billes transfère leur énergie cinétique au matériau broyé. Cette entraîne la rupture de leurs liaisons chimiques et la rupture des matériaux broyés en particules plus petites avec surfaces créées (**Xing et al., 2013**).

La technique de Condensation de gaz inerte est l'une des méthodes de synthèse de NP qui emploie gaz inertes (par exemple He ou Ar) et substrat refroidi à l'azote liquide titulaire pour la préparation des NP. Les matières évaporées sont transportées avec des gaz inertes et condensé sur le substrat fixé avec de l'azote liquide (**Raffi et al., 2007**). Il a été constaté que la taille moyenne des particules augmentait avec augmentation de la température d'évaporation et de la pression du gaz He et était dans la gamme de 9 nm à 32 nm (**Gracia-Pinilla et al., 2010**).

La technique de pyrolyse au laser CO<sub>2</sub> est un procédé de synthèse en phase vapeur. (**Daraio et al., 2012**). Dans ce processus, les produits condensables résultants sont générés à partir du

produit chimique induit par laser réactions à l'interface du faisceau laser et de la molécule Flux de réactifs en phase gazeuse/vapeur. Un de critères pour induire un couplage d'énergie dans le système de réaction est que l'un des réactifs/précurseurs doit être capable d'absorber grâce au mode vibrationnel résonnant du laser CO<sub>2</sub> infrarouge (IR) radiations (**Jing et al., 2014**).

### **I.3.2.2. Méthode chimique**

Les méthodes les plus utilisées sont : sol-gel, la microémulsion, solvothermique et hydrothermale. En plus de ceux-ci, il existe des produits chimiques réducteur qui sont souvent utilisées en raison de leurs capacités à contrôler la taille et la morphologie (**Iravani et al., 2014**).

Dans la méthode de traitement sol-gel, il existe deux types de composants à savoir, "sol" qui est un colloïdal de particules solides dans un liquide « gel » qui est un polymère contenant du liquide. Ainsi, ce processus comprend la création de « sols » dans le liquide qui conduisent à la formation d'un réseau de particules discrètes ou de polymères en réseau par la connexion des particules de sol. L'hydrolyse et la condensation sont les étapes typiques du procédé sol-gel, dans lequel le premier utilise l'eau pour désintégrer les liaisons du précurseur qui est aussi la première étape dans la formation de la phase gel. Ce processus est ensuite suivi d'une condensation qui conduit à la formation de nanomatériaux après que l'excès d'eau est éliminé pour déterminer la structure finale du matériau (**Behnajady et al., 2011**).

La synthèse des NPs par microémulsion peut être défini comme une méthode thermiquement stable, constituant minimum de trois composants. Les molécules de surfactant créent l'interface couche séparant les phases aqueuse et organique, réduit la tension interraciale entre la microémulsion et le excès de phase et agissent comme une barrière stérique empêchant la coalescence des gouttelettes (**Solanki et al., 2011**). Le système de microémulsion consiste à l'élaboration des gouttelettes sphériques. La micellaire inversée sans système agit comme un site de réaction pour la synthèse des NPs (**Malik et al., 2012**).

### **I.3.3. Méthode biologique**

En raison d'une culture plus facile, d'un taux de croissance rapide et de leur capacité à se développer dans des conditions ambiantes de pH, de température et de pression, des micro-organismes comme les bactéries, les champignons, les levures et les algues, aussi des plants sont généralement préférés pour la synthèse de nanoparticules (**Saravanan et al., 2021**).

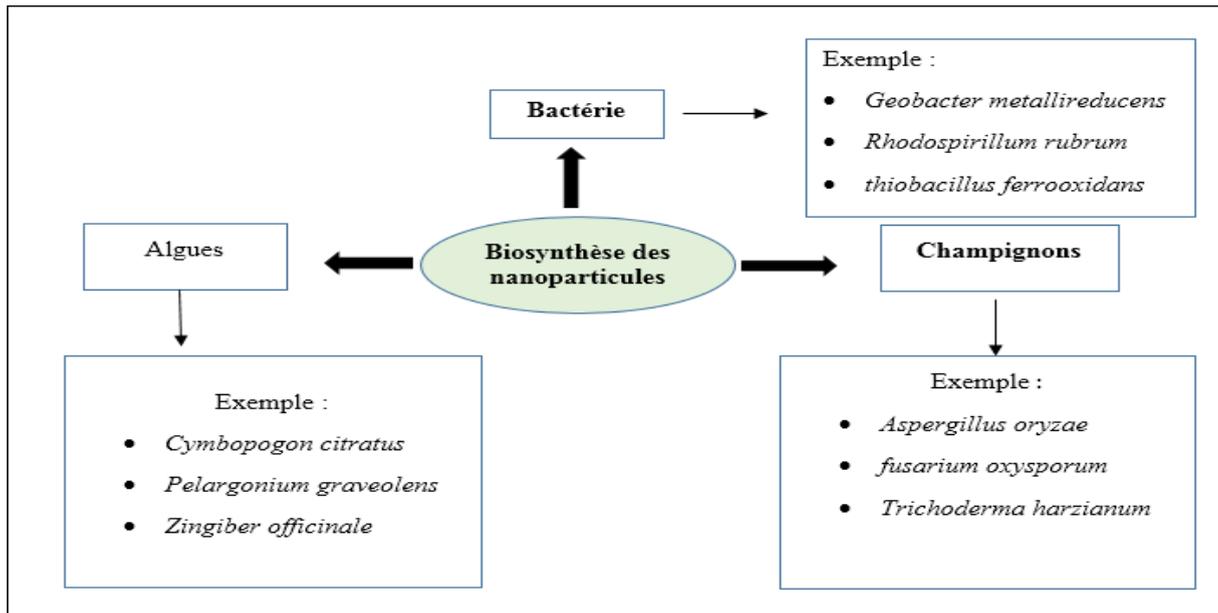
**I.3.3.1. Plantes**

La plupart des études confèrent la production de nanoparticules par les plantes qui étaient connus pour être stables que les nanoparticules synthétisées par des micro-organismes. La production des nanoparticules par les plantes repose sur divers facteurs. Le type de traitement avec des paramètres optimisés est très indispensable à la synthèse de nanoparticules (**Pandit et al., 2022**).

**Tableau 1** : Synthèse de nanoparticules à partir des plantes.

NPs	Plante	Taille (nm)	Application	Référence
Ag	<i>Morus alba L.</i> <i>Panax ginseng</i> <i>Dolichos lablab</i> <i>Alternanthera bettzickiana</i> <i>Thymus vulgaris</i>	80–150 5–15 4–16 5–15 30	Antibactérien Anticancéreux et antiviral Antibactérien et Anticancéreux Antibactérien et anticancéreux Anticancéreux et antioxydant	<b>Razavi et al., 2020</b> <b>Sreekanth et al., 2018</b> <b>Kahsay et al., 2018</b> <b>Vaali- mohammed,2017</b> <b>Heidari et ail., 2018</b>

De nombreuses bactéries, champignons et plantes ont montré leur capacité à synthétiser des nanoparticules métalliques (**Fig. 2**) (**Katas et al., 2018**).

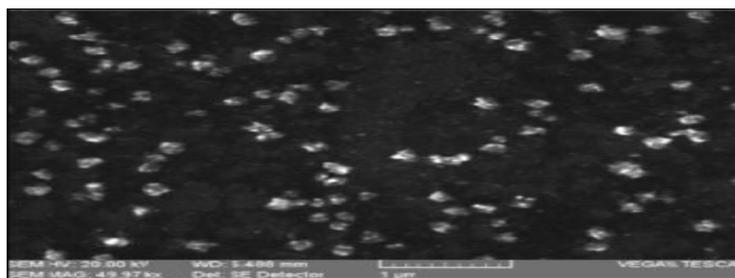


**Figure 2** : La biosynthèse des nanoparticules par différents organismes (Sook Sin Chan *et al.*, 2022).

### I.3.4. Synthèse des NPs par les Microorganismes

#### I.3.4.1. Champignons

La biosynthèse de nanoparticules à l'aide de champignons est largement utilisée et considérés comme excellents candidats pour la synthèse des nanoparticules par les métaux (**Fig. 3**) et de sulfure métallique en raison de la présence d'une variété d'enzymes dans leurs cellules et de la simplicité de leur manipulation. Les champignons, comparés aux bactéries, synthétisent une grande quantité de nanoparticules (**Tab. 2**). En plus, les champignons sécrètent plus de protéines, ce qui entraîne une productivité plus élevée de nanoparticules (Nasreen *et al.*, 2014).



**Figure 3** : Image au microscope électronique à balayage de nanoparticules d'argent dérivées de champignons (Nasreen *et al.*, 2014).

**Tableau 2** : Biosynthèse de nanoparticules d'argent par les champignons (Nasreen et al., 2014).

Type de champignon	Taille de nanoparticule
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. em. Snyder & Hansen	20–40 nm, sphérique, triangulaire
<i>Collitotrichum spp.</i>	20–40 nm, sphérique
<i>Trichothecium spp.</i>	5–200 nm, Triangle, hexagonal
<i>Verticillium luteoalbum</i> (Link) Subram.	10 nm, sphérique
<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>viridis</i>	Nanoplaques triangulaires, pentagonales et hexagonales de 10 à 60 nm

#### I.3.4.2. Algues

Les algues sont connues pour l'accumulation des ions métallique lourds et possèdent une capacité exceptionnelle à les remodeler en des formes plus malléables (Fawcett et al., 2017). En raison de ces attributs séduisants, les algues ont été prévus comme organismes modèles pour la fabrication de bio-nanomatériaux. Les extraits d'algues contiennent des glucides, des protéines, des minéraux, de l'huile, des graisses, acides gras polyinsaturés avec les composés bioactifs comme les antioxydants (polyphénols, tocophérols), et les pigments comme caroténoïdes (carotène, xanthophylle), chlorophylles et phycobilines (phycocyanine, phycoérythrine) (Michalak et Chojnacka, 2015). D'après les rapports disponibles, la synthèse des NPs implique premièrement la préparation d'extrait d'algue et le précurseur ioniques suivi par incubation du mélange (Sharma et al., 2016). La réaction est initiée par mélanger l'extrait d'algue liquide avec la solution de précurseur métallique. Typiquement, le changement de couleur du mélange réactionnel délimite comme signature visible pour l'initiation de la réaction qui illustre la nucléation, suivie par la croissance des NPs, (Sharma et al., 2016 ; Prasad et al., 2016 ; Fawcett et al., 2017).

#### I.3.4.3. Bactéries

Les cellules microbiennes sont considérées comme des bio-usines potentielles pour la synthèse de particules sulfurées d'or, d'argent et de cadmium (Iravani et Varma, 2020). Les nanoparticules sont synthétisées par processus de bioréduction. Les enzymes réductases extracellulaires produites par les micro-organismes réduisent les ions métalliques à des nanomètres. Le dosage des protéines des micro-organismes révèle que l'enzyme réductase dépendante du NADH est impliquée dans la bioréduction des ions d'argent en nanoparticules d'argent. L'enzyme réductase tire ses électrons du NADH, qui est ensuite oxydé en NAD<sup>+</sup> (Fig

4). L'enzyme est également oxydée en même temps par la réduction des ions argent en nanoargent (Hulkoti et Taranath, 2014).

La biosynthèse médiée par les micro-organismes peut être intra et extracellulaire, ce dernier étant plus pratique en raison de la récupération de nanoparticules ne nécessitant pas de traitement supplémentaire. Dans les deux cas, la réduction des métaux est catalysée par des enzymes et d'autres substances organiques qui peuvent être sécrétées dans la paroi cellulaire ou à l'extérieur de la cellule. Bien que les études actuelles n'aient pas encore complètement décrypté les mécanismes par lesquels les sources biologiques synthétisent des nanoparticules métalliques, il existe un consensus que les principales voies impliquent l'oxydation enzymatique, réduction, adsorption et chélation avec des peptides ou polysaccharides des parois cellulaires (Wong-Pinto et al., 2020).

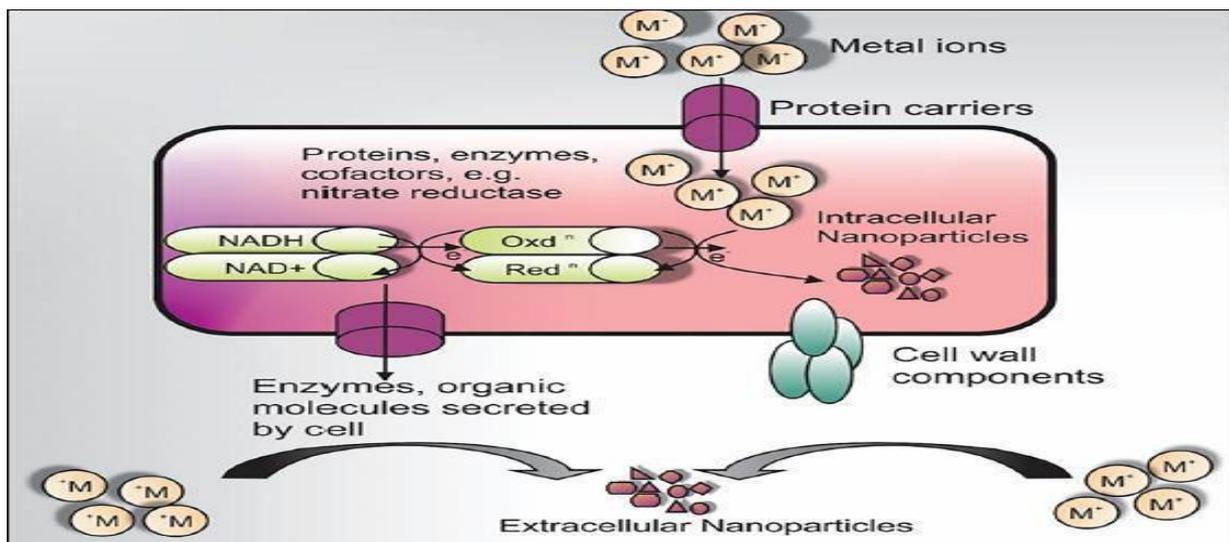


Figure 4 : Mécanismes de biosynthèse des nanoparticules. (Salunke et al., 2016).

Parmi les microorganismes utilisés dans notre étude ; bactérie de genre *Leuconostoc*

### I.3.5. Caractéristiques des *Leuconostocs*

Les *Leuconostocs* sont des bactéries mésophiles (croissance optimale 25° C), est positif pour la coloration de Gram, a catalase négative, en forme de coques souvent ellipsoïdales, non mobiles. Elles sont des aérotolérants, obligatoirement hétérofermentaires (Byung et al., 2017). Ils se produisent généralement par paires et en chaînes. Les *Leuconostocs* sont nutritionnellement exigeants, nécessitant une source d'acides aminés et de vitamines ainsi qu'un glucide fermentable pour l'énergie. Habituellement, ils poussent bien à de Man, Rogosa, et bouillon Sharpe mais pauvre en lait, nécessitant souvent des suppléments de vitamines B, de

Minéraux et d'acides aminés pour la croissance. Spécifique les acides aminés dont ils ont besoin sont l'aspartate, le glutamate, la valine, la leucine, l'isoleucine et, selon les souches, l'histidine, la méthionine, tryptophane, arginine et cystéine (Liu et al., 2016).

#### **I.3.5.1. Habitat des *Leuconostocs***

Les bactéries lactiques existent dans des habitats riches en nutriments. On les trouve dans les matières végétales et les fruits en décomposition, les produits laitiers, la viande et le poisson fermentés, les betteraves, les pommes de terre, la purée de pommes de terre, la choucroute, le levain, les légumes marinés, l'ensilage, les boissons, les plantes, l'eau, les jus, les eaux usées et la carie dentaire (orale, génitale, intestinal et respiratoire) humains et animaux. Ils font partie du microbiote sain de l'intestin humain (König et al., 2009).

#### **I.3.5.2. Taxonomie et classification des *Leuconostocs***

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, et son décrit pour la première fois par Orla-Jensen en (1919) et la morphologie constitue la base de classification des bactéries lactique (Lahitim et al., 2012).

Les études taxonomiques de *Leuconostoc* sont traditionnellement basées sur métabolisme des glucides ou tests physiologiques, etc. Récemment sur la composition cellulaire en acides gras, profils de protéines cellulaires solubles totales, composition de base de l'ADN et hybridation ADN-ADN Numérique l'analyse de ces données devient monnaie courante (Ogier et al., 2008).

La classification selon le manuel de BERGEY 2009 :

Règne : Bacteria

Division : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Lactobacillales

Famille : Leuconostocaceae

Genre : *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus*, *Weissella*

#### **I.3.6. Application des NPs**

Les nanoparticules sont utilisées dans de nombreux domaines, Ils ont été largement utilisés comme produits électroniques dans l'industrie, agents antibactériens dans l'industrie de la santé, le stockage des aliments, revêtements textiles et un certain nombre d'applications environnementales. En tant qu'agents antibactériens elles présentent des propriétés totalement

différentes en raison de l'énergie de surface plus élevée, etc., qui sont des propriétés inhabituelles et uniques des métaux, donnant lieu à d'énormes applications dans divers domaines.(Poulose *et al.*, 2014).

#### **I.3.6.1. Activité photocatalytique**

Les photocatalyseurs à nanoparticules métalliques ont suscité un intérêt récent en raison de leur forte absorption du visible et de l'ultraviolet. L'énergie absorbée par les électrons de conduction métallique et les champs électriques intenses à proximité, créés par l'effet de résonance plasmon de surface localisée, apporte la contribution cruciale de l'activation des molécules sur le métal nanoparticules qui facilite la transformation chimique. Il existe maintenant de nombreux exemples de réactions réussies catalysées par des nanoparticules supportées de métaux purs et d'alliages métalliques entraînées par la lumière à température ambiante ou modérée. Celles-ci des exemples démontrent que ces matériaux constituent un nouveau groupe des photocatalyseurs efficaces pour convertir l'énergie solaire en l'énergie chimique et que les mécanismes sont distincts de ceux des photocatalyseurs semi-conducteurs (Peiris *et al.*, 2016).

#### **I.3.6.2. Activité anticancéreuse**

Les cellules cancéreuses présentent une division cellulaire incontrôlée et provoquent une mortalité notable chez les hommes et les femmes et ont été estimées à représenter un tiers de la disparité entre les sexes et d'autres problèmes de santé majeurs problèmes mondiaux (Bray *et al.*, 2018), il est donc urgent pour des traitements non toxiques, peu coûteux et efficaces avec un minimum Effets secondaires. À l'heure actuelle, les nanoparticules d'argent ont une activité contre plusieurs types de lignées cellulaires cancéreuses, telles que la cellule A549 (Saravanakumar *et al.*, 2019) et la cellule MCF-7 (Barai *et al.*, 2018).

#### **I.3.6.3. Activité antibactérienne des nanoparticules**

Les ions d'argent sont connus pour leurs efficacités contre une large gamme de micro-organismes. L'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent (AgNPs) a été confirmée sur les bactéries Gram-positives et Gram-négatives ainsi que sur les champignons (Quintero-Quiroz *et al.*, 2019).

Le paramètre le plus important pour l'étude de l'activité antimicrobienne de nanoparticules est la surface du nanomatériau (Lee *et al.*, 2019). Les ions d'argent sont importants pour une meilleure activité antimicrobienne. La plus haute concentration d'ions argent libérés a été observée dans le cas de la plus grande surface de nanoparticules d'argent. Certains auteurs ont

soutenu que le mécanisme d'action antibactérien des nanoparticules d'argent est en raison de la libération d'ions d'argent, alors que l'activité spécifique des nanoparticules d'argent est négligeable. Il a été rapporté que l'efficacité des AgNPs entre 20-80 nm contre *E.coli* est plus importante que les NPs de taille entre 20-80 nm, en raison de la plus petite taille (**Durán et al., 2016**).

L'action antibactérienne des NP Chem.-ZnO et des NP ZnO biosynthétisés à l'aide d'extrait de feuille de *C. halicacabum* pour différentes concentrations a été étudiée contre différents organismes pathogènes tels que les bactéries Gram-positives (*S. saprophyticus*, *B. subtilis*) et les bactéries Gram-négatives (*E. coli* et *P. aeruginosa*), les résultats finaux des études d'action antibactérienne suggèrent clairement que les NP ZnO biosynthétisées à l'aide d'extrait de feuille de *C. halicacabum* pour diverses concentrations ont plus grande activité antibactérienne même à une dose plus faible par rapport aux NP ZnO synthétisés chimiquement. La synthèse chimique peut-être même maintenant conduire à la présence de certaines espèces chimiques toxiques adsorbées sur la surface qui peuvent avoir des effets néfastes sur la santé demandes de soins. Ainsi, les NP Bio-ZnO se connectent très facilement à la membrane cellulaire et pénètrent également à l'intérieur des bactéries (**Nithyaa et Kalyanasundharam., 2019**).

### I.3.7. Dernières avancées sur AgNPs

Une étude a rapporté la synthèse des AgNPs de *Sargassum longifolium* qui ont été examinées pour leurs activités antifongiques à diverses concentrations contre différentes souches fongiques pathogènes, y compris *A. fumigatus*, *Fusarium sp.*, et *C. albicans*. Les résultats ont montré que les AgNPs inhibaient significativement la croissance de chaque champignon souche de manière dose-dépendante (**Chaudhary et al., 2020**).

En 2021, Des AgNPs ont été synthétisées à partir de souches de *Trichoderma*. Il a été constaté que les masses et les activités antibactériennes contre *E. pernyi* des AgNPs biosynthétisés à partir de souches de *Trichoderma* étaient différentes. La structure des nanoparticules est cristalline avec une taille sphérique varie de 5 à 35 nm. La FTIR a révélé les groupements fonctionnels impliqués en tant que coiffage et agent réducteur dans la biosynthèse des AgNPs. (**Qu et al., 2021**).

En autre étude, (Kaplan. O et al) ont fait la synthèse d'AgNPs par *Tricholome* extraits d'ustale et d'*Agaricus arvensis*, Les AgNPs synthétisés étaient de taille moyenne inférieures à 20 nm. L'activité antimicrobienne de la substance synthétisée AgNPs contre les souches bactériennes et fongiques pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus*

---

*aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* et *Candida utilis*) a été déterminée par la méthode de diffusion par disque. La cytotoxicité des AgNPs a été examinée sur le cancer du sein humain (MCF-7), du cancer du poumon (A549), du cancer du côlon (HT-29) et des cellules d'ostéosarcome (Saos-2) par dosage MTT. Les AgNP a présenté un effet anti-prolifératif sur les cellules MCF-7, HT-29 et Saos-2 de manière dose-dépendante par induction des voies de signalisation apoptotiques intrinsèques (Kaplan et al., 2022).

Les AgNPS ont été synthétiser à partir de trois isolats de *Beauveria bassiana* (JS1, JS2 et KA75) et un isolat de *Metarhizium anisopliae* (TT1) ont été évalués pour leur capacité à biosynthétiser les nanoparticules d'argent (AgNPs), les meilleurs rendements et les plus petites tailles de NP ont été obtenus à 60 °C et pH 7,0. Les AgNPs biosynthétisés variaient de 23 à 101 nm de diamètre. La spectroscopie UV-visible a confirmé le pic d'absorption des AgNPs dans la plage de 420 à 454 nm. L'activité antibactérienne de l'AgNP était la plus élevée contre les bactéries gram-négatives *Pectobacterium carotovorum* et *Erwinia amylovora*, et plus faible contre *Bacillus sp.* L'inhibition complète de la croissance végétative du champignon JS2 a été obtenue avec AgNPs synthétisés à 15 µL/mL. Tous les AgNPs montraient une bonne compatibilité avec les champignons à faible concentration (Soleimani et al., 2022).

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

---

## Chapitre II : Matériels et Méthodes

### II.1. Lieu et durée d'études

Ce travail est réalisé au niveau du Plateaux Technique en Analyses Physico-chimiques (PTAPC CRAPC Ouargla). CRAPC est une institution à caractère particulier, principalement pour la recherche. Le développement de nouvelles méthodes analytiques physiques et chimiques ainsi que de nouveaux protocoles de synthèse chimique et d'application, Cette étude a été menée entre le 20 Mars 2022 et 31 Mai 2022. Ce travail vise à biosynthétiser des nanoparticules d'argent (AgNPs) pour une activité antibactérienne.

### II.2. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé sont des bacteries lactique de genre *Leuconostoc gelidum* (Ln C10), *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides* (Ln C1, Ln C2) isolée à partir du lait de chèvre dans la wilaya de Ouargla au niveau de laboratoire du Plateaux Technique en Analyses Physico-chimiques (PTAPC CRAPC).

### II.3. Méthodes

#### II.3.1. Synthèse des nanoparticules d'argents

La réalisation de ce test a été faite par le protocole décrite par (**Garmasheva et al., 2016**).

##### II.3.1.1. Revivification des souches

Les souches sont conservées dans le glycérol ont été revivifiées comme suit : On ensemence inoculum de souche de référence dans 5 ml de bouillon MRS suivie d'une incubation à 30°C pendant 24 heures.

Les résultats sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu MRS liquide.

##### II.3.1.2. Repiquage et purification

Les souches revivifiées ont été purifiées par des repiquages alternatifs sur milieu MRS liquide et ensemencement sur MRS solide par des stries jusqu'à l'obtention de colonies bien distinctes et identiques, puis incubation à 30°C pendant 24 heures (Annexe2), pour l'obtention des souches pures.

### II.3.1.3. Conservation des souches revivifiées

L'ensemencement des souches revivifiées a été effectué sur gélose inclinée (MRS), puis incubé à 30°C jusqu'à l'apparition des colonies (24 à 48 h), puis la souche a été conservée à 4°C (Belkheir, 2017).

### II.3.2. Biosynthèse des nanoparticules

A partir de culture jeune de 18h, les souches de *Leuconostoc* (LnC1, LnC2, LnC10) ont été inoculées dans un flacon contenant 250 ml de bouillon nutritif (BN) stérile. Le milieu inoculé a été incubé à 30°C pendant 24 heures. Après 24 heures, la culture a été centrifugée pour la séparation du surnageant et du culot. La centrifugation a été faite à 4000 tr/min pendant 20 min. Le surnageant obtenu après la centrifugation a été utilisé pour la synthèse des Ag NPs. Une solution de nitrate d'argent 0,8 mM est préparée après sa dissolution dans de l'eau distillée. La solution préparée est ajoutée au surnageant V/V puis le mélange est incubé une nuit à 30°C dans un agitateur orbital à 120 rpm (Fig. 5) (Iravani et al., 2014 ; Ahmad et al., 2020).

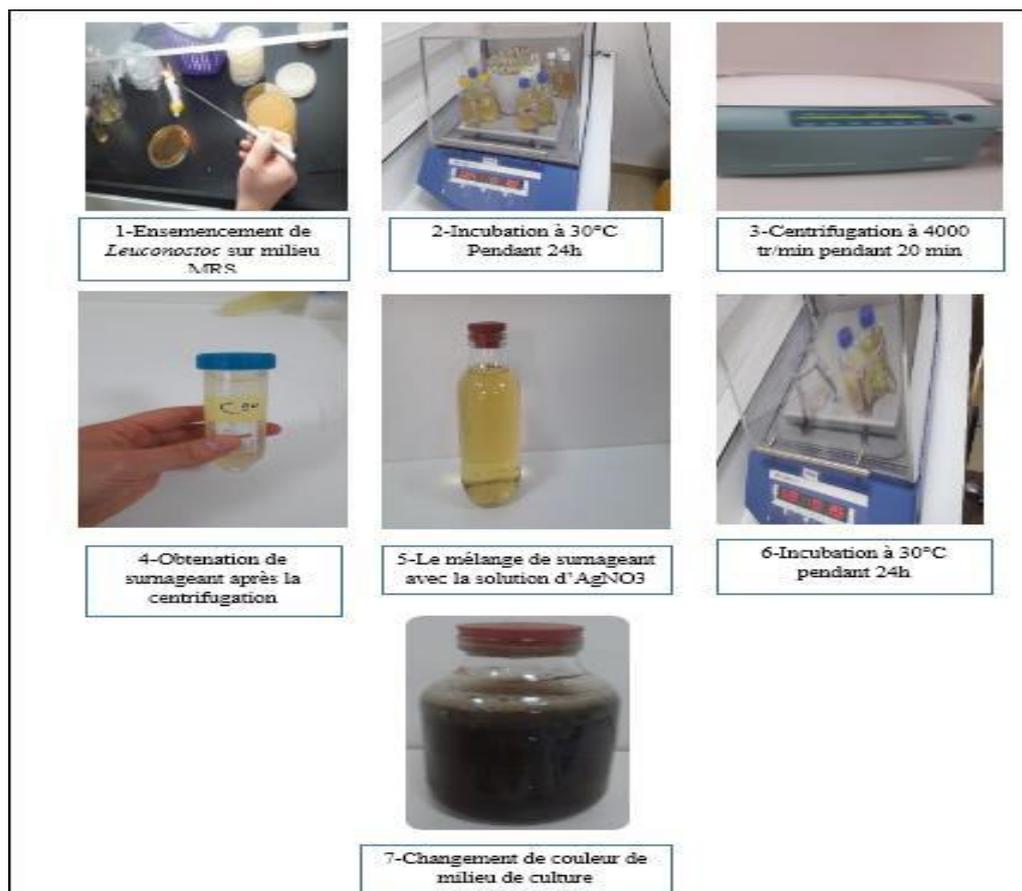


Figure 5 : Etape de biosynthèse des nanoparticules.

### II.3.2.1. Purification des AgNPs

Après la centrifugation de la solution d'AgNPs à 4000 tr/min pendant 20 min, le culot obtenu a été nettoyé avec de l'eau distillé, puis la solution a été placée dans une centrifugeuse à 3500 tr/min pendant 10 min (cette opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'eau distillé pure), Après la centrifugation, une petite quantité d'éthanol a été mélangé avec le culot, ensuite le mélange séché à l'étuve à 89°C (Annexe2) (Fani et al., 2018).

### II.3.3. Etude de l'activité antibactérienne

Les AgNPs ont été démontrés comme un biocide efficace contre une bactérie à large spectre comprenant à la fois les Gram négatif et les Gram positif, dans notre travail on va étudier l'activité des AgNPs contre différentes souches bactériennes.-

#### II.3.3.1. Milieux de cultures utilisées

Un milieu de BN (Bouillon nutritif) est utilisé pour la dilution de la suspension bactérienne des souches testées ; et un milieu de culture a été utilisé pour tester l'action d'AgNPs contre les souches décrites, il s'agit de milieu (Muller Hinton).

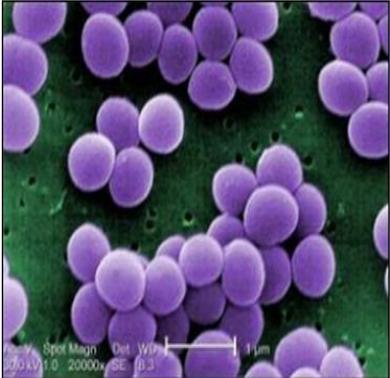
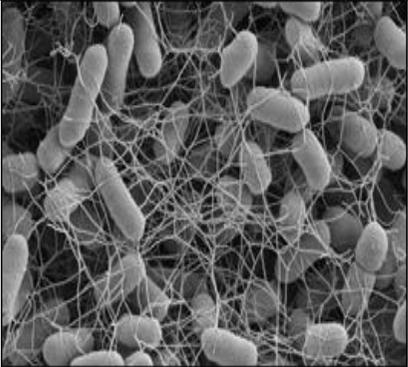
#### II.3.3.2. Souches bactériennes testées

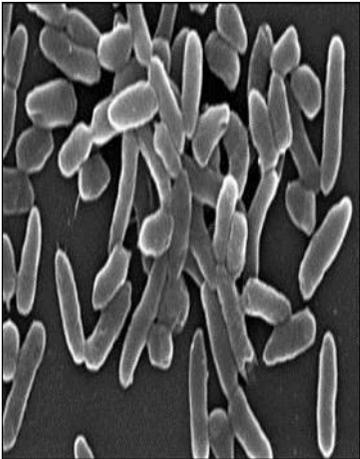
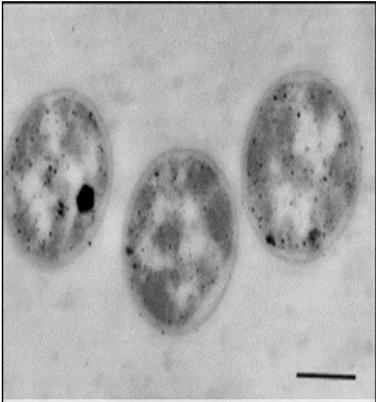
Les souches testées sont : *Salmonella enterica* (ATCC6017), *Staphylococcus aureus* (ATTC43300), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Echerichea coli* (ATCC11229).

#### II.3.3.3. Caractéristique des souches testées

Les caractéristiques des bactéries pathogènes testées dans la présente étude sont représentées dans le tableau suivant (Tab. 3).

Tableau 3 : Caractéristique des bactéries pathogène testées

Bactéries	Image	Description général	Références
<i>S. aureus</i>	 <p>Photographie prise au microscope électronique montrant la forme de coques des cellules de <i>S. aureus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Est une bactérie à Gram positif.</li> <li>• la taille est de ~0,8 µm de diamètre.</li> <li>• Disposé en « chaîne de raisins » sous un microscope.</li> <li>• Ils sont immobiles et ne produisent pas de spores mais possède une capsule.</li> <li>• Capables de se multiplier en milieu ordinaire entre 10 et 42 °C, avec un optimum thermique à 37 °C et à un pH compris entre 7,4 et 7,6.</li> <li>• sont ubiquitaires et capables de vivre dans de nombreux sites</li> <li>• Responsable à des Infections cutanées, Pneumonie, Endocardite</li> </ul>	<p><b>Edwards et Massey, 2011 ; Gardete et Tomasz, 2014 ; Tawk, 2014 ; Daddi Oubekka, 2012.</b></p>
<i>S. enterica</i>	 <p><i>Salmonella enterica</i> sous microscope électronique à balayage</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• C'est un bacille à gram négatif.</li> <li>• Mobile avec flagelle.</li> <li>• la taille est compris entre 1,5 µm par 2,0-5,0 µm.</li> <li>• Sa température optimale est 35-37°C.</li> <li>• Elles sont des anaérobies facultatifs et ne fermentent pas le lactose.</li> <li>• Elles peuvent se développer jusqu'à une activité de l'eau minimale de 0,94.</li> <li>• Responsable de la gastro-entérite, La bactériémie, la fièvre entérique L'état de porteur asymptomatique.</li> </ul>	<p><b>Lamas et al., 2018 ; Lang, 2016 ; Cazals, 2021.</b></p>

<p><i>P. aeruginosa</i></p>	 <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> sous microscope électronique.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se présente sous la forme de bacilles a Gram négatif, non sporulant.</li> <li>• Une bactéries hétérotrophe la taille est de 1-5 µm de long et 0.5-1.0 µm de large.</li> <li>• <i>P. aeruginosa</i> pousse bien à 37 °C, mais il peut survivre à de larges températures allant de 4 à 42 °C.</li> <li>• C'est un aérobie facultatif.</li> <li>• Responsable de méningites et des ostéomyélites , des infections intestinales, respiratoires, urinaires.</li> </ul>	<p><b>Diggle et Whiteley, 2020 ; Galdino et al., 2017.</b></p>
<p><i>E. Coli</i></p>	 <p><i>Escherichia coli</i> sous Micrographies électroniques à transmission</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Une bactérie Gram-négative.</li> <li>• En forme de tige - non sporulant.</li> <li>• La taille est de 2µm à 3µm de long sur 0.7µm de large.</li> <li>• Aéro-anaérobie facultatif.</li> <li>• Température de croissance compris entre 15 à 45 °C, se reproduisant en ~ 20 min.</li> <li>• Responsable de Gastro-entérites et d'infections : urinaires, péritonites, méningites, Pneumonies nosocomiales.</li> </ul>	<p><b>D'Silva et al., 2000</b></p> <p><b>Jang et al., 2017 ; Atacolodjou et al., 2021.</b></p>

#### II.3.3.4 Méthode de diffusion sur milieu gélosé

Les nanoparticules dissoutes dans de l'eau distillée et stérilisées à 100°C pendant 10 minutes ont été testées pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque d'agar. Quatre souches bactériennes ont été utilisées comme souches indicatrices : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Escherichia coli* (ATCC11229), *Salmonella enterica* (ATCC 6017) et *Staphylococcus aureus* (ATTC43300)

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne d'AgNPs en présence des germes testés. Des disques imbibés d'environ 10 µl de l'échantillon de solution d'AgNPs et disposés sur une gélose inoculée avec les souches bactériennes. La diffusion d'AgNPs dans la gélose permet de suivre l'inhibition et la croissance des germes qui se traduira par une zone claire autour de disque dite zone d'inhibition (**Zamanpou et al., 2021**).

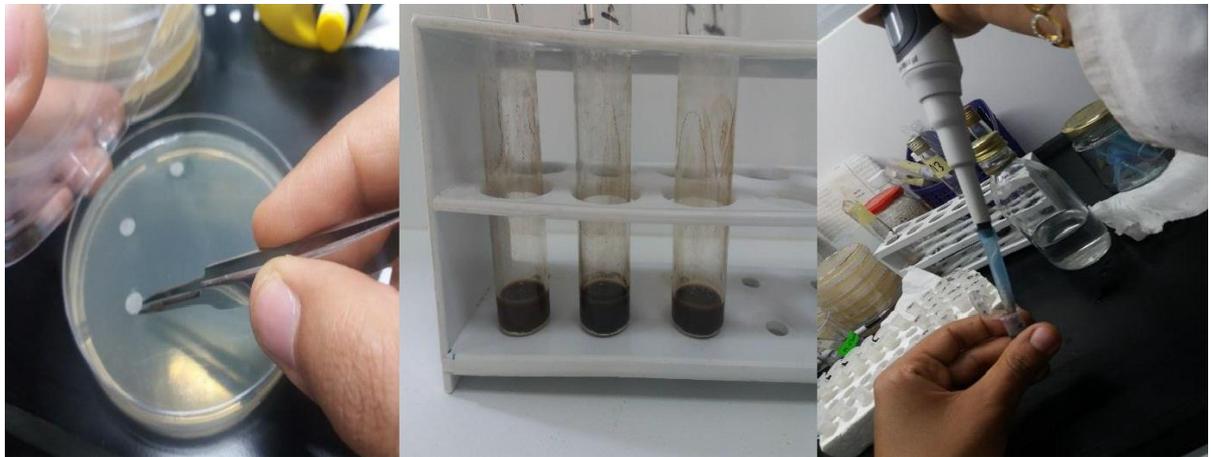
Les colonies de bactéries ont été prélevées directement de la gélose nutritive et mises en suspension dans 9 ml de sérum physiologique stérile à 0,85%, puis nous avons ajusté la turbidité de la suspension initiale en la comparant à 0,5 Mc Farland (**Andrews et al., 2005**). Des dilutions au dixième de la suspension initiale ont été en outre préparées dans une solution saline stérile à 0,85%. Des suspensions de cellules microbiennes ont été inoculées aux plaques de gélose Muller Hinton. Des disques stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 10µl de différentes concentrations d'AgNPs (C1=10 mg/ml, C2=5 mg/ml, C3=2,5 mg/ml, C4= 1,25mg/ml, C5=0,75 mg /ml, et C6 = 0,0,37 mg/ml.) ont été déposés à la surface des boîtes de pétrieensemencées par les souches à tester en les appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile, les boîtes sont ensuite fermées et mise à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures (**Youssef et al., 2020**).



1-la gélose de MH stérile est coulé dans des boîtes de pétri

2-Faire tremper l'écouvillon dans une suspension bactérienne

3-Faire frotter l'écouvillon sur la surface de la boîte pétri



4- Disposition des disques stérile de 6 mm de diamètre trempés dans 10 ul de solution d'AgNPs  
**Figure 6** : les étapes de l'activités antibactérienne des nanoparticules d'argent.

### II.3.4 Caractérisation des nanoparticules

Après la synthèse verte des NP, la caractérisation est une étape importante pour identifier les NP par leur forme, leur taille et leur surface. Une homogénéité de ces propriétés est importante dans de nombreuses applications. A cet effet, diverses techniques de caractérisation physico-chimiques ont été développés comme outils d'analyse. Les techniques courantes de caractérisation des nanoparticules sont les suivantes : spectrophotométrie UV-visible, microscopie électronique à balayage (MEB) et Fourier la spectroscopie infrarouge à transformée (ATR-FTIR) (Madkour et al., 2018).

#### II.3.4.1 Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR)

Il existe plusieurs techniques qui aident à déterminer la structure, la composition, la taille et d'autres éléments de base caractéristiques des NP. Spectroscopie

infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique basée sur la mesure de l'absorption du rayonnement électromagnétique avec des longueurs d'onde dans la région de l'infrarouge moyen (4000–400  $\text{cm}^{-1}$ ). Si une molécule absorbe le rayonnement IR, le moment dipolaire est en quelque sorte modifié et la molécule devient IR active. Un spectre enregistré donne la position des bandes liées à la force et à la nature de liaisons et de groupes fonctionnels spécifiques, fournissant ainsi des informations sur les structures moléculaires et les interactions. (**Blanco Andujar, 2014**), L'analyse de (ATR-FTIR) des AgNPs synthétiser par les souches de *Leuconostoc* a été étudié par Agilet Technologie (Cary 660 Séries FTIR Spectrometer).

#### II.3.4.2 Spectroscopie UV-visible

Le principe du spectromètre UV/Visible consiste en une source munie de deux lampes qui permettent un continuum d'émission sur toute la gamme de longueur d'onde UV-Visible : Lampe au deutérium qui émet des longueurs d'ondes  $\lambda$  de 200 à 600 nm (UV). Lampe au tungstène qui émet des longueurs d'ondes  $\lambda$  de 400 à 800 nm (Visible). Un monochromateur (prisme, ou réseau ou les deux à la fois) permet de n'envoyer à travers la cuve qu'un faisceau monochromatique, il sert à sélectionner les longueurs d'ondes et donc de faire un balayage de la gamme en déplaçant ce monochromateur. Le faisceau de photons à la longueur d'onde  $\lambda$  sélectionnée traverse un miroir qui synchronise le mouvement du monochromateur, puis le faisceau traverse l'échantillon ou la référence, puis un amplificateur permet de comparer l'intensité en sortie par rapport à l'intensité d'émission (**Wang et Ni, 2014 ; Muthusamy et al., 2017**). Dans cette expérience, les caractéristiques d'absorbance des suspensions de particule ont été étudié par un spectrophotomètre UV-Visible (Agilent technologie, Cary 100 UV-VIS).

#### II.3.4.3 Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique capable de produire des images de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons matière. Un faisceau d'électrons est focalisé sur la surface du matériau observé à l'aide d'un jeu de lentilles électromagnétiques entraînant l'émission d'électrons depuis le matériau irradié. Un détecteur va capter ces électrons émis et retranscrire un signal modulé par le nombre d'électrons reçus depuis un point d'impact du faisceau. Pour former une image, le faisceau va balayer une zone de l'échantillon afin que les différents points d'impact forment chacun un point de l'image obtenue (**Muthusamy et al., 2017**). La microscopie électronique à balayage nous informe sur la morphologie de surface des films (**babu Maddinedi et al., 2017**). Les images de microscopie électronique à balayage, présentées dans ce travail ont été réalisées au (PTAPC CRAPC) Ouargla avec un microscope de type ZEISS (EVO 15).

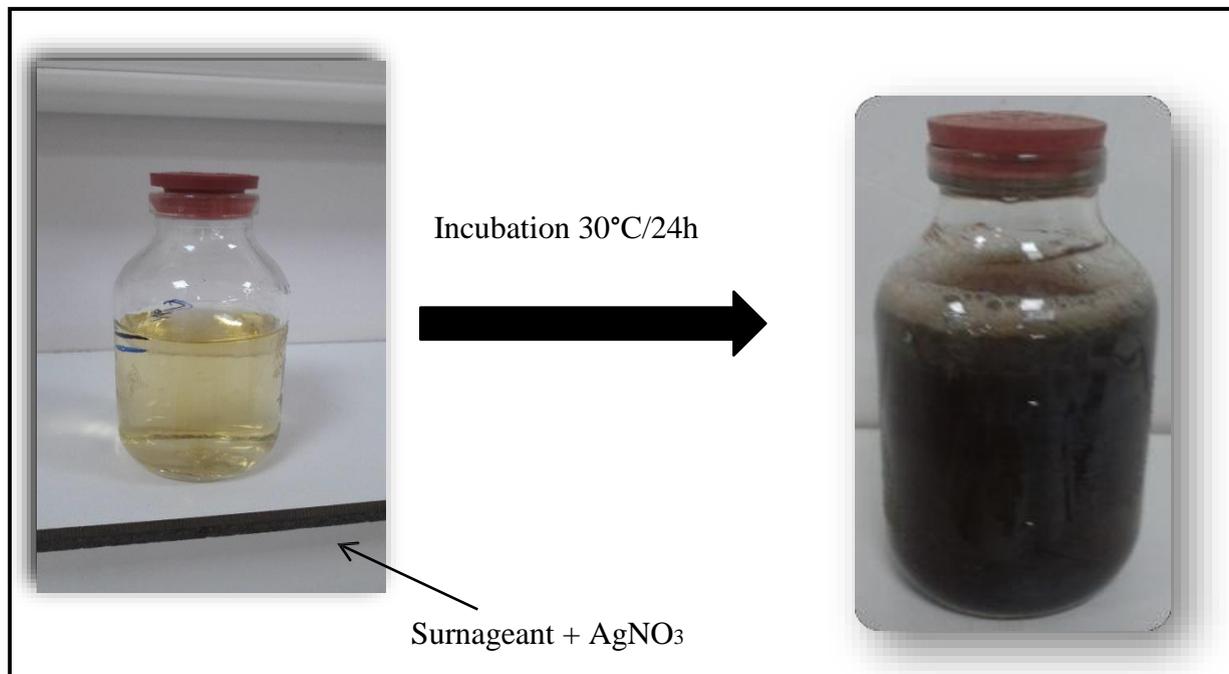
# **Chapitre III**

## **Résultats et discussions**

### Chapitre III. Résultats et discussions

#### III.1. Biosynthèse des nanoparticules d'argent

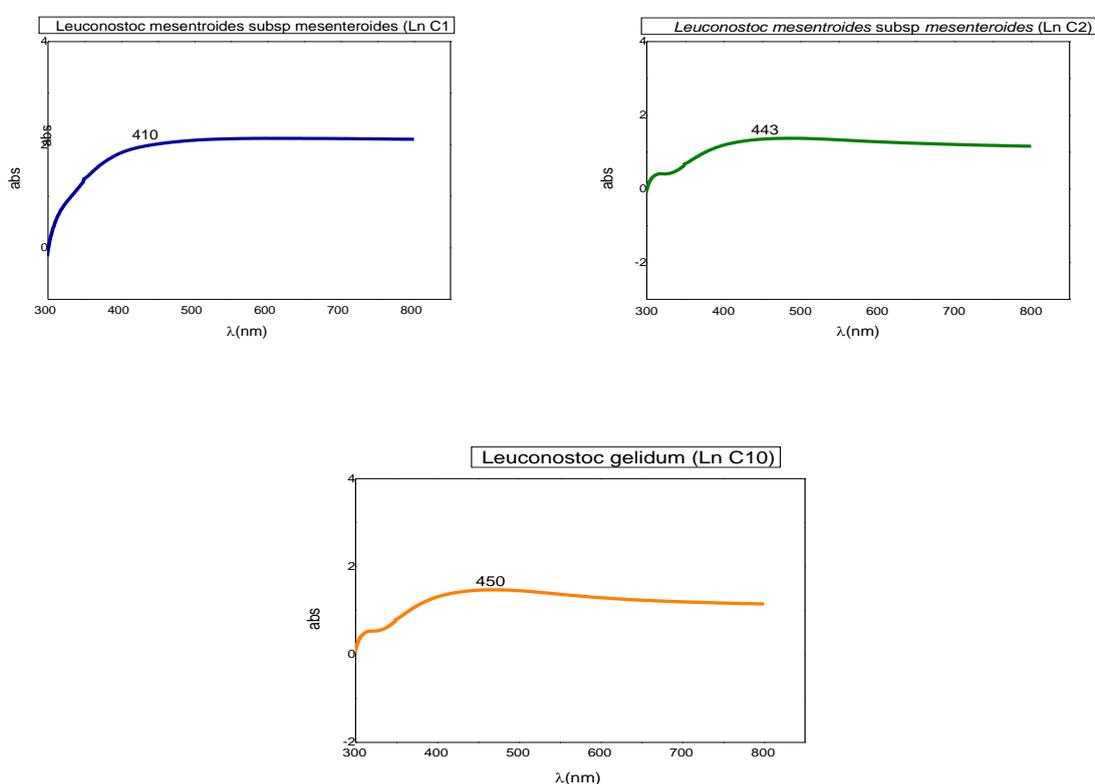
Le changement de couleur de jaune au brun foncé après 24 heures à 30°C est lié à la synthèse des AgNPs (**Fig. 7**). Dans la biosynthèse des nanoparticules d'argent, la décoloration de la solution explique la formation des nanoparticules d'argent par des enzymes, telles que la nitrate réductase qui sécrètent par les bactéries et réduisent le nitrate d'argent en nanoparticules et ce qui était en accord avec les études précédentes (**Jabbar et Hussien, 2021**). L'apparition du brun foncé semble être due à l'excitation de la résonance plasmonique de surface (RPS) des NPs (**Korbekandi et al., 2016**).



**Figure 7** : Le changement de couleur de la solution d'AgNPs.

Ainsi, la formation de NP d'argent a été confirmée par analyse spectrale UV-Vis. (**Singh et al., 2014**). L'observation visuelle du changement de couleur a été rapportée pour le surnageant de *Leuconostoc*, où une couleur jaune à brune foncé s'est formée en raison de la réduction des ions argent en nanoparticules d'argent (**Dhoondia et al., 2012**). Cela appuie le fait que le changement de couleur observé dans l'expérience peut être considéré comme une indication de la formation nanoparticules d'argent.

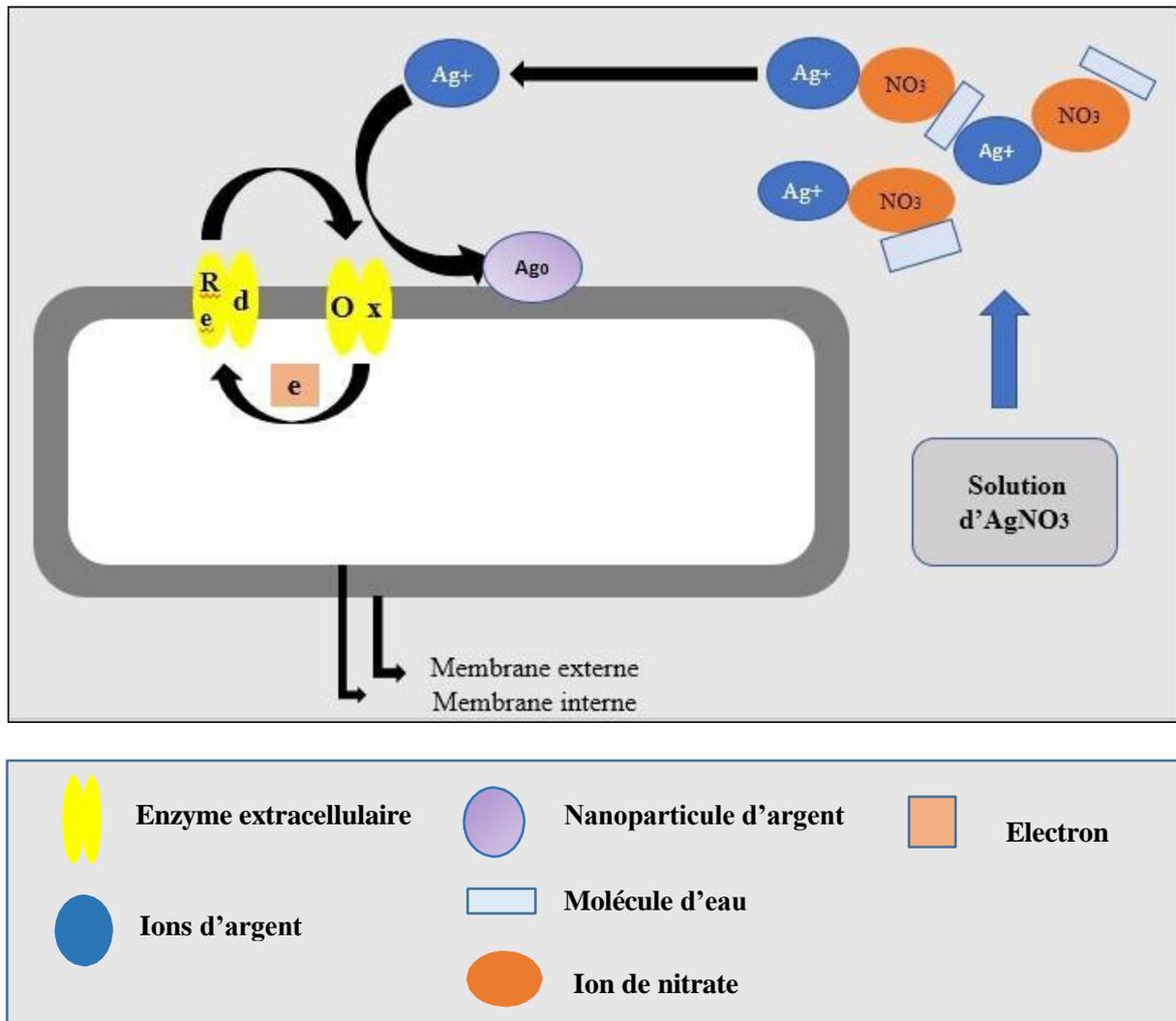
Les méthodes basées sur la spectroscopie UV-Visible se sont révélés être des techniques efficaces pour l'analyse des nanoparticules. La figure 8 représente les spectres d'absorption UV-visible des AgNPs produits par les souches de *Leuconostoc* LnC1, LnC2, LnC10. D'après la figure on observe des pics d'absorptions entre 410-450 nm pour les NPs biosynthétisées. La présence d'un tel pic, attribué à la résonance plasmonique de surface suit à l'excitation collective des électrons de conduction dans le métal (Rajesh et al., 2015). La formation d'un pic d'absorption à 410 nm est rapportée auparavant comme confirmation de la formation d'AgNPs (Jaffat et al., 2017).



**Figure 8 :** Spectres d'absorption UV-visible des AgNPs produits par les souches de *Leuconostoc* LnC1, LnC2, LnC10.

Le principe de biosynthèse des nanoparticules d'argent est un procédé de bioréduction. La voie extracellulaire consiste en la synthèse de nanoparticules médiées par des enzymes présentes sur la membrane cellulaire ou des enzymes libérées dans le milieu de croissance sous forme d'enzyme extracellulaire. Cependant, Le mécanisme exact de la biosynthèse de nanoparticules d'argent utilisant différentes sources microbiennes est inconnu. Ainsi, le mécanisme de biosynthèse proposé est basé sur l'implication de différentes biomolécules telles que les amines, amides, enzymes, co-enzymes, protéines, glucides, etc. présents dans les extrait

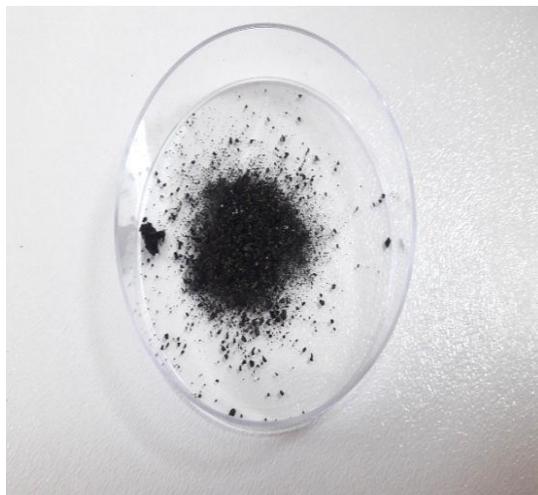
biologiques pour la réduction d'ions métalliques de ( $Ag$ ) à ( $Ag_0$ ). Ainsi, le biomolécules actives qui agissent principalement comme échafaudage en donner des électrons à un ion métallique dans la biosynthèse strictement dépend du type de source biologique utilisée. Les étapes de la bioréduction des nanoparticules d'argent par les bactéries, comme le montre **Figure 9** (Tehri et al., 2022).



**Figure 9** : Schéma représentatif de synthèse des nanoparticules d'argent.

### III.1.1. Purification des nanoparticules d'argent

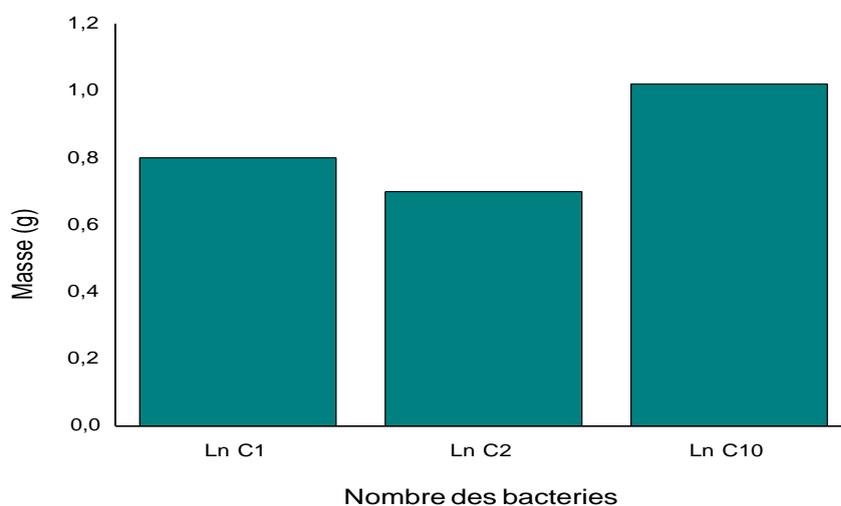
Les AgNPs résultant après séchage de la solution d'AgNPs dans l'étuve à 180°C présentées dans la **figure 10**.



**Figure 10** : La poudre des nanoparticules d'argent.

### III.1.2. Rendement des nanoparticules synthétisées

A partir de la **figure 11** on remarque que la quantité des nanoparticules synthétiser à partir des ions  $\text{Ag}^+$  (0,8mM) est importante. Cela est dû à la croissance rapide des *Leuconostoc* et leur propriété métabolique qui caractérise les souches de *Leuconostoc* et l'existence des enzymes qui participe à la biosynthèse d'AgNPs (**Fatma et Benmechernene, 2013**).



**Figure 11** : La masse obtenu des AgNPs à partir des trois souches de *Leuconostoc*.

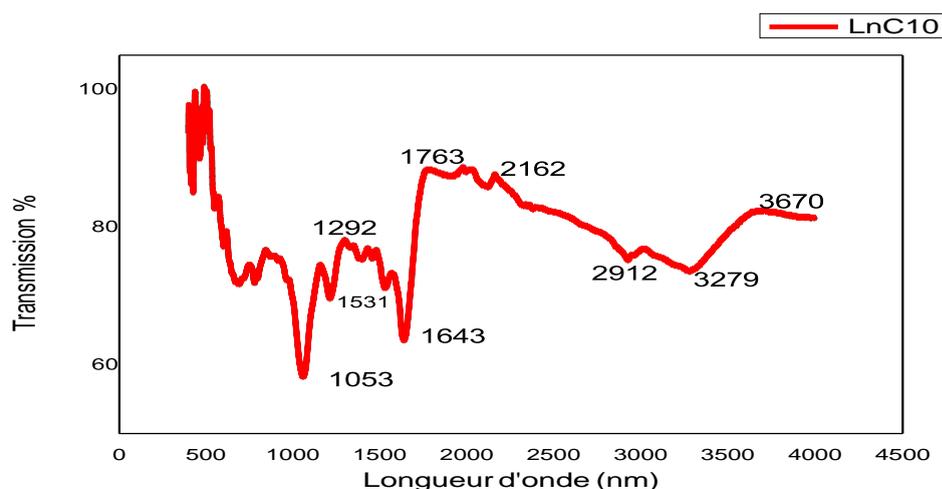
## III.2. Caractérisation des nanoparticules d'argent

### III.2.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR)

L'analyse spectroscopique ATR-FTIR est effectuée pour déterminer l'interaction possible entre l'argent et les molécules bioactives qui sont responsables de la synthèse et de la stabilisation des nanoparticules d'argent. Les spectres ATR ont révélé que Les NPS d'argent synthétisées à partir de des trois souches de *Leuconostoc* Ln C1, Ln C2, Ln C10 présentent des pics à 3670, 3279, 2912, 2162, 1763,1643,1531, 1292 et 1053  $\text{cm}^{-1}$  (**Fig. 12**).

Alors que leur correspondant des vibrations d'élongation a été observées à 2912 et 3279  $\text{cm}^{-1}$  et il est également connu que des interactions peuvent se produire soit par des groupes amino libres ou des résidus de cystéine dans les protéines et par attraction électrostatique de charges négatives de groupes carboxylate des enzymes. Les pics à 1762 et 1727  $\text{cm}^{-1}$  correspondent aux vibrations d'élongation du carbonyle dans les cétones (**Imchen et al., 2022**), les pics à 1531  $\text{cm}^{-1}$  peut attribuent aux vibrations et élongation de N–O (**Yanga et al., 2019**), et le pic à 1292  $\text{cm}^{-1}$  est attribué à C=O des vibrations des acides carboxyliques (**David et Moldovan, 2020**). Ainsi, on observe un pic à 1053  $\text{cm}^{-1}$  peut correspondait à la vibration d'élongation C–N des cétones (**Chand et al., 2021 ; Liu et al., 2018**) et le 1643  $\text{cm}^{-1}$  fait référence à la C–C (**Farrag et al., 2020**).

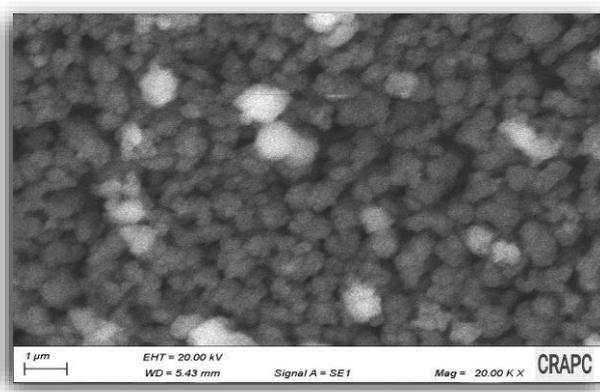
Donc, les résultats d'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) a confirmé la présence de groupe carbonyle résultant d'un résidu d'acide aminé et d'une protéine peptidique qui peut se lier fortement au métal, de sorte que la protéine peut agir comme protéine de coiffage des AgNPs qui empêche l'agglomération et stabilise les particules dans le milieu. Cette preuve suggère que les molécules biologiques sont responsables de la biotransformation des ions argent en AgNPs et de sa stabilisation en milieu aqueux. C'est un caractère bien connu de la protéine qu'il peut se lier aux AgNPs via un groupe amine libre et que la stabilisation des AgNPs peut être due à la protéine liée à la surface (**Khalid et al., 2017**).



**Figure 12** : Spectres infrarouges à transformée de Fourier des AgNPs biosynthétisés par *Leuconostoc*.

### III.2.2. Microscopie électronique à balayage (MEB)

L'analyse par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) a montré que les AgNPs synthétisées sont en grappes, agrégé et formées de particules sphériques. Les images MEB (**Fig. 13**) mettent en évidence la taille des particules (10-30 nm) d'AgNPs. Les résultats obtenus sont similaires à celle de **Imchen et al., (2022)**.



**Figure 13** : Images MEB d'AgNPs synthétisés par la souche *Leuconostoc gelidum*.

### III.3. Activité antibactérienne

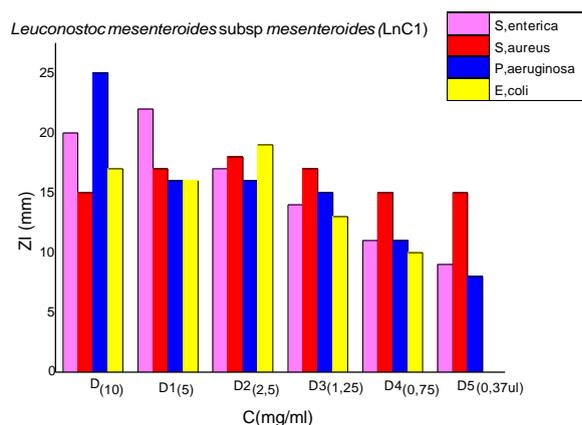
L'activité antimicrobienne des nanoparticules (AgNPs) synthétiser par les souches *Leuconostoc mesentroides* subsp *mesenteroides* (Ln C1, Ln C2) et *Leuconostoc gelidum* (Ln C10) a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose. Le teste a été réalisés contre des bactéries Gram-négatives et Gram- positives : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC9027), *Escherichia coli* (ATCC11229), *Salmonella enterica* (ATCC 6017) et *Staphylococcus aureus* (ATTC43300). Les inoculum ont été préparés dans un bouillon Nutritif (BN), à partir

de cultures jeunes de bactérie (24h). Des boîtes de gélose MH ont été inoculées par écouvillonnage. Six disques de papier filtre stériles ont été placés sur chaque boîte. Sur le papier filtre, 10 µl de chaque nanoparticule ont été versés. Les boîtes de pétri ont été incubées 24 h à 37 °C. Par la suite, les zones d'inhibition ont été mesurées.

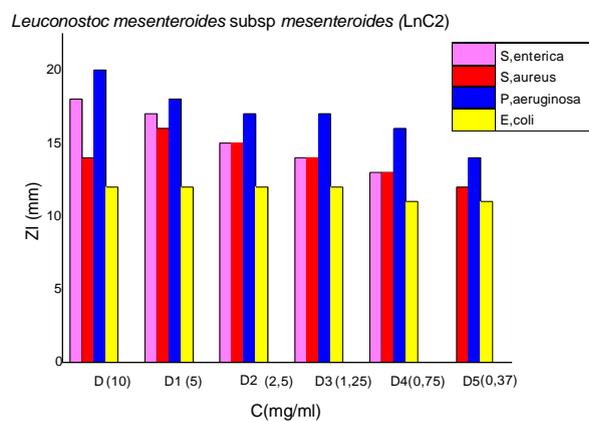
Les résultats sont affichés dans la **figure 14, 15 et 16** et des différences significatives ont été trouvées pour les diamètres de la zone d'inhibition (**Tab. 4**). Les concentrations des AgNPs tester sont : C :10 mg/ml, C1 :5 mg/ml, C2 : 2,5 mg/ml, C3 :1,25 mg/ml, C4 : 0,75 mg/l et C5 :0,37 mg/ml.

Nous pouvons clairement voir que les AgNPs synthétisés par les trois souches de *Leuconostoc* Ln C1, Ln C2, Ln C10 ont montré une zone d'inhibition importante contre *Pseudomonas aeruginosa* (25mm, 18mm et 16mm), suivi de *Salmonella enterica* (22mm, 18mm et 19mm) et *Escherichea coli* (19mm, 13mm et 17mm) (**voir la Fig. 17, 18 et 19 et 20**). Cela pourrait être dû à la construction unique de la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives qui diffère de celle des bactéries Gram-positives ce qui était en accord avec les études de Ghiuță et al. (**Ghiuță et al., 2018**). Ainsi, selon les résultats de l'analyse graphique on remarque que les AgNPs présentent des zones d'inhibition importantes pour la souche LnC1 (**Fig. 14**) mais faible zone d'inhibition pour la souche LnC2 et LnC10 (**Fig. 15 et 16**) contre la bactérie *Staphylococcus aureus* (18mm, 16mm, 15mm). Des résultats proches ont également été rapportés par Palithya et al. (**Palithya et al., 2021**) contre les Grams positifs.

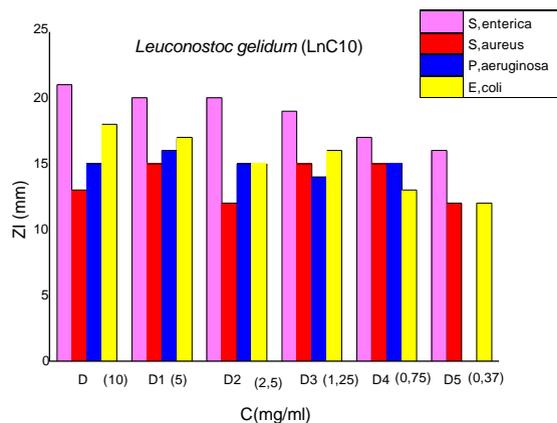
D'après les résultats, l'activité antibactérienne est remarquablement plus importante pour les bactéries à Gram négative. Les bactéries à Gram-négatives ont une membrane cytoplasmique, une fine couche de peptidoglycane, une membrane externe contenant des lipo-polysaccharide et un espace périplasmique ou périplasme contenant un réseau lâche de chaînes de peptidoglycane connu sous le nom de peptidoglycane. La couche entre la membrane cytoplasmique et la membrane externe permet facilement la pénétration des AgNPs (**Loo et al., 2018**).



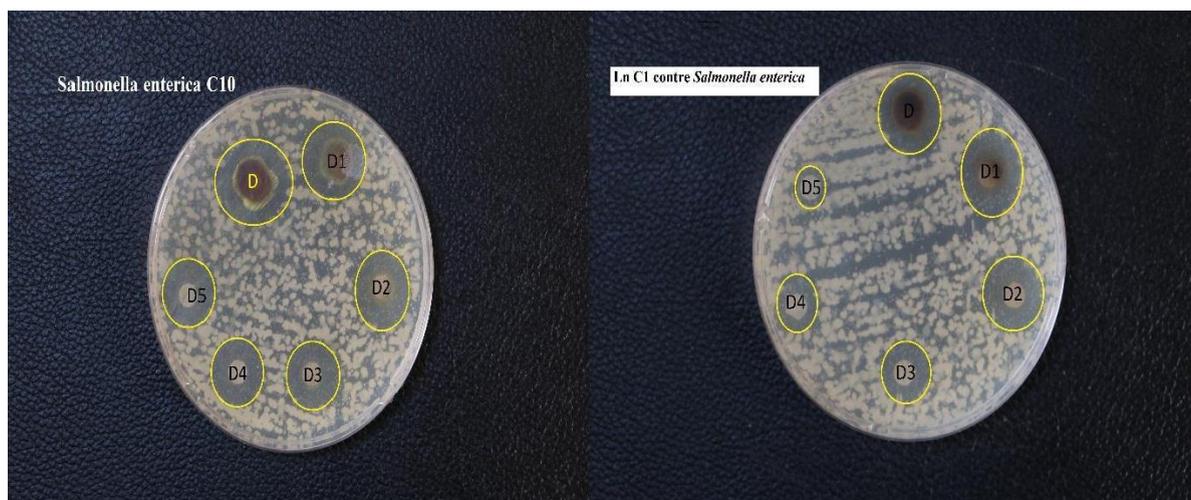
**Figure 14** : Analyse graphique de l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétiser par la souche LnC1 contre les bactéries (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*).



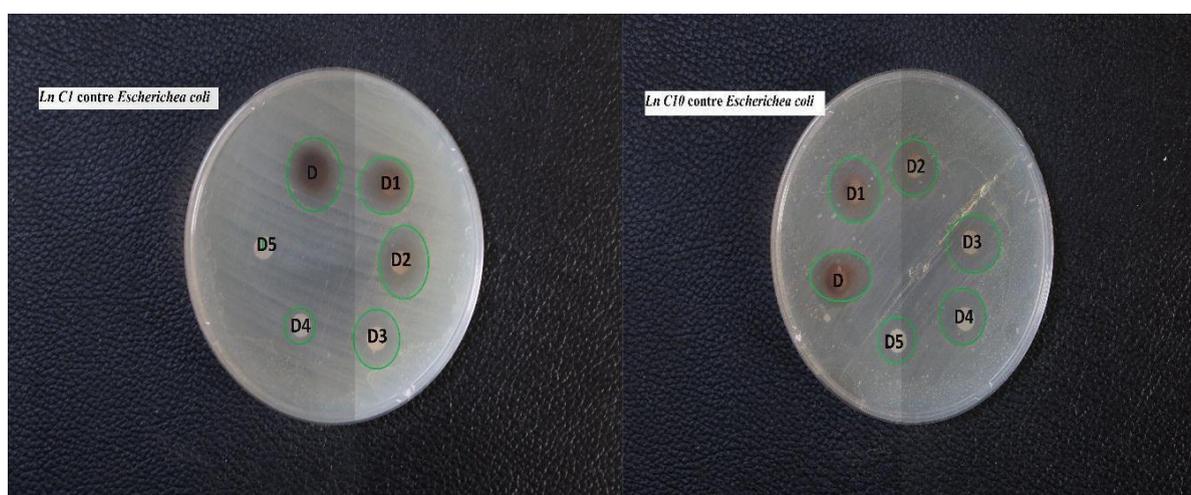
**Figure 15** : Analyse graphique de l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétiser par la souche LnC2 contre les bactéries (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*).



**Figure 16:** Analyse graphique de l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétiser par la souche LnC1 contre les bactéries (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*).



**Figure 17 :** L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre *Salmonella enterica*.



**Figure 18 :** L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre *Escherichia coli*.



Figure 19 : L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

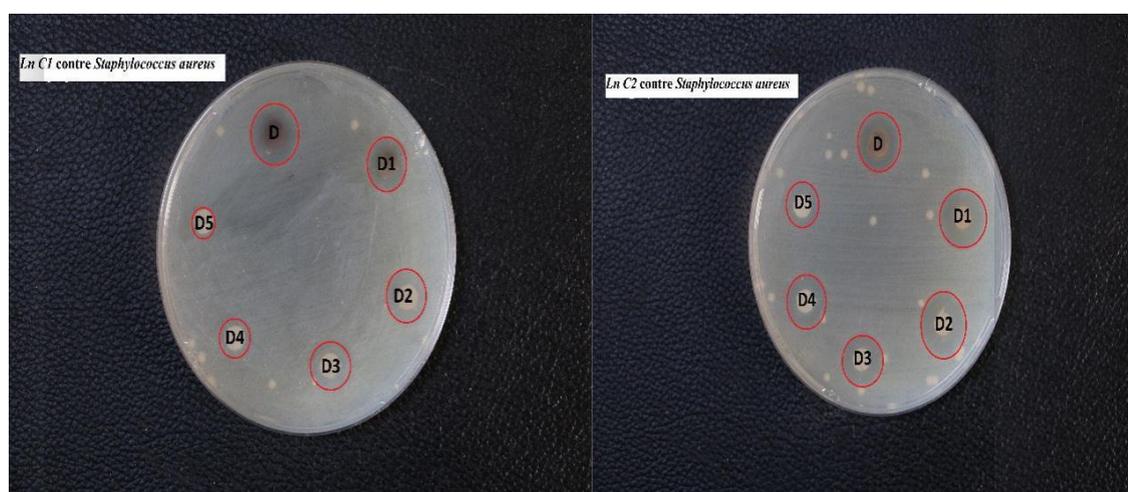


Figure 20 : L'activité antimicrobienne d'AgNPs synthétiser contre *Staphylococcus aureus*.

Tableau 4 : Les zone d'inhibition des AgNPs produites par les souches LnC1, LnC2, LnC10 contre les bactéries (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*).

Bactérie	ZI (mm)																	
	LnC1						LnC2						LnC10					
	D	D1	D2	D3	D4	D5	D	D1	D2	D3	D4	D5	D	D <sub>1</sub>	D2	D3	D4	D5
A	20	22	17	14	11	9	18	17	15	14	13	0	21	20	20	19	17	16
B	15	17	18	17	15	15	14	16	15	14	13	12	13	15	12	15	15	12
C	25	16	16	15	11	8	20	18	17	17	16	14	15	16	15	14	15	0
D	17	16	19	13	10	0	13	12	12	12,6	11,2	11	18	17	15	16	13	12

A : *Salmonella enterica*.

B : *Staphylococcus aureus*.

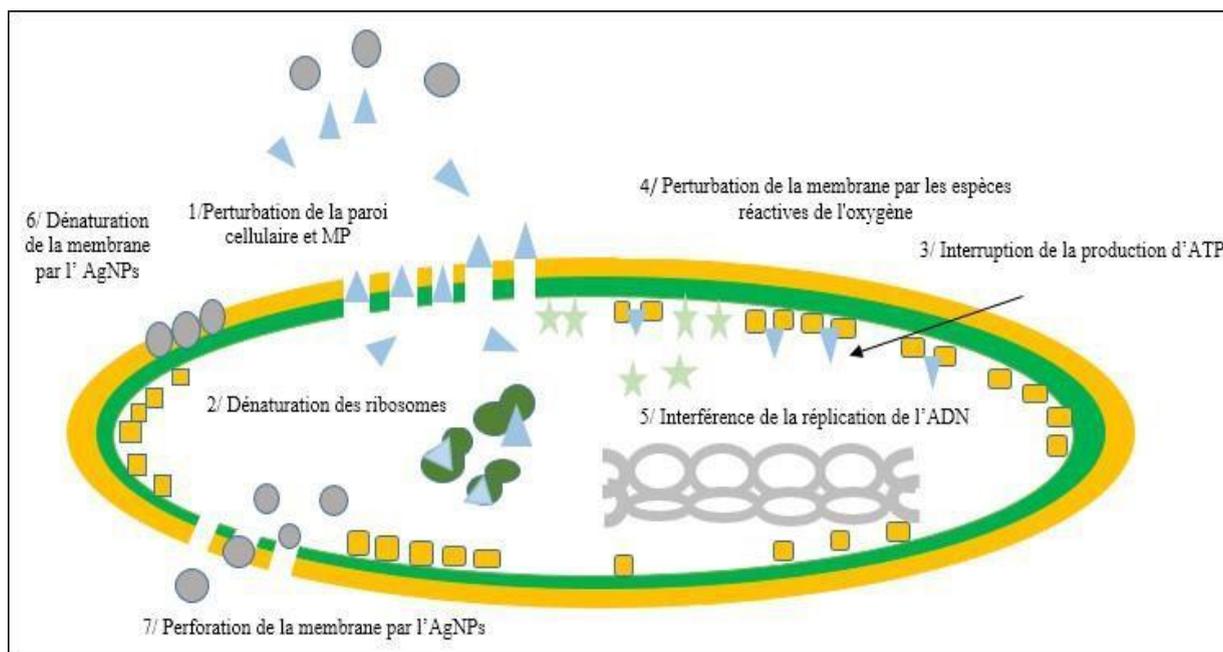
C: *Pseudomonas aeruginosa*.

D: *Escherichia coli*.

### III.3.1. Mode d'action des AgNPs

Le mécanisme exact des effets antibactériens des nanoparticules d'argent reste inconnu, diverses actions antibactériennes ont été proposées (**Fig. 21**). De plus, les nanoparticules d'argent se fixe non seulement sur les membranes cellulaires, mais pénètre également les bactéries. Une fois que l'argent est à l'intérieur des cellules, il se lie à la paroi cellulaire et à la membrane et inhibe le processus de respiration (**Javed et al., 2021**). Dans le cas d'*E. coli*, l'absorption de phosphate et la libération de mannitol, de succinate, de proline et de glutamine sont inhibées par la présence d'argent. Par conséquent, les nanoparticules d'argent peuvent être utilisées comme inhibiteur de croissance efficace dans divers microorganismes et elles sont applicables à différent systèmes de contrôle antibactériens (**Saravanan et al., 2020**).

Les nanoparticules d'argent peuvent continuellement libérer des ions d'argent, ce qui peut être considéré comme le mécanisme de destruction des microbes (**Bapat et al., 2018**). En raison de l'attraction électrostatique et affinité pour les protéines soufrées, les ions d'argent peuvent adhérer à la paroi cellulaire et à la membrane cytoplasmique. Les ions adhérant peuvent améliorer la perméabilité de la membrane cytoplasmique et entraîner une perturbation de l'enveloppe bactérienne (**Khorrami et al., 2018**). Après l'absorption d'ions d'argent libres dans les cellules, les enzymes respiratoires peuvent être désactivées, générant des espèces réactives de l'oxygène et interrompant la production d'adénosine triphosphate (**Ramkumar et al., 2017**) Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) peut être un agent principal qui provoquant la rupture de la membrane cellulaire et de la modification de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Comme le soufre et le phosphore sont des composants importants de l'ADN, l'interaction des ions argent avec le soufre et le phosphore de l'ADN peut causer des problèmes de réplication de l'ADN, de reproduction cellulaire ou même entraîner l'arrêt des micro-organismes. De plus, les ions d'argent peuvent inhiber la synthèse des protéines en dénaturant les ribosomes dans le cytoplasme (**Durán et al., 2016**).



**Figure 21** : Schéma représentatif de l'action antibactérienne des nanoparticules d'argent (AgNPs).

# **Conclusion générale et perspectives**

### Conclusion

Ce travail a visé la biosynthèse des nanoparticules d'argent et l'étude de leur activité antibactérienne à partir des souches bactériennes *Leuconostoc* autochtone.

Dans ce travail, nous avons synthétisé avec succès des nanoparticules d'argent, les échantillons ont été élaborés par la méthode biologique à partir le surnageant de culture des trois bactéries *Leuconostoc Mesenteroides subsp mesenteroides*(Ln C1, LnC2) et *Leuconostoc gelidum* (Ln C 10). Cette e méthode est simple, non couteuse et facile à mettre en œuvre. La présente étude indique que les nanoparticules d'argent obtenues sont très stables.

Le changement de couleur a été confirmée par spectroscopie UV-Visible avec des absorbances à 410 ,443 et 450 nm, et le spectre ATR- FTIR a révélé présenté des pics entre 1053 et 3670  $\text{cm}^{-1}$ .

La structure des AgNPs en utilisant la microscope électronique à balayage, a indiqué des formes sphériques d'une taille de 10 à 30 nm.

Toutes ces techniques de caractérisation nous permettent d'analyser, les propriétés optiques, la morphologie et la qualité de nanoparticules.

Les NPs synthétisées ont montré une puissante activité antibactérienne vis-à-vis quatre souches bactériennes pathogènes : *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec des résultats remarquables où les zones d'inhibitions variant entre 15,3 et 25 mm.

Enfin, Les résultats de ces études ont démontré que les bactéries *Leuconostoc Mesenteroides subsp mesenteroides*, *Leuconostoc gelidum* en présence d' $\text{AgNO}_3$  sont des bioressources rentables et n'implique pas l'utilisation de produits chimiques toxiques pour la synthèse des nanoparticules d'argent.

## *Conclusion générale*

---

### PERCEPECTIVE

- Déterminer le mécanisme exact de biosynthèse des nanoparticules d'Ag.
- Tester l'activité antimicrobienne sur d'autres microorganismes comme les virus et les champignons.
- Biosynthèse d'autres nanoparticules par l'utilisation des autres métaux tels que ZnCl<sub>2</sub>, SnCl<sub>2</sub>, CuSO<sub>4</sub>,...
- Utiliser d'autres types de caractérisation tels que DRX, EDX ...

# **Référence bibliographique**

**Références bibliographiques**

1. Agarwal, H., Kumar, S. V., S. Rajeshkumar., 2017. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach, *Tomsk Polytechnic University*, 3, pp. 406-413.
2. AbdelRahim, K., Mahmoud, S. Y., Ali, A. M., Almaary, K. S., Mustafa, A. E. Z. M., & Husseiny, S. M. (2017). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. *Saudi journal of biological sciences*, 24(1), 208-216.
3. Abduladheem Jabbar, R. (2021). Investigation of Antioxidant and Cytotoxicity Effects of Silver Nanoparticles Produced by Biosynthesis Using *Lactobacillus gasseri*. *Archives of Razi Institute*, 76(4), 781.
4. Andrews J., M., 2005. BSAC standardized disc susceptibility testing method. *J. Antimicrob. Chemother.* 56 pp. 60.
5. Atacolodjou, J. E. H., Hounyovi, J., Dougnon, V., Klotoe, J. R., & Deguenon, E. (2021). Caractérisation moléculaire de la virulence de quelques souches de *Escherichia coli* isolées d'infections urinaires. EPAC/UAC.
6. Babu Maddinedi S., Mandal B. K., Maddili S., K., 2017. Biofabrication of size controllable silver nanoparticles—a green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 167 236-241.
7. Baker, S., Rakshith, D., Kavitha, K. S., Santosh, P., Kavitha, H. U., Rao, Y., & Satish, 2013. Plants: emerging as nanofactories towards facile route in synthesis of nanoparticles. *BioImpacts: BI*, 3(3), 111.
8. Bapat RA, Chaubal TV, Joshi CP, et al. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Mater Sci Eng C*. 2018; 91:881–898.
9. Barai, A.C., Paul, K., Dey, A., Manna, S., Roy, S., Bag, B.G., Mukhopadhyay, C., 2018. Green synthesis of Nerium oleander-conjugated gold nanoparticles and study of its in vitro anticancer activity on MCF-7 cell lines and catalytic activity. *Nano Converg.* 5 (1), 10.
10. Behnajady, M. A., Eskandarloo, H., Modirshahla, N., & Shokri, M. 2011. Investigation of the effect of sol–gel synthesis variables on structural and photocatalytic properties of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Desalination*, 278(1-3), 10-17.
11. Behnajady, M. A., Eskandarloo, H., Modirshahla, N., & Shokri, M. (2011). Investigation of the effect of sol–gel synthesis variables on structural and photocatalytic properties of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Desalination*, 278(1-3), 10-17.
12. Belkheir, Kh., 2017. Caractérisation technologique de nouvelles souches de

- bactéries lactiques isolées de lait de chamelle d'Algérie. Réalisation de ferments lactiques. Thèse doctorant. Université d'Oran Ahmed Ben Bella, Oran, p : 71.
13. Blanco Andujar, C. (2014). *Sodium carbonate mediated synthesis of iron oxide nanoparticles to improve magnetic hyperthermia efficiency and induce apoptosis* (Doctoral dissertation, UCL (University College London)).
  14. C.G. D'Silva, H.D. Bae, L.J. Yanke, K.-J. Cheng, and L.B. Selinger., 2000. Localization of phytase in *Selenomonas ruminantium* and *Mitsuokella multiacidus* by transmission electron microscopy. *Can. J. Microbio*, 46, 391-395.
  15. Cavestri, C. (2020). Étude de la survie et de la virulence de *Salmonella enterica* ssp. *enterica* dans des modèles gastro-intestinaux humains.
  16. Cazals, A. (2021). *Étude de l'impact de la génétique de l'hôte et de la composition du microbiote intestinal sur le portage de Salmonella Enteritidis chez la souris et la poule* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
  17. Chand, K., Jiao, C., Lakhan, M.N., Shah, A.H., Kumar, V., Fouad, D.E., Chandio, M.B., Ali Maitlo, A., Ahmed, M., Cao, D., 2021. Green synthesis, characterization and photocatalytic activity of silver nanoparticles synthesized with *Nigella Sativa* seed extract. *Chem. Phys. Lett.* 763, 138218.
  18. Chaudhary, P., Fatima, F., & Kumar, A. (2020). Relevance of nanomaterials in food packaging and its advanced future prospects. *Journal of inorganic and organometallic polymers and materials*, 30(12), 5180-5192.
  19. Chaudhary, R., Nawaz, K., Komal Khan, A., Hano , C., Abbasi , B. H., Anjum, S., 2020. An Overview of the Algae-Mediated Biosynthesis of Nanoparticles and Their Biomedical Applications, *Biomolecules*, 10, pp. 1498.
  20. Chino, T., Nukui, Y., Morishita, Y., and Moriya, K. (2017). Morphological bactericidal fast-acting effects of peracetic acid, a high-level disinfectant, against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in tubing. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 6:122.
  21. Cho, S. K., Lee, S. J., Shin, S. Y., Moon, J. S., Li, L., Joo, W., ... & Han, N. S., 2015 - Development of bile salt-resistant *Leuconostoc citreum* by expression of bile salt hydrolase gene. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2100-2105.
  22. Choi BH, Lee HH, Jin S, Chun S, Kim SH (2007) Characterization of the optical properties of silver nanoparticle films. *Nanotechnology* 18(7):075706
  23. D'Amato, R., Falconieri, M., Gagliardi, S., Popovici, E., Serra, E ., Terranova, G., Borsellaa ,E., 2013. Synthesis of ceramic nanoparticles by laser pyrolysis: From research to applications, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 104, pp. 461-469

24. Daddi Oubekka.S.2012. *Dynamique réactionnelle d'antibiotiques au sein des biofilms de Staphylococcus aureus Apport de la microscopie de fluorescence multimodale*. Thèse doctorant. L'Université Paris Sud XI, Paris. pp :30.
25. Daraio,C ., Jin S., Silva G. A., V. Parpura, 2012. Synthesis and Patterning Methods for Nanostructures Useful for Biological Applications, *Nanotechnology for Biology and Medicine*, pp.27-24.
26. David, L., & Moldovan, B. (2020). Green synthesis of biogenic silver nanoparticles for efficient catalytic removal of harmful organic dyes. *Nanomaterials*, 10(2), 202.
27. de Jesus, R. A., de Assis, G. C., de Oliveira, R. J., Santana Costa, J. A., da Silva C.M.P., Bilal M., Hafiz M.N. Iqbal, Romanholo Ferreira, L. F., Figueiredo, R. T.,2021, Environmental remediation potentialities of metal and metal oxide nanoparticles: Mechanistic biosynthesis, influencing factors, and application standpoint, *Environmental Technology & Innovation*, 24, 101851.
28. Dhand, C., Dwivedi, N., Loh X. J., Ying, A. N. J., Verma, N. K., Beuerman, R. W., Lakshminarayanan, R., Ramakrishna, S., 2015. Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview, *RSC Advances*, 5, 105003.
29. Dhoondia ZH, Chakraborty H. Lactobacillus mediated synthesis of silver oxide nanoparticles. *Nanomater Nanotechnol*. 2012; 2:17
30. Diggle, S. P., & Whiteley, M. (2020). Microbe Profile: Pseudomonas aeruginosa: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, 166(1), 30.
31. Dong, Y., Zhu, H., Shen, Y., Zhang, W., Zhang, L. (2019). Antibacterial activity of silver nanoparticles of different particle size against Vibrio Natriegens. *PLoS One*, 14(9), e 0222322.
32. Durán N, Nakazato G, Seabra A. Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100(15):6555–6570.
33. Durán, N., Durán, M., de Jesus, M. B., Seabra, A. B., Fávaro, W. J., & Nakazato, G. (2016). Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(3), 789–799.
34. Edwards, A. M., and Massey, R. C. (2011). How does Staphylococcus aureus escape the bloodstream? *Trends Microbiol*. 19, 184–190
35. Fahmy, H. M., Mosleh, A. M., Abd Elghany, A., Shams-Eldin, E., Serea, E. S. A., Ali, A., & Shalan, A. E. (2019). Coated silver nanoparticles: Synthesis, cytotoxicity, and optical properties. *RSC advances*, 9(35), 20118-20136.

36. Fani, M., Ghandehari, F., Rezayi, M., 2018. Biosynthesis of Iron Oxide Nanoparticles by Cytoplasmic Extract of Bacteria *Lactobacillus Fermentum*, *Journal of Medicinal and Chemical Sciences*, 1, pp. 28-30.
37. Farrag, H. M. M., Mostafa, F. A. A. M., Mohamed, M. E., & Huseein, E. A. M. (2020). Green biosynthesis of silver nanoparticles by *Aspergillus niger* and its antiamebic effect against *Allovalkampa spelaea* trophozoite and cyst. *Experimental Parasitology*, 219, 108031.
38. Fatma, C. H., & Benmechernene, Z. (2013). Isolation and identification of *Leuconostoc mesenteroides* producing bacteriocin isolated from Algerian raw camel milk. *African Journal of Microbiology Research*, 7(23), 2961-2969.
39. Galdino, A. C. M., Branquinha, M. H., Santos, A. L. S., & Viganor, L., 2017. *Pseudomonas aeruginosa* and Its Arsenal of Proteases: Weapons to Battle the Host. *Pathophysiological Aspects of Proteases*, pp.381-397.
40. Gardete, S., and Tomasz, A. (2014). Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* 124, 2836–2840.
41. Garmasheva, I., Kovalenko, N., Voychuk, S., Ostapchuk, A., Livins'ka, K., Oleschenko, L., 2016. *Lactobacillus* species mediated synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity against opportunistic pathogens in vitro, *BioImpacts*, 6(4), pp. 219-223
42. GONG X., HUANG D. LIU Y., PENG Z. ZENG G., XU P., CHENG M., WANG R., WAN J., 2018. Remediation of contaminated soils by biotechnology with nanomaterials: biobehavior applications and perspectives. *Crit. Rev. Biotechnol.* 38 455e468.
43. Gracia-Pinilla, M., Martí'nez, E., Silva Vidaurri, G., Pe'rez-Tijerina, E., 2010. Deposition of Size-Selected Cu Nanoparticles by Inert Gas Condensation, *Nanoscale Res Lett*, 5, pp. 180-188.
44. Guglielmotti, D. M., Pujato, S. A., Quiberoni, A., & Suárez, V. B., 2022. Hsp60 gene as a reliable target for taxonomical identification and discrimination of *Leuconostoc* species of dairy origin. *International Dairy Journal*, 126, 105227.
45. Hidayat, M. Y., Nor'Aini, A.R., Rosfarizan, M., Uswatun, H.Z., 2020. Microbial Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles by *Lactobacillus plantarum* TA4 and Its Antibacterial and Antioxidant Activity, *Applied sciences*, 10, pp. 6973.
46. Imchen, P., Ziekhrü, M., Zhimomi, B. K., & Phucho, T. (2022). Biosynthesis of silver nanoparticles using the extract of *Alpinia galanga* rhizome and *Rhus semialata* fruit and their antibacterial activity. *Inorganic Chemistry Communications*, 109599.
47. JAFFAT, H.S., ALDUJAILI, N.H. et ABDUL HASSAN, A.J., 2017. Activité

- antimicrobienne des nanoparticules d'argent biosynthétisées par des mélanges de Lactobacillus. *Journal de recherche of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, vol. 8, n° 1, pp. 1911-1924.
48. Jajere, S. M. (2019). A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary world*, 12(4), 504.
49. Javaid, A., Oloketuyi, S. F., Khan, M. M., & Khan, F. (2018). Diversity of bacterial synthesis of silver nanoparticles. *BioNanoScience*, 8(1), 43-59.
50. K. Nithyaa., S. Kalyanasundharam, 2019. Effect of chemically synthesis compared to biosynthesized ZnO nanoparticles using aqueous extract of C. halicacabum and their antibacterial activity, *OpenNano*, 4, pp. 100024.
51. K.C. Mounika and Katta. M., 2017. Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Characterization. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 7(08).
52. Kaplan, O., Tosun,N., Imamoglu,R., Türkekul, I., Gokçe, I., Ozgür, A., 2022. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from Tricholoma ustale and Agaricus arvensis extracts and investigation of their antimicrobial, cytotoxic, and apoptotic potentials, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*,69, 103178.
53. Katas, H., Moden, N. Z., Lim, C. S., Celesistinus, T., Chan, J. Y., Ganasan, P., & Suleman Ismail Abdalla, S. 2018. Biosynthesis and potential applications of silver and gold nanoparticles and their chitosan-based nanocomposites in nanomedicine. *Journal of Nanotechnology*, 2018.
54. Khan, I., Saeed, Khalid., Khan, I., 2019, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, *Arabian Journal of Chemistry*, 12, pp. 908-931.
55. KHIN M.M., NAIR A.S., BABU V.J., MURUGAN R., RAMAKRISHNA S., 2012. A review on nanomaterials for environmental remediation. *Energy Environ. Sci.* 5 8075e8109.
56. Khorrami S, Zarrabi A, Khaleghi M, Danaei M, Mozafari M. Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *Int J Nanomedicine*. 2018; 13:8013–8024.
57. König, H., Uden, G., & Fröhlich, J. (Eds.), 2009. Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine (pp. 3-30). *Heidelberg*: Springer.
58. Korbekandi, H., Mohseni, S., Mardani Jouneghani, R., Pourhossein, M., & Irvani, S. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using Saccharomyces cerevisiae. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 235-239.

59. Lamas, A., Miranda, J. M., Regal, P., Vázquez, B., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2018). A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. *Microbiological research*, 206, 60-73.
60. Lang, E. (2016). *Compréhension de l'inactivation de bactéries pathogènes présentes dans des produits alimentaires déshydratés* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).
61. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., Muller, R.N., 2010. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem. Rev.* 110, pp. 2574–2574.
62. Lee, N.-Y., Ko, W.-C., & Hsueh, P.-R., 2019. Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Frontiers in Pharmacology*, 10, p.1153.
63. Li, X., Xu, H., Chen, Z. S., & Chen, G. (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *Journal of Nanomaterials*, 2011.
64. Liu, Y., Jin, X.Y., Chen, Z.L., 2018. The formation of iron nanoparticles by Eucalyptus leaf extract and used to remove Cr(VI). *Sci. Total Environ.* 627, 470–479.
65. M, Qu., W, Yao. , X,Cui ., R, Xia., L, Qin. , X, Liu., 2021. Biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) employing *Trichoderma* strains to control empty-gut disease of oak silkworm (*Antheraea pernyi*), *Materials Today Communications*, 28, pp. 102619.
66. Madkour, L. H. (2018). Biogenic–biosynthesis metallic nanoparticles (MNPs) for pharmacological, biomedical and environmental nanobiotechnological applications. *Chron. Pharm. Sci. J*, 2(1), 384-444.
67. Madkour, L. H. (2018). Biogenic–biosynthesis metallic nanoparticles (MNPs) for pharmacological, biomedical and environmental nanobiotechnological applications. *Chron. Pharm. Sci. J*, 2(1), 384-444.
68. Maheo, A. R., Vithiya S. M., Prasad A.T., 2022, Biosynthesis and characterization of *Eupatorium adenophorum* and chitosan mediated Copper oxide nanoparticles and their antibacterial activity, *Results in Surfaces and Interfaces*,6, 100048.
69. Malik, M. A., Wani, M. Y., & Hashim, M. A. (2012). Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials: 1st Nano Update. *Arabian journal of Chemistry*, 5(4), 397-417.
70. Maurer-Jones M.A., Gunsolus I.L., Murphy C.J., Haynes C.L., 2013. Toxicity of engineered nanoparticles in the environment. *Anal. Chem.* 85 3036e3049.
71. Muthusamy. G., Thangasamy S., RAJA M., Chinnappan S., Kandasamy S., 2017.

- Biosynthesis of silver nanoparticles from *Spirulina* microalgae and its antibacterial activity. *Environmental Science and Pollution Research* 24(23) 19459-19464.
72. Nasreen I. Hulkoti, T.C. Taranath, 2014. Biosynthesis of nanoparticles using microbes—A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, pp. 474-483.
73. Palithya, S., Gaddam, S. A., Kotakadi, V. S., Penchalaneni, J., & Challagundla, V. N. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Decaschistia crotonifolia* and its antibacterial, antioxidant, and catalytic applications. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 14(1), 137-152.
74. Pantidos, N., & Horsfall, L. E., 2014. Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5(5), 1.
75. Paul, D., & Sinha, S. N. (2014). Extracellular Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 and Its Antibacterial Activity. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7(4)
76. Peiris, S., McMurtrie, J., & Zhu, H. Y. (2016). Metal nanoparticle photocatalysts: emerging processes for green organic synthesis. *Catalysis Science & Technology*, 6(2), 320-338.
77. Perez-Perez, M., Jorge, P., Perez Rodriguez, G., Pereira, M. O., and Lourenco, A. (2017). Quorum sensing inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: new insights through network mining. *Biofouling* 33, 128–142
78. Pérez-Tijerina E., Mejía-Rosales, Sergio ., Inada, H., José-Yacamán ,M., 2010. Effect of Temperature on AuPd Nanoparticles Produced by Inert Gas Condensation, *J. Phys. Chem. C* ,114, 6999–7003.
79. Qamer, S., Romli, M. H., Che-Hamzah, F., Misni, N., Joseph, N., Al-Haj, N. A., & Amin-Nordin, S. (2021). Systematic Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Activities: Application and Theoretical Perspectives. *Molecules*, 26(16), 5057.
80. Qu, M., Yao, W., Cui, X., Xia, R., Qin, L., & Liu, X. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) employing *Trichoderma* strains to control empty-gut disease of oak silkworm (*Antheraea pernyi*). *Materials Today Communications*, 28, 102619.
81. Quintero-Quiroz, C., Acevedo, N., Zapata-Giraldo, J., Botero, L. E., Quintero, J., Zárate-Triviño, D., ... & Pérez, V. Z. (2019). Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity. *Biomaterials research*, 23(1), 1-15.
82. Raffi M., Rumaiz, A. K., Hasan, M.M., Shah, S. I., 2007. Studies of the growth parameters for silver nanoparticle synthesis by inert gas condensation, *J. Mater. Res*,

- 22, 3378–3384.
83. Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M.S., Tahir, B., 2017. A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications, *Artificial cells*,45, pp. 1272–1291.
  84. Rajesh, S., Dharanishanthi, V., & Kanna, A. V. (2015). Antibacterial mechanism of biogenic silver nanoparticles of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Experimental Nanoscience*, 10(15), 1143-1152.
  85. Ramkumar VS, Pugazhendhi A, Gopalakrishnan K, et al. Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. *Biotechnol Rep*. 2017 ;14:1–7.
  86. Rauscher, H., Mech, A., Gibson, N., Gilliland, D., Held, A., Kestens, V., Koeber, R., Linsinger, T. and Stefaniak, E., 2019. Identification of nanomaterials through measurements. Publications Office of the European Union: Luxembourg.
  87. Roy, B., & Chakravorty, D. (1990). Electrical conductance of silver nanoparticles grown in glass-ceramic. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2(47), 9323.
  88. S.V. Patil, H.P. Borase, C.D. Patil, B.K. Salunke, Biosynthesis of silver nanoparticles using latex from few Euphorbian plants and their antimicrobial potential, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 167 (2012) 776–79
  89. Saleh, M. N., & Alwan, S. K. (2020, November). Bio-synthesis of silver nanoparticles from bacteria *Klebsiella pneumoniae*: Their characterization and antibacterial studies. In *Journal of Physics: Conference Series*, 1664, pp. 012115.
  90. Saravanakumar, K., Chelliah, R., MubarakAli, D., Oh, D.H., Kathiresan, K., Wang, M.H., 2019. Unveiling the potentials of biocompatible silver nanoparticles on human lung carcinoma A549 cells and *Helicobacter pylori*. *Sci. Rep.* 9 (1), 5787.
  91. Saravanan A., Kumar P. S., Karishma S., VO D. V. N., JeevananthamS., YAASHIKAA P. R., GEORGE C. S., 2020. A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. *Chemosphere* 128580.
  92. Saravanan, A., Kumar, P.S., Karishma, S., Dai-Viet N. Vo, Jeevanantham ,S., Yaashikaa, P.R., George, C. S., 2021. A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications, *Chemosphere*, 264, 128580.
  93. Saravia, S. G. G. D., Rastelli, S. E., Angulo-Pineda, C., Palza, H., & Viera, M. R. (2020). Anti-adhesion and antibacterial activity of silver nanoparticles and graphene oxide-silver nanoparticle composites. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 25.
  94. Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., et al. (2019). Morphological and biological characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma. *Microb. Drug. Resist.* 25, 668–676.

95. Solanki, J. N., Murthy Z. V. P., 2011. Controlled Size Silver Nanoparticles Synthesis with Water-in-Oil Microemulsion Method: A Topical Review, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50, 12311–12323.
96. Soleimani, P., Mehrvar, A., Michaud, J.P., Vaez, N., 2022. Optimization of silver nanoparticle biosynthesis by entomopathogenic fungi and assays of their antimicrobial and antifungal properties, *Journal of Invertebrate Pathology*, 190, pp. 107749.
97. Songmene, V., Khettabi, R., Viens, M., Kouam, J., Hallé, S., Morency, F., ... & Djebara, (2014). Mesure, contrôle et caractérisation des nanoparticules- Procédure appliquée à l'usinage et au frottement mécanique.
98. Syafiuddin, A., Salim, M. R., Beng Hong Kueh, A., Hadibarata, T., & Nur, H. (2017). A review of silver nanoparticles: research trends, global consumption, synthesis, properties, and future challenges. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 64(7), 732-756.
99. Taran M., Rad M., Alavi M., 2016. Characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Bacillus* sp. HAI4 in different conditions and their antibacterial effects. *J Appl Pharm Sci* 6(11) 094-099.
100. Tawk, M. (2014). Action et contrôle des leucotoxines de *Staphylococcus aureus* sur les cellules cibles (Doctoral dissertation, Strasbourg).
101. Tehri, N., Vashishth, A., Gahlaut, A., & Hooda, V. (2022). Biosynthesis, antimicrobial spectra and applications of silver nanoparticles: Current progress and future prospects. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 52(1), 1-19.
102. Tiwari, J. N., Tiwari, R. N., Kim, K.S., 2012, Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices, *Progress in Materials Science*, 57, pp. 724-803.
103. Tran, Q. H., Nguyen, V. Q., & Le, A.-T. 2013. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4(3), 033001.
104. Vidhya L.D., Roshmi T., Rintu T.V., Soniya E.V., Jyothis M., Radhakrishnan E.K., (2014). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by the *Bacillus* strain CS 11 isolated from industrialized area. *3 Biotech*; 4(2): 121-126.
105. W.M. Saod, D.A. Ghafoor, L.M. Najeeb, J. Mohammed, M. Al-tae, Study of analytical characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by using pineapple juice as a reducing agent, *Indian J. Forensic Med. Toxicol.* (2020)
106. WANG Y., NI Y., 2014. New insight into protein–nanomaterial interactions with UV-visible spectroscopy and chemometrics: human serum albumin and silver

- nanoparticles. *Analyst*139(2) 416-424.
107. Wong-Pinto, L. S., Menzies, A., & Ordóñez, J. I. (2020). Bionanominig: biotechnological synthesis of metal nanoparticles from mining waste—opportunity for sustainable management of mining environmental liabilities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(5), 1859-1869.
108. Wong-Pinto, L. S., Mercado, A., Chong, G., Salazar, P., & Ordóñez, J. I., 2021. Biosynthesis of copper nanoparticles from copper tailings ore—An approach to the ‘Bionanominig’. *Journal of Cleaner Production*, 315, 128107.
109. Wu Y., Pang H. Liu Y., Wang X., Yu S., Fu D., Chen J., Wang X., 2019. Environmental remediation of heavy metal ions by novel-nanomaterials: a review. *Environ. Pollut.* 246 608 e 620.
110. Xing, T ., Sunarso J., Yang W., Yin Y., Glushenkov, A. M., Li, L.H., Howlett, P. C Chen, Y., 2013. Ball milling: a green mechanochemical approach for synthesis of nitrogen doped carbon nanoparticles, 5, 7970.
111. Y.Y. Loo, Y. Rukayadi, M.A.R. Nor-Khaizura, C.H. Kuan, B.W. Chieng, M. Nishibuchi, S. Radu, in vitro antimicrobial activity of green synthesized silver nanoparticles against selected gram-negative foodborne pathogens, *Front. Microbiol.* 9 (2018)
112. Yang J., Wang Q., Wang C., Yang R., Mukhtar A., Kumarane, S., Veluf P., and Bo Lic., 2019. *Pseudomonas aeruginosa* synthesized silver nanoparticles inhibit cell proliferation and induce ROS mediated apoptosis in thyroid cancer cell line (TPC1), *Artificial Cells*48, pp. 800-809.
113. Yang, J., Wang, Q., Wang, C., Yang, R., Ahmed, M., Kumaran, S., ... & Li, B. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* synthesized silver nanoparticles inhibit cell proliferation and induce ROS mediated apoptosis in thyroid cancer cell line (TPC1). *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 48(1), 800-809.
114. Youssef, A. M., Assem, F. M., El-Sayed, H. S., El-Sayed, S. M., Elaaser, M., & Abd El- Salam, M. H. (2020). Synthesis and evaluation of eco-friendly carboxymethyl cellulose/polyvinyl alcohol/CuO bionanocomposites and their use in coating processed cheese. *RSC Advances*, 10(62), 37857–37870
115. Zamanpour, N., Esmaily, A. M., Mashreghi, M., Shahnava, B., Sharifmoghdam, M. R., & Kompany, A. (2021). Application of a marine luminescent *Vibrio* sp. B4L for biosynthesis of silver nanoparticles with unique characteristics, biochemical properties, antibacterial and antibiofilm activities. *Bioorganic Chemistry*, 114, 105102.
116. Zhang X., Liu Z., Shen W., et al., 2016. Silver Nanoparticles: Synthesis,

Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.*; 17: 1534

117. Zhu Y., Liu X., Hu Y., Wang R., Chen M., WU J., Wang Y., Kang S., Sun Y., Zhu.M., 2019. Behavior remediation effect and toxicity of nanomaterials in water environments. *Environ. Res.* 174 54e60.

# **Annexes**

## Annexe1

### Milieux de cultures

#### Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Poly peptone	10g
Citrate de sodium	2g
Acétate de sodium	5g
Glucose	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub>	0.25g
MnSO <sub>4</sub>	0.05g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH 6.8 Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

#### BN Bouillon nutritif

BN	08 g
Glucose	10 g
Eau distillé	1000ml

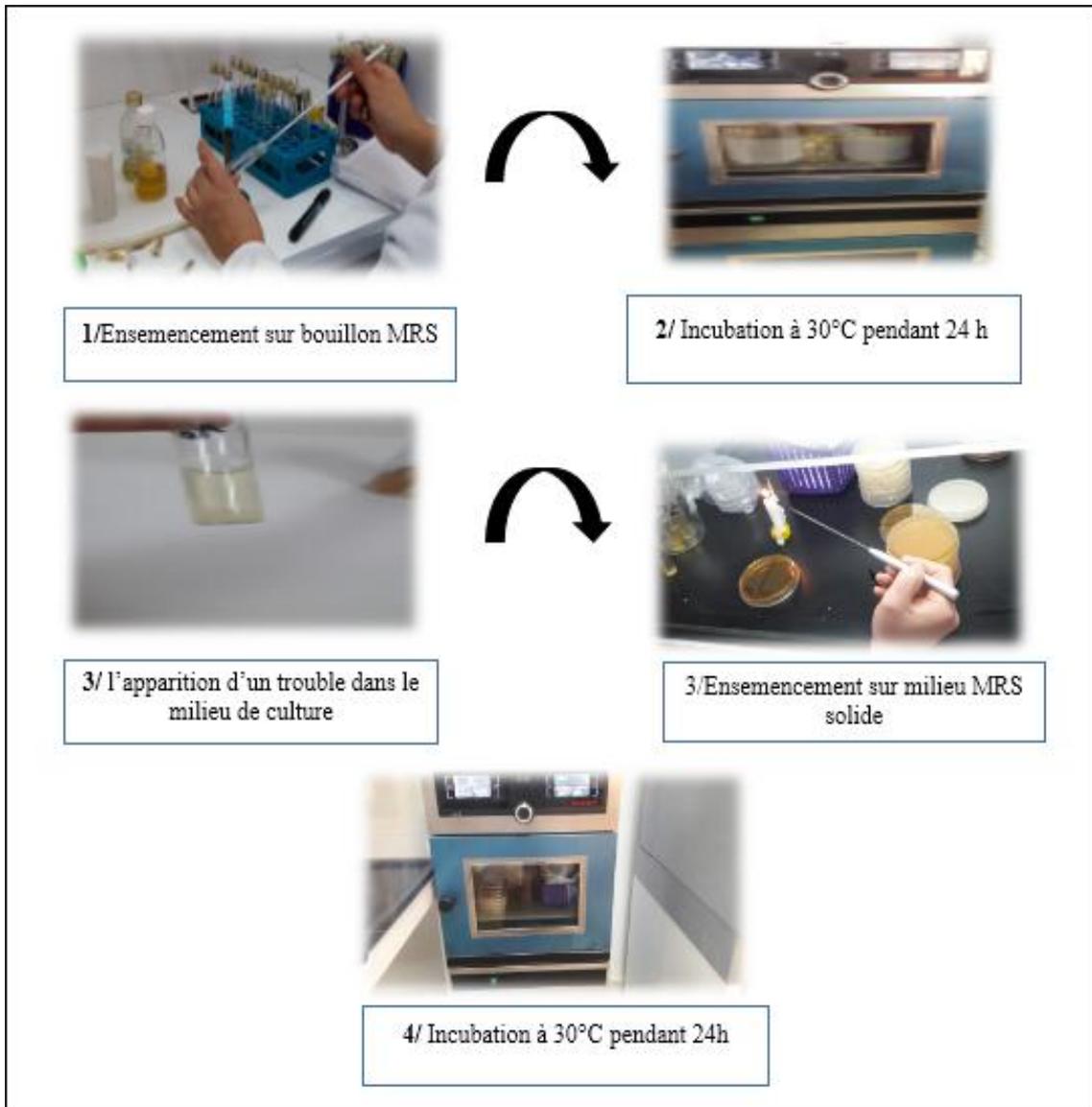
#### Milieu Mueller-Hinton

MH déshydratée	38g
Eau distillé	1000ml
PH 7.4 Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

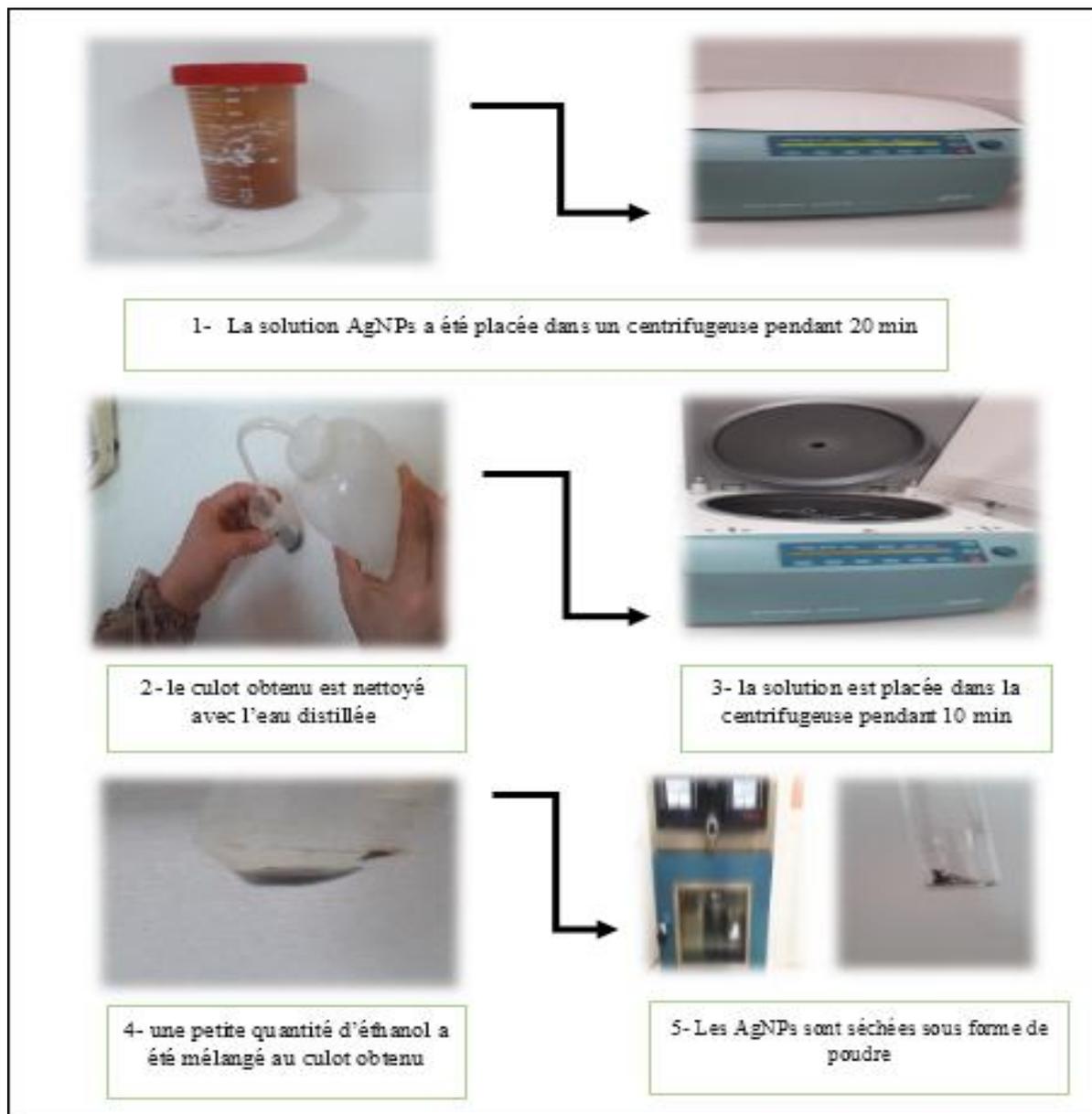
#### Solution d'AgNO<sub>3</sub> 0.8mM

Eau distillé	1000 ml
AgNO <sub>3</sub>	0.016 g

## Annexe 2



Étape de revivification des souches



Etape de séchage des nanoparticules

### Annexe 3

#### Annexe 02 : Matériels

- Flacon en verre
- Bec benzène
- Éprouvette graduée
- Becher en verre
- Erlenmeyer en verre
- Micropipette

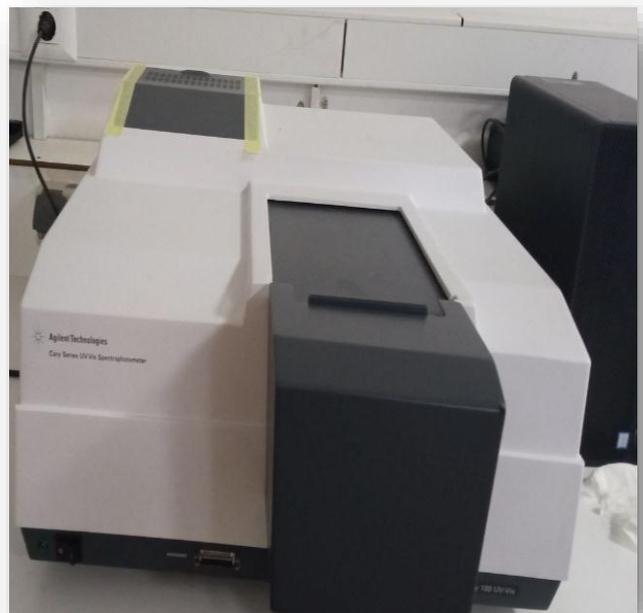
- Pipette
- Spatule
- Tube en verre
- Boite de pétri

#### **Annexe 4**

#### **Appareillage**



**Microscope électronique à balayage**



**UV Visible**



**Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)**



**Centrifugeuse**



**Balance très haute précision**



**agitateur magnétique**



**Incubateur bactériologique**



**Incubateur sous agitation**

## Biosynthèse des nanoparticules par les souches *Leuconostoc* autochtones

### Résumé

L'utilisation des micro-organismes comme les bactéries dans la synthèse de nanoparticules apparaît comme une approche éco-responsable et une alternative à la méthode chimique. Notre objectif dans cette étude est la biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) à partir des souches bactériennes *Leuconostoc* autochtone et d'évaluer l'activité antibactérienne de ces nanoparticules. La synthèse des AgNPs a été initialement observée par un changement de couleur du jaune verdâtre au brun qui a été confirmé par spectroscopie UV-visible.

Les nanoparticules d'argent ont été davantage caractérisées à l'aide de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) et d'analyse au microscope électronique à balayage (MEB). Les AgNP synthétisés par Ln C1, Ln C2, Ln C10 se sont avérés avoir une activité antibactérienne contre quatre bactéries pathogènes testées avec des zones d'inhibition importante.

**Mots clés :** Nanoparticules d'argent, Activité antibactérienne, biosynthèse, *Leuconostoc Mesenteeroides*

subsp *mesenteroides*, *Leuconostoc gelidum*.

## Biosynthesis of nanoparticles by *Leuconostoc* strains indigenous

### Abstract

The use of microorganisms such as bacteria in the synthesis of nanoparticles appears as an eco- responsible approach and an alternative to the chemical method. Our objective in this study is the biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from native *Leuconostoc* bacterial strains and to evaluate the antibacterial activity of these nanoparticles. The synthesis of AgNPs was initially observed by a color change from greenish yellow to brown, which was confirmed by UV-visible spectroscopy.

Silver nanoparticles were further characterized using Fourier transform infrared spectroscopy (ATR- FTIR) and scanning electron microscope (SEM) analysis. AgNPs synthesized by Ln C1, Ln C2, Ln C10 were found to have antibacterial activity against four pathogenic bacteria tested with significant zones of inhibition.

**Keywords:** Silver nanoparticles, Antibacterial activity, biosynthesis, *Leuconostoc Mesenteeroides subsp mesenteroides*, *Leuconostoc gelidum*.

**التخليق الحيوي للجسيمات النانوية بواسطة سلالات *Leuconostoc* أصلي**

### ملخص

يظهر استخدام الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا في تخليق الجسيمات النانوية كنهج مسؤول بيئياً وبدليل للطريقة الكيميائية. هدفنا في هذه الدراسة هو التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) من سلالات الكريات البيض الأصلية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الجسيمات النانوية. لوحظ تخليق AgNPs في البداية عن طريق تغيير اللون من الأصفر المخضر إلى البني الذي أكدته التحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية. كما تم توصيف جسيمات الفضة النانوية باستخدام التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فورييه (ATR-FTIR) وتحليل المجهر الإلكتروني الماسح (SEM). تم العثور على AgNPs التي تم تصنيعها بواسطة Ln C1 و Ln C2 و Ln C10 لها نشاط مضاد للبكتيريا ضد أربعة بكتيريا مسببة للأمراض تم اختبارها باستخدام

**الكلمات المفتاحية:** الجسيمات النانوية الفضية، النشاط المضاد للبكتيريا، التخليق الحيوي، *Leuconostoc gelidum*. *Leuconostoc Mesenteeroides subsp mesenteroides*