

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE EPOPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de nature et de la vie

Département des sciences biologiques



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences Biologiques

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème:

Biosynthèse des nanoparticules et leurs applications antibactériennes

Présenté Par : *ATAOUAT Souhila*

BETTAYEB Wiam

Soutenu publiquement le : 20\06\2022

Devant le jury composé de :

M ^r Bensalem Soufiane	MCA (UKM Ouargla)	Président
M ^r Belkhalifa Hakim	MRA (UKM Ouargla)	Examineur
M ^r Henni Abdellah	MCA (UKM Ouargla)	Encadreur
M ^r Bouricha M'hamed	MCB (UKM Ouargla)	Co-encadreur

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

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

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

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

Nous remercions également Monsieur BENSALÉM Soufiane d'avoir Accepté la présidence du jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers BELKHALFA Hakim d'avoir accepté d'examiner notre mémoire. Nous aimerions exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury.

Nous tenons à remercier Monsieur BOURICHA M'hamed pour nous aider dans la partie pratique de cette étude.

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

J'adresse mes remerciements par un grand respect et gratitude à mes très chers parents qui sont la lumière de ma vie, qui ont tant souffert et se sont sacrifiés pour que je sois heureuse,

Pour leurs conseils, leurs affections, et leurs encouragements.

Et je le dédie à :

*Mes chers frères **Nabil** et **Mohamed** et mes chères sœurs **Fatima**, **Zineb** et **Amina**.*

Toute ma famille.

*À mon binôme **Wiam**, À tous mes amis et plus spécialement **Rania**, **Salma**, **Amina**, **Fadila**, **Rim**, **Kaouther**, **Salsabile**, **Safa**, **Anouare**, **Soumia**, **Randa**, **Nour_Elhouda** et **Rachid**.*

Vous avez tous contribué à m'aider et à m'encourager, vous avez

Toujours fait et ferez toujours partie de ma vie.

*A mes camarades de promotion "**Microbiologie Appliquée**"2020/2022, pour tout ce que nous avons partagé, échangé ensemble durant ces années.*

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Souhila



Dédicace

C'est grâce à Dieu «الله» le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

A mon Père et ma très chère Mère que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices, 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.

A ma chère et belle-sœur Walla

A mes très chères Frères Walid et Wassim

À mon adorable petite sœur Wissale

Pour ses encouragements et son soutien indéfectible.

Je dédie aussi ce mémoire à mon cher binôme Souhila.

À mes ami(e)s

A vous toutes/tous, et plus spécialement ma très chère amie Aïcha, mes copines au travail, Amina, Fadila, Safa, Salsabil, Soumia, Anouar, Randa et Nour El-Houda, en particulier Rachid.

Vous avez tous contribué à m'aider et à m'encourager, vous avez toujours fait et ferez toujours partie de ma vie. A tous, du fond du cœur je dédie ce travail

Résumé

Le développement de procédés fiables et respectueux de l'environnement pour la synthèse des matériaux à l'échelle nanométrique est un aspect important de la nanotechnologie. Ce travail expérimental vise à la synthèse extracellulaire des AgNPs par 03 souches (*S.aureus*, *L.monocytogenes* et *C.albicans*) et examinée leur activité antibactériennes. La biosynthèse extracellulaire des nanoparticules d'argent a été réalisée en utilisant le surnageant de culture des 03 souches utilisées. La formation de nanoparticules d'argent a été confirmée par le changement de couleur de culture du jaune au brun foncé. La morphologie et l'uniformité des nanoparticules d'argent ont été étudiées par les images MEB et Spectroscopie UV-Visible. L'interaction entre protéines et AgNPs a été analysée par ATR-FTIR. L'activité antibactérienne des AgNPs ont été confirmées à la fois par les bactéries a Gram positif et a Gram négatif : *S.aureus*, *S.enterica*, *E.coli* et *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibitions (ZI) de 12, 16, 11 et 16 mm, respectivement.

Mots clés : Biosynthèse extracellulaire, nanoparticules d'argent, activité antibactérienne, Bactérie et levure

Sommaire

<i>Remerciements</i>	I
<i>Dédicace</i>	II
<i>Résumé</i>	IV
<i>Liste des tableaux</i>	VII
<i>Liste des figures</i>	VIII
<i>Liste des abréviations</i>	X
<i>Introduction générale</i>	2
I- Généralité	5
I.1. Nanoscience	5
I.2. Nanotechnologie.....	5
I.3. Nanoparticules.....	6
I.3.1. Avantages et inconvénients des nanoparticules.....	7
I.3.2. Synthèse des nanoparticules (NPs).....	8
I.4. Synthèse des AgNPs par les microorganismes	12
I.4.1. Synthèse par des bactéries	13
I.4.2. Synthèse par des champignons	13
I.4.3. Synthèse par les levures.....	14
I.4.4. Synthèse par les algues	14
I.4.5. Synthèse par les actinomycètes	15
I.5. Applications des nanoparticules.....	17
I.5.1. Applications des NPs comme agents antimicrobiens	18
I.5.2. Activités antioxydants	21
I.5.3. Photocatalyse	23
II- Matériels et méthodes	26
II.1. Lieu et durée de l'étude.....	26
II.2. Matériel biologique	26
II.2.1. Origine de souches utilisées	26
II.2.2. Caractéristiques de souches utilisées.....	26
II.3. Méthodes.....	27
II.3.1. Revivification et purification des souches	27
II.3.2. Synthèse des nanoparticules d'argent	28
II.3.3. Caractérisation des AgNPs biosynthétisées	29
II.3.4. Evaluation de l'activité antibactérienne	31
III- Résultats et discussion	35

Sommaire

III.1. Synthèse de nanoparticules d'argent	35
III.1.1. Purification des nanoparticules d'argent.....	37
III.2. Caractérisations des AgNPs biosynthétisées	38
III.2.1. Spectroscopie UV-Visible	38
III.2.2. Spectroscopie réflectance totale atténuée - infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR).....	40
III.2.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)	41
III.3. Évaluation de l'activité antibactérienne	42
Références bibliographiques	49
Conclusion générale	58
Annexe	61

Liste des tableaux

Tableau I-1: Quelques recherches sur la biosynthèse de nanoparticules à l'aide des plantes (Pandit, C., et <i>al.</i> 2022).	12
Tableau I-2 : Quelques recherches sur la synthèse des nanoparticules à l'aide de microorganismes (Pandit, C., et <i>al.</i> 2022).	15
Tableau I-3: Avantages et inconvénients de la synthèse verte (Nair, G. M., Sajini, T., & Mathew, B. 2021).	16
Tableau I-4 : Applications des nanoparticules dans des différents domaines (Rafique, M., et <i>al.</i> 2017).	17
Tableau II-1: Caractéristique des souches utilisées.	26
Tableau II-2: Caractéristiques des souches bactériennes testées.	31
Tableau II-3: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Mouas, Y., Benrebiha, F.Z., Chaouia, C., 2017).	33
Tableau III-1: La taille moyenne de la zone d'inhibition de toutes les souches testées.	43

Liste des figures

Figure I-1 : Les NP biosynthétisées ouvrent la voie à diverses applications de la nanotechnologie (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).	6
Figure I-2 : Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Belfenache, D. E. 2012).	6
Figure I-3 : Schéma général de biosynthèse des nanoparticules des métaux par les micro-organismes (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).	11
Figure I-4 : synthèse des nanoparticules à partir des plantes.	12
Figure I-5 : Schéma de principe de la synthèse d'AgNPs à l'aide de bactéries (Rafique, M., et al. 2017).	13
Figure I-6 : Mécanismes de résistance aux antimicrobiens et actions des nanoparticules (Lee, N. Y., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. 2019).	19
Figure I-7 : Le mécanisme d'action antibactérienne des AgNPs illustré par (1) la perturbation de la paroi cellulaire et de la membrane par les ions argent libérés par les AgNPs ; (2) AgNPs inhibant la synthèse d'ATP; (3) dysfonctionnement mitochondrial causé par l'Ag ⁺ libéré des AgNPs ; (4) dégradation ribosomique par les AgNPs ; (5) AgNPs endommageant l'acide nucléique en incorporant Ag ⁺	20
Figure I-8 : Des nanoparticules à activité antioxydante : « les nanoantioxydants » (Baschieri, A., & Amorati, R. 2021).	22
Figure II-1 : Étapes de synthèse de nanoparticules d'argent.	29
Figure II-2 : Etapes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.	33
Figure III-1 : Changement de couleur des nanoparticules d'argent synthétisées par <i>S.aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> et <i>C.albicans</i>	35
Figure III-2 : Le rendement des AgNPs synthétisées.	36
Figure III-3 : Mécanisme extracellulaire de biosynthèse des nanoparticules d'argent par des bactéries médiées par l'enzyme réductase (Bahrulolum, H., et al. 2021).	37
Figure III-4 : Poudre de nanoparticule d'argent.	38
Figure III-5 : Spectre UV- visible des AgNPs synthétisées.	39
Figure III-6 : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR).	41
Figure III-7 : Les images MEB des AgNPs biosynthétisées par (a) : <i>C.albicans</i> et (b) : <i>L.monocytogenes</i>	42
Figure III-8 : AgNPs synthétisées par <i>S.aureus</i> contre (a) : <i>S.aureus</i> , (b) : <i>S.enterica</i> , (c) : <i>E.coli</i> et (d) : <i>P. aeruginosa</i>	43
Figure III-9 : AgNPs synthétisées par <i>L.monocytogenes</i> contre (a) : <i>S.aureus</i> , (b) : <i>S.enterica</i> , (c) : <i>E.coli</i> et (d) : <i>P. aeruginosa</i>	43
Figure III-10 : AgNPs synthétisées par <i>C.albicans</i> contre (a) : <i>S.aureus</i> , (b) : <i>S.enterica</i> , (c) : <i>E.coli</i> et (d) : <i>P. aeruginosa</i>	43
Figure III-11 : Histogramme des zones d'inhibitions des AgNPs de <i>S.aureus</i> en fonction des différentes concentrations.	45

Liste des figures

Figure III-12: Histogramme des zones d'inhibitions des AgNPs de <i>L.monocytogenes</i> en fonction des différentes concentrations.....	46
Figure III-13: Histogramme des zones d'inhibitions des AgNPs de <i>C.albicans</i> en fonction des différentes concentrations.	46
Figure III-14 : Mécanismes antibactériennes des nanoparticules d'argent (AgNPs) (Yin, I. X., et <i>al.</i> 2020).....	48

Liste des abréviations

°C	Degré Celsius
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Argent
Ag⁺	Ion d'argent
AgNO₃	Nitrate d'argent
AgNPs	Nanoparticules d'argent
Al	Aluminium
Al₂O₃	Oxyde aluminium
Ar	Argon
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adénosine triphosphate
Au	Or
Au NPs	Nanoparticules d'or
Au₃⁺	Ions d'or
BN	Bouillon nutritive
Cd	Cadmium
CeO₂	Oxyde de cérium
CNT	Nanotubes de carbone
Co	Cobalt
Cu	Cuivre
eV	Electron volt
Fe	Fer
Fe₂O₃	Oxyde de fer
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
GN	Gélose nutritive
h	Heure
He	Helium
KBr	Potassim bromide

Liste des abréviations

M.O	Micro-Organisme
MDRO	Organismes multi-résistantes aux médicaments
meV	Milli électron volt
Mg	Magnésium
mg	Milligramme
MH	Mueller Hinton
Min	minute
ml	Millilitre
mM	Millimolaire
NADH	Nicotinamide adénine di nucléotide (NAD) + hydrogène (H)
NADPH	Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate
NP	Nanoparticule
O₂•	Dxygène
OH•	Radical hydroxyle
Pb	Plomb
Pd	Palladium
PDA	Gélose dextrose à la pomme de terre
PH	Potentiel hydrogène
PVD	Dépôt physique en phase vapeur
RNS	Espèce réactif de l'azote
ROS	Espèce réactif oxygène
Se	Sélénium
SEM	Microscope électronique à balayage
SnO₂	Oxyde d'étain
SPR	Résonance de plasmon de surface
TiO₂	Oxyde de titane
tr	Tour
UV	Ultra-violet
vis	visible
Zn	Zinc
ZnO	Oxyde de zinc
ZI	Zone d'inhibition
µl	Microlitre

Introduction générale

Introduction générale

La nanotechnologie est devenue un domaine émergent dans le domaine de la biotechnologie, traitant la synthèse, la conception et la manipulation de particules d'une taille approximative de 1 à 100 nm. Les nanoparticules (NPs) sont utilisées dans les sciences biomédicales, les soins de santé, la délivrance de médicaments et de gènes, les industries spatiales, les cosmétiques, les industries chimiques et l'optoélectronique (Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. 2019). Ces composés présentaient également différentes propriétés telles que la conductance électrique, le magnétisme, la réactivité chimique, la résistance physique, la conductivité thermique, la stabilité chimique et les effets optiques, à partir de composés énormes en raison de leur petite taille (Saleh, M. N., & Alwan, S. K. 2020). Parmi diverses nanoparticules, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont été l'un des objets d'étude les plus populaires au cours des dernières décennies en raison de leur potentiel (Yin, I. X., et al. 2020).

Diverses méthodes physico-chimiques ont été utilisées pour la synthèse d'AgNP, notamment la synthèse par micro-ondes, chimique et électrochimique, l'irradiation, photocatalytique et de microémulsion. Cependant, ces méthodologies présentent divers inconvénients car elles impliquent une forte consommation d'énergie et l'utilisation de réactifs toxiques avec la génération de déchets dangereux, ce qui entraîne des risques potentiels pour l'environnement et la santé humaine. De nos jours, il existe un besoin croissant de développer des approches simples, rentables, fiables, biocompatibles et respectueuses de l'environnement pour la synthèse de nanomatériaux, qui ne contiennent pas de produits chimiques toxiques dans les protocoles de synthèse (John, M. S., et al. 2020). Par conséquent, une synthèse verte ou synthèse biologique des nanoparticules en utilisant les micro-organismes (bactéries, champignons, algues, levures et actinomycètes) et les extraits des plantes est souhaitable pour fournir une voie de synthèse économique, écologique, non toxique, facilement disponible et plus propre. La synthèse biogénique a non seulement un impact environnemental réduit, mais peut également produire de grandes quantités de nanoparticules qui sont exemptes de contamination et ont une taille et une morphologie bien définies (Shah, A. H., & Rather, M. A. 2021). Les voies de biosynthèse peuvent en fait fournir des nanoparticules d'une taille et d'une morphologie mieux définies que certaines des méthodes physico-chimiques de production. En raison de leur aptitude à la fonctionnalisation biologique, les nanoparticules biologiques trouvent des applications importantes dans le domaine de la médecine, de la pharmacie et du secteur des produits de soins personnels (Bonnia, N. N., et al. 2016).

Introduction générale

Les NPs possèdent une activité antimicrobienne qui peut surmonter les mécanismes de résistance courants, y compris l'inactivation enzymatique, la diminution de la perméabilité cellulaire, la modification des sites/enzymes cibles (Lee, N. Y., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. 2019).

Notre but dans cette étude expérimentale est la biosynthèse extracellulaire des nanoparticules par les microorganismes et leurs applications antibactériennes.

Cette étude se décompose en trois chapitres organisés comme suite :

- Le chapitre I est consacré aux généralités sur les nanoparticules et plus particulièrement les nanoparticules d'argent.
- Le chapitre II décrit la méthodologie suivie pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent, la caractérisation des AgNPs et l'activité antibactérienne.
- Le dernier chapitre présente l'ensemble des résultats expérimentaux de cette étude et leurs discussions.

*Chapitre I: Généralités et
Recherche Bibliographique*

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

I- Généralité

Dans ce chapitre se trouve la présentation des généralités sur les nanoparticules, les différentes méthodes de synthèse utilisées pour leurs obtentions et leurs avantages et inconvénients, suivie par des informations sur les nanoparticules d'argent, leurs applications dans des différents domaines en mettant l'accent sur leurs utilisations dans la photocatalyse et l'activité antibactérienne.

I.1. Nanoscience

Les nanosciences sont l'étude, la compréhension et le contrôle de phénomènes et manipulation de la matière à l'échelle nanométrique, les nanosciences sont le monde des atomes, des molécules, des macromolécules et assemblages macromoléculaires (Aqel, A., et *al.* 2012).

La nanoscience est un domaine scientifique qui s'intéresse à l'étude de matériaux de très petites dimensions. Il s'agit d'un domaine interdisciplinaire qui cherche à faire émerger des nanotechnologies matures, en se concentrant sur l'intersection à l'échelle nanométrique de domaines tels que la physique, la biologie, l'ingénierie, la chimie et l'informatique (Yousaf, A. S., & Ali, S. 2008).

I.2. Nanotechnologie

La nanotechnologie représente la conception, la production et l'application de matériaux à l'échelle atomique, moléculaire et macromoléculaire, afin de produire de nouveaux matériaux nanométriques (Pal, S. L., et *al.* 2011).

La nanotechnologie est un domaine de recherche important et émergent qui suscite un intérêt croissant et se concentre sur le développement des méthodes d'élaboration et de synthèses d'ingénierie pour des applications étendues. En raison des propriétés améliorées des nanostructures, leurs applications se développent rapidement dans des divers domaines comme biomédical, pharmaceutique, catalyse, énergie, capteur et antimicrobien (Figure I.1). En plus de la miniaturisation, la modification des propriétés physico-chimiques offre le développement de nouveaux attributs fonctionnels des nanomatériaux (Ahmed, S., & Ikram, S. 2016).

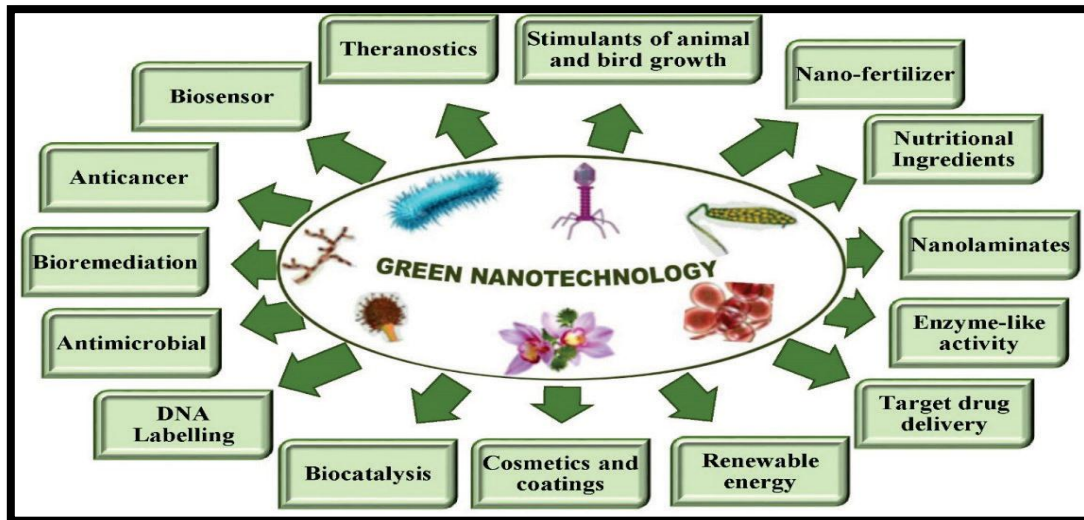


Figure I-1 : Les NP biosynthétisées ouvrent la voie à diverses applications de la nanotechnologie (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).

I.3. Nanoparticules

Le terme de « nanoparticule » est utilisé lorsque la particule a au moins une de ses dimensions inférieures à 100 nm (Figure I.2) (Christian, P., et al. 2008). Le rayon typique d'un atome étant de l'ordre de 0,1 nm, une nanoparticule peut être constituée de quelques dizaines à plusieurs centaines d'atomes. Par exemple, les nanoparticules les plus célèbres, les fullerènes, sont constituées de seulement 60 ou 70 atomes de carbone (Zeyons, O. 2008).

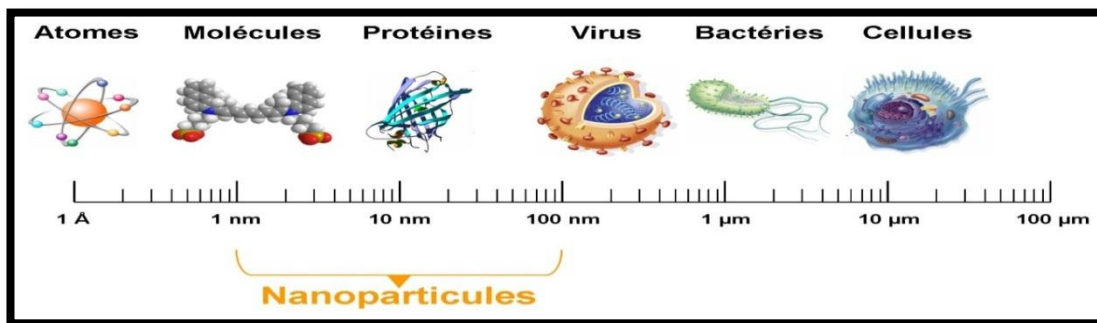


Figure I-2: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Belfenache, D. E. 2012).

Les NPs peuvent provenir de sources naturelles et anthropiques (NPs artificielles et indésirables ou accidentelles). Le terme de NPs fait référence à différentes classes de particules :

- Nanoparticules organiques tels que les polymères organiques, les dendrimères, micelles, liposomes et ferritine.

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

- Nanoparticules inorganiques ou les métaux tels que aluminium (Al), cadmium (Cd), cobalt (Co), cuivre (Cu), or (Au), fer (Fe), plomb (Pb), argent (Ag) et le zinc (Zn) et d'oxyde métallique (Fe₂O₃, Al₂O₃, TiO₂).
- Nanoparticules à base de carbone tel que les fullerènes graphène, nanotubes de carbone (CNT), nanofibres de carbone et noir de carbone et parfois du charbon actif en taille nanométrique.
- Nanoparticules d'origine biologique (Remédios, C., Rosário, F., & Bastos, V. 2012).

I.3.1. Avantages et inconvénients des nanoparticules

Les nanoparticules possèdent de nombreux avantages tels que :

- Déterminer les informations chimiques sur le substrat à l'échelle nanométrique métallique.
- Forte absorption plasmatique.
- Diffusion Raman améliorée en surface.
- Améliorer la diffusion Rayleigh (Kumar, H., et *al.* 2018).
- L'augmentation de la surface entraîne une dissolution plus rapide de l'agent actif dans un environnement aqueux, tel que le corps humain.
- De plus petites doses de médicament et moins de toxicité (Pal, S. L., et *al.* 2011).

Par contre, leurs inconvénients sont :

- Les nanoparticules peuvent subir une transformation, car elles sont thermodynamiquement instables et se situent dans la région des minima locaux à haute énergie. Cela conduit à une détérioration de la qualité, une mauvaise résistance à la corrosion, et le principal souci est de maintenir la structure devient difficile.
- Les nanoparticules ont été signalées toxiques, cancérigènes et provoquent une irritation car elles deviennent transparentes pour le derme cellulaire.
- Lors de la synthèse de nanoparticules, de nitrures, d'oxydes, la formation peut être aggravée par l'environnement impur. Comme les nanoparticules sont hautement réactives, il peut également y avoir de fortes chances d'impureté.
- Lors de la synthèse des nanoparticules, il doit être encapsulé, car il est extrêmement difficile de conserver la taille des nanoparticules sous forme de solution.

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

- La combustion exothermique peut entraîner une explosion, car les fines particules métalliques agissent comme de puissants explosifs.
- Les NPs augmentent la pollution (Kumar, H., et *al.* 2018).

I.3.2. Synthèse des nanoparticules (NPs)

I.3.2.1. Méthodes physiques et chimiques de synthèse des nanoparticules

- La condensation de gaz inerte est l'une des méthodes primitives de synthèse de NP qui utilise des gaz inertes (par exemple He ou Ar) et un support de substrat refroidi à l'azote liquide pour la préparation de NP. Les matériaux évaporés sont transportés avec des gaz inertes et condensés sur le substrat fixé avec de l'azote liquide.
- Le dépôt physique en phase vapeur est un ensemble collectif de processus couramment utilisés pour produire des NP et pour déposer de fines couches de matériau, généralement de l'ordre de quelques nanomètres à plusieurs micromètres. Le PVD est une technique de dépôt sous vide respectueuse de l'environnement consistant en trois étapes fondamentales : (1) vaporisation du matériau à partir d'une source solide, (2) transport du matériau vaporisé, (3) nucléation et croissance pour générer des films minces et des NP.
- L'ablation au laser, qui consiste à retirer le matériau d'une surface solide par irradiation avec un faisceau laser. Le matériau est chauffé par l'énergie laser absorbée et s'évapore ou se sublime à faible flux laser. À flux plus élevé, le matériau est converti en plasma. La quantité de matière éliminée par une seule impulsion laser et la profondeur sur laquelle l'énergie laser est absorbée dépend des propriétés optiques du matériau et de la longueur d'onde du laser. Des nanotubes de carbone peuvent être produits par cette méthode.
- Méthode sol-gel : dans cette méthode de traitement sol-gel, il existe deux types de composants, à savoir le «sol» qui est une suspension colloïdale de particules solides dans un liquide et le «gel» qui sont des polymères 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 de particules de sol.
- Synthèse hydrothermale : cette méthode est utilisée pour fabriquer des NP d'oxyde métallique, d'oxyde de fer et de phosphate de fer au lithium en gardant le contrôle sur les caractéristiques des particules en faisant varier les propriétés de l'eau proche ou

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

supercritique en utilisant différentes conditions de pression et de température. Elle peut être réalisée dans deux types de systèmes, le procédé hydrothermique discontinu ou le procédé hydrothermique continu. Le premier est capable de réaliser un système avec les phases de rapport souhaitées tandis que le second permet d'obtenir une vitesse de réaction plus élevée en une période de temps plus courte (Dhand, C., et *al.* 2015).

I.3.2.2. Méthodes biologiques

a. Synthèse par des microorganismes

La synthèse de nanoparticules à l'aide de la nanotechnologie verte est en train de devenir une méthode plus propre, économique, écologique, stable, non toxique et biocompatible par rapport aux méthodes physiques et chimiques conventionnelles. Les nanoparticules vertes et synthétisées sont utilisées à l'échelle mondiale dans les domaines de l'industrie alimentaire, de la pharmacie, du secteur des produits de soins personnels, de l'ingénierie biomédicale et de la nanotechnologie microbienne. Les extraits de plantes et les micro-organismes comme les bactéries, les levures, les algues, les champignons et les cyanobactéries sont les « nanobiofactories » les plus polyvalentes qui ont été étudiées pour la synthèse de nanoparticules métalliques. Les micro-organismes utilisent des mécanismes intracellulaires et/ou extracellulaires pour synthétiser des nanoparticules (Shah, A. H., & Rather, M. A. 2021).

La plupart des travaux publiés soutiennent que la synthèse de nanoparticules extracellulaires est préférable car les processus en aval et de purification sont plus faciles que les méthodes intracellulaires. Une enzyme couramment utilisée est le nitrate réductase, qui peut être responsable de la synthèse de nanoparticules, telles que les nanoparticules d'argent et d'or (Tsekhmistrenko, S. I., et *al.* 2020).

La synthèse extracellulaire des nanoparticules est méditée par des protéines de surface et des enzymes qui agissent comme agents réducteurs. Le nicotinamide adénine di nucléotide (NADH) et le nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate (NADPH) agissent comme cofacteurs dans le processus de synthèse. Des nanoparticules d'or ont été synthétisées de manière extracellulaire à l'aide de la bactérie *Rhodopseudomonas capsulans*, méditées par des enzymes dépendantes du NADH et du NADPH qui transfèrent des électrons aux ions d'or (Au^{3+}) et forment des nanoparticules d'Or (Shah, A. H., & Rather, M. A. 2021).

ZnO a été utilisé comme substrat pour synthétiser ZnO NP par *A. hydrophilla*. Les NP synthétisées ont montré une plage de taille de 42 à 64 nm, confirmée par analyse AFM et XRD avec des formes variées comme ovale et sphérique. Les NP de ZnO ont été également

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

synthétisées à partir de mycéliums *d'Aspergillus fumigatus*. L'analyse DLS a révélé que la plage de taille des NP était de 1,2 à 6,8 avec une taille moyenne de 3,8. L'AFM a confirmé que la hauteur moyenne de NP était de 8,56 nm. *Candida albicans* ont été largement utilisées pour la synthèse des NP de ZnO. Les NP synthétisées à l'aide de *Candida albicans* ont montré une plage de taille similaire de 15 à 25 nm confirmée par analyse SEM, TEM et XRD (Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. 2017).

Dans le processus de bioréduction (Figure I.3), des enzymes individuelles jouent un rôle important dans le transport des électrons des donneurs vers l'ion métallique positif (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).

Les nanoparticules synthétisées à l'aide de voies vertes peuvent être utilisées pour le traitement des eaux usées contenant des colorants, des pesticides, des résidus pharmaceutiques et des métaux lourds. Les propriétés de surface telles que la taille, la forme et la monodispersité des particules peuvent être contrôlées en étudiant l'effet de divers paramètres tels que le type d'extrait d'organisme/plante, le milieu de croissance, le pH, la source de nanoparticules, la température, le temps et la présence d'autres ions. En optimisant ces paramètres, la synthèse verte de nanoparticules offrirait un grand avantage par rapport aux méthodes physiques et chimiques (Shah, A. H., & Rather, M. A. 2021).

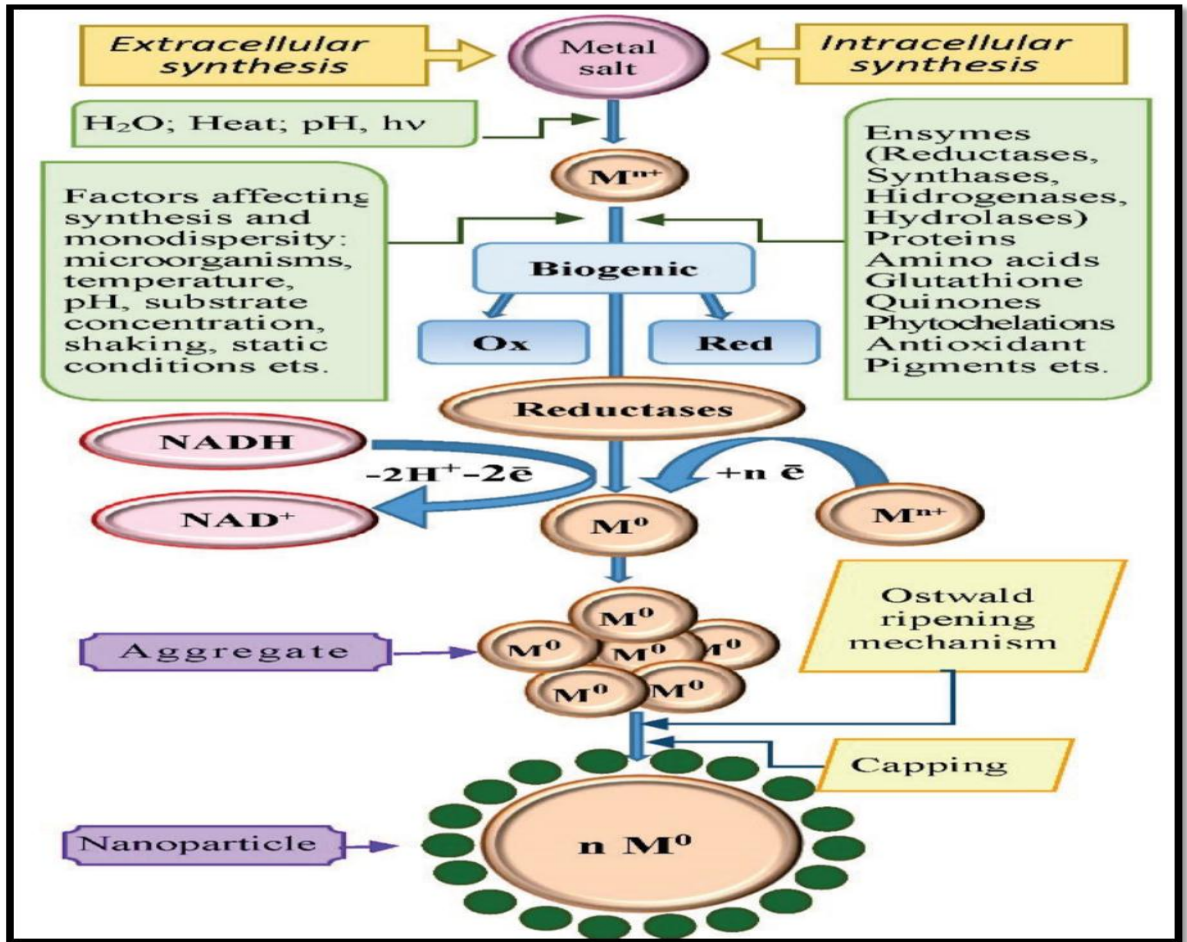


Figure I-3 : Schéma général de biosynthèse des nanoparticules des métaux par les micro-organismes (Tsekhmistrenko, S. I., et al. 2020).

b. Synthèse par des plantes

Les plantes contiennent une large gamme de composés bioactifs, notamment des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des stéroïdes, qui agissent comme agent réducteur dans la biosynthèse des nanoparticules. Plusieurs plantes dont *Acalypha indica*, *Ficus benghalensis*, *Zingiber officinale* ont récemment été utilisées pour synthétiser divers types de nanoparticules (Pandit, C., et al. 2022).

Diverses parties de plantes telles que fruit, feuille, tige, racine ont été largement utilisés pour la synthèse verte de nanoparticules en raison des excellents composés phytochimiques qu'ils produisent (Jadoun, S., et al. 2021).

Pour la synthèse de nanoparticules, la partie de la plante qui doit être utilisée en synthèse peut être lavé et bouilli avec de l'eau distillée. Après extraction et filtration des solutions respectives aux nanoparticules que nous voulons synthétiser sont ajoutées. Un changement de couleur est observé, révélant la formation de nanoparticules (Figure I.4).

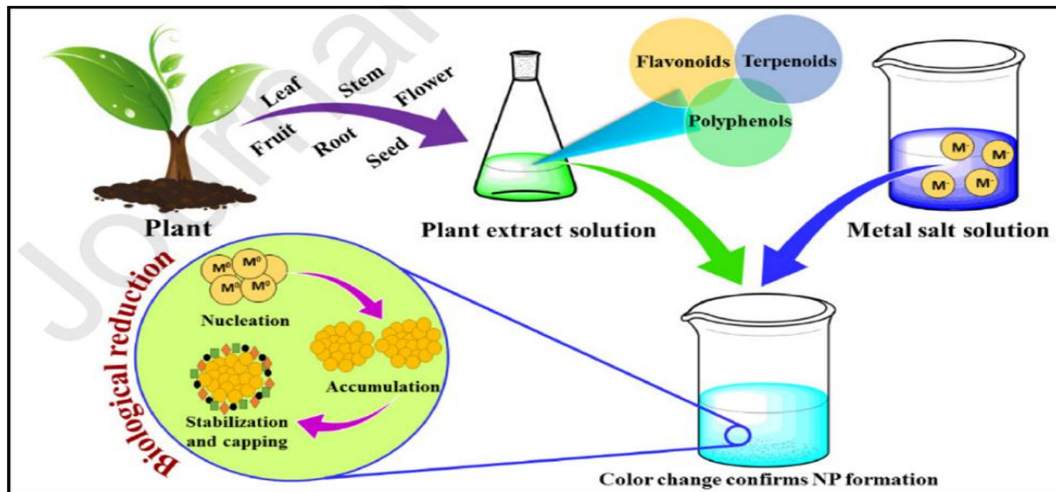


Figure I-4: synthèse des nanoparticules à partir des plantes.

Tableau I-1: Quelques recherches sur la biosynthèse de nanoparticules à l'aide des plantes (Pandit, C., et al. 2022).

Plantes	(Nps)	Taille (nm)	Applications
<i>Morus alba L.</i>	Ag	80–150	Activité antibactérien
<i>Dolichos lablab</i>	Ag	4–16	Antimicrobien et anticancéreux
<i>Camellia sinensis</i>	Au	10	Activité antibactérien
<i>Nigella arvensis</i>	Au	3-37	Antibactérien, antioxydant, cytotoxique et catalytique
<i>Crotalaria candicans</i>	Cu	30	Activité antibactérien
<i>Aloe socotrina</i>	ZnO	15-50	L'administration de médicaments
<i>Artemisia haussknechtii</i>	TiO ₂	92.85	Antimicrobien et antioxydant
<i>Couroupita guianensis Aubl.</i>	Pd	5-15	Antibactérien et cytotoxicité

I.4. Synthèse des AgNPs par les microorganismes

Les nanoparticules d'argent ou nano-argent sont des molécules ayant une taille de 20-40 nm, composées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions argent. Elles sont, devant les nanotubes de carbone et les nanoparticules de titane, les nanoparticules les plus vendues et relâchées dans l'environnement. Les nano-argent sont très prisés par l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, de part notamment leur propriété biocide. Néanmoins, l'utilisation de ces nanoparticules reste controversée de par leur risque sur la santé et l'environnement (Hemmerlin, M. 2014).

I.4.1. Synthèse par des bactéries

Les bactéries sont les micro-organismes les plus préférés pour la biosynthèse des NPs en raison de leur pouvoir d'adaptation élevé pour se maintenir dans diverses situations environnementales, telles qu'une forte toxicité due à de fortes concentrations d'ions métalliques.

Des études sont montrées que les bactéries peuvent être utilisées pour synthétiser des nanoparticules métalliques, organiques, inorganiques et autres par voie intracellulaire ou extracellulaire. Ils sont considérés comme une biosourçine potentielle pour la synthèse de NP, telle que l'argent et bien d'autres (Figure I.5) (Golhani, D. K., et al. 2020).

Dans une étude récente, une souche résistante à l'argent de *Pseudomonas stutzeri* AG259 a été utilisée pour l'obtention des nanoparticules d'argent (AgNP) de manière intracellulaire de taille de quelques nm à 200 nm à l'aide de NADH- enzyme réductase dépendante qui fournit des électrons et elle-même s'oxyde en NAD. Le transfert d'électrons du NADH est responsable de la bioréduction des ions argent Ag^+ en nanoparticules d'argent Ag^0 (Gahlawat, G., & Choudhury, A. R. 2019).

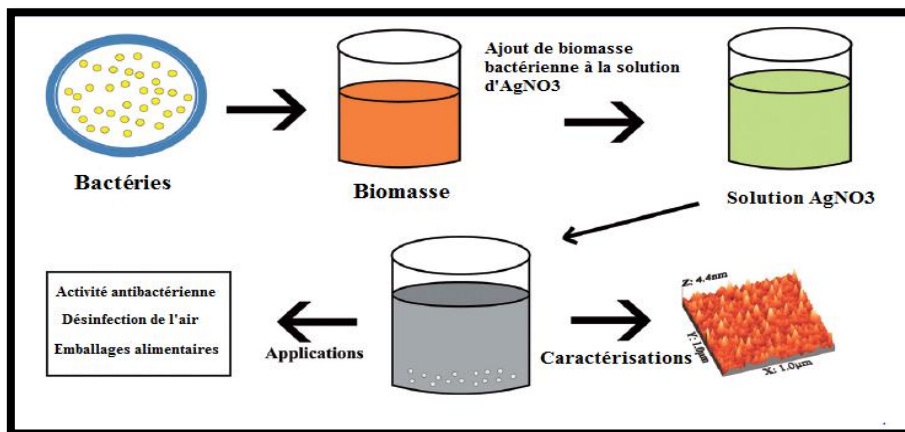


Figure I-5 : Schéma de principe de la synthèse d'AgNPs à l'aide de bactéries (Rafique, M., et al. 2017).

I.4.2. Synthèse par des champignons

Un champignon est un membre d'organismes eucaryotes qui comprend des micro-organismes comme les levures et les moisissures. Les surfaces cellulaires des champignons contiennent des biomolécules comme les protéines, les enzymes et autres agents réducteurs. Cela leur donne plusieurs avantages par rapport aux autres microorganismes dans la synthèse de nanoparticules (Zikalala, N., et al. 2018).

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

Les nanoparticules synthétisées par les champignons se sont considérablement élargies ces dernières années et ils comprennent environ 30 éléments du tableau périodique (Skalickova, S., Baron, M., & Sochor, J. 2017).

Parmi les champignons couramment utilisés avec succès pour la biosynthèse des nanoparticules sont *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium spp.* joue un rôle important dans la synthèse des NPs et peut être considérée comme une nano-usine pour la fabrication de NPs. Parmi ceux-ci, *F. oxysporum* a démontré un potentiel élevé pour la synthèse des AgNPs. On suppose que l'enzyme nitrate réductase NADH-dépendante sécrétée par *F. oxysporum* est responsable de la réduction des ions argent aqueux en AgNPs (Rai, M., et al. 2021).

I.4.3. Synthèse par les levures

La levure a été choisie pour la biosynthèse extracellulaire des AgNPs en raison de leur meilleure tolérance et de leur propriété de bioaccumulation des métaux, de leur production à grande échelle, de leur viabilité économique et de leur traitement pratique comme la souche de levure MKY3, *Saccharomyces boulardii*, *S. cerevisiae*, *Candida albicans* et *Candida utilis* (Jalal, M., et al. 2018).

Il a été observé que la réduction in situ des nanoparticules d'argent sur la paroi cellulaire des cellules mortes de *Saccharomyces cerevisiae*, que l'on trouve couramment, réduit le coût de production et facilite la manipulation. Le taux de synthèse des nanoparticules ainsi que la taille peuvent être manipulés dans une certaine mesure en contrôlant certains paramètres tels que la concentration de précurseur, le pH, la température et le temps d'exposition. Ce processus biologique avec la capacité de contrôler strictement la forme des particules peut être d'un avantage considérable (Thunugunta, T., Reddy, A. C., & DC, L. R. 2015).

I.4.4. Synthèse par les algues

Un groupe diversifié de micro-organismes aquatiques, les algues ont été largement utilisées et rapportés pour synthétiser les AgNPs. Ils varient en taille, du microscopique (picoplancton) au macroscopique (Rhodophyta). Les AgNPs ont été synthétisés à l'aide de microalgues *Chaetoceros calcitrans*, *C. salina*, *Isochrysis galbana* et *Tetraselmis gracilis*, *Cystophora moniliformis*, les algues marines ont été utilisées par Prasad et al comme agent réducteur et stabilisant pour synthétiser les AgNPs (Ahmad, S., et al. 2019).

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

Des nanoparticules d'argent (AgNPs) ont été synthétisées à l'aide de polysaccharides hydrosolubles extraits de quatre macro-algues marines, *Pterocladia capillacea* (Pc), *Jania rubins* (Jr), *Ulva faciata* (Uf) et *Colpomenia sinusa* (Cs) comme agents réducteurs des ions argent ainsi que agents stabilisants. En 2020, Ozturk et al ont rapporté la synthèse de nanoparticules d'argent par voie verte réalisée en utilisant un extrait d'algues rouges *Gelidium corneum* comme agent réducteur et des algues rouges *Portieria hornemannii* ont été utilisées pour la synthèse productive de nanoparticules d'argent (Arif, R., & Uddin, R. 2021).

I.4.5. Synthèse par les actinomycètes

Les actinomycètes représentent un groupe attrayant de bactéries filamenteuses à gram positif avec des activités naturelles variées et sont également désignées comme «champignons des rayons». Ils partagent des caractéristiques importantes à la fois des procaryotes (bactéries) et des eucaryotes (champignons). Les actinomycètes ont une capacité inégalée à produire divers métabolites secondaires comme les antitoxines ou les antibiotiques (Kumari, S., et al. 2020). Des nanoparticules d'argent ont été synthétisées en utilisant des actinomycètes. Dans cette méthode, les enzymes sécrétées par la paroi cellulaire et la membrane cellulaire des actinomycètes aident à la réduction des ions argent et les protéines aident au coiffage et à la stabilisation des nanoparticules d'argent (Arif, R., & Uddin, R. 2021).

Tableau I-2 : Quelques recherches sur la synthèse des nanoparticules à l'aide de microorganismes (Pandit, C., et al. 2022).

Microorganismes	NPs	Taille (nm)	Applications	Références
Bactéries				
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ag	160 - 180	Activité antimicrobien	(Nanda, A., & Saravanan, M. 2009)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO	10–50	Activité antimicrobien	(Rauf, M. A., et al. 2017)
<i>Pseudomonas sp.</i>	Ag	20–70	Activité antibactérien	(Banu, A. N., & Balasubramanian, C. 2014)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ag	30 à 70	Activité antibactérien	(Yang, J., et al. 2020)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Au	30	Activité antibactérien	(Husseiny, M. I., et al. 2007)
<i>Bacillus spp.</i>	Ag	77–92	Antimicrobien et antiviral	(Elbeshehy, E. K., et al. 2015)

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

Champignons <i>Trichoderma longibrachiatum</i> <i>Aspergillus terreus</i>	Ag ZnO	10 10-45	Activité antimicrobien Antibactérien, cytotoxique	(Elamawi, R. M., et al. 2018) (Fouda, A., et al. 2018)
Levures <i>Candida glabrata</i> <i>Candida albicans</i>	Ag Au	2 à 15 5	Activité antibactérien Activité antibactérien	(Jalal, M., et al. 2018) (Ahmad, T., et al. 2013)
Algues <i>Padina sp</i> <i>Cystoseira baccata</i>	Ag Au	25–60 8.4	Antibactérien, antioxydant Anticancéreux	(Bhuyar, P., et al. 2020) (González-Ballesteros, N., et al. 2017)
Actinomycètes <i>Streptomyces sp.</i>	Au	10	Activité antibactérien	(Składanowski, M., et al. 2017)

Tableau I-3: Avantages et inconvénients de la synthèse verte (Nair, G. M., Sajini, T., & Mathew, B. 2021).

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> • Faible coût et facile à mettre en œuvre. • Une approche respectueuse de l'environnement, car les produits chimiques toxiques et les solvants ne sont pas utilisés dans cette méthode. • La capacité de créer des nanoparticules bien définies d'une taille et d'une forme spécifiques pour une variété d'applications commercialement viables. • Il n'a aucune contamination par rapport aux méthodes traditionnelles. • Ne nécessite pas de température et de pression élevées. • Efficace dans la production à grande échelle de nanoparticules. 	<ul style="list-style-type: none"> • La nanotechnologie a augmenté les enjeux pour la santé humaine. • Seules quelques recherches ont été menées sur la bioaccumulation et la toxicité des nanoparticules dans l'environnement. • En raison de leur petite taille, les NP peuvent facilement pénétrer dans le corps et causer des problèmes d'inhalation et plusieurs maladies mortelles. • Par rapport aux nanoparticules générées chimiquement, la synthèse verte est encore peu utilisée dans l'industrie.

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

I.5. Applications des nanoparticules

Les nanoparticules ont attiré une attention considérable des chercheurs et des scientifiques en raison de leur large domaine d'applications comme le biomarquage, les capteurs, l'activité antimicrobienne, les électrodes cellulaires, les circuits intégrés, etc. En raison de leur activité antimicrobienne, elles sont applicables dans de nombreux domaines tels que médecine, santé, emballage, élevage, industries diverses, militaire, cosmétique et accessoires (Tableau I-4). Contre des organismes infectieux tels que *Staphylococcus aureus*, *Vibria cholera*, *Bacillus subtilis*, *Syphillis typhus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, ces nanoparticules ont montré des effets antimicrobiens potentiels (Jadoun, S., et al. 2021).

Tableau I-4 : Applications des nanoparticules dans des différents domaines (Rafique, M., et al. 2017).

Domaine	Applications des NPs
Application biomédicales	<ul style="list-style-type: none">➤ Dispositifs médicaux et cathéters en plastique.➤ L'administration de médicaments.➤ Thérapie du cancer.➤ Revêtement de textiles hospitaliers tels que masques chirurgicaux.➤ Réalisation antibactérienne, antifongique, antivirale et anti-inflammatoire.➤ Ciments dentaires.
Applications textiles	<ul style="list-style-type: none">➤ Textile bloquant les UV.➤ Textiles médicaux.➤ Textiles anti-taches.
Traitement environnemental	<ul style="list-style-type: none">➤ Désinfection de l'air et des surfaces.➤ Épuration de l'eau potable.➤ Désinfection biologique des eaux usées et des eaux souterraines.➤ Traitement des eaux usées.
Composants électroniques et transport	<ul style="list-style-type: none">➤ Biocapteurs pour l'analyse alimentaire.➤ Capteurs, électrodes et circuits intégrés.
Catalyse	<ul style="list-style-type: none">➤ Catalyseur de pile à combustible.➤ Catalyseur d'additif de carburant.

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

	➤ Photocatalyseurs de production d'hydrogène.
Biens de consommation et produits de soins personnels	➤ Textiles, peintures et cosmétiques solaires. ➤ Sécurité alimentaire et emballage alimentaire. ➤ Humidificateurs, filtres, ustensiles de cuisine dentifrice, systèmes de lavage, shampoing.
Applications optiques	➤ Les cellules solaires. ➤ L'imagerie médicale. ➤ Les limiteurs optiques.

I.5.1. Applications des NPs comme agents antimicrobiens

Les NPs possèdent une activité antimicrobienne qui peut surmonter les mécanismes de résistance courants, y compris l'inactivation enzymatique, la diminution de la perméabilité cellulaire, la modification des sites/enzymes cibles et l'augmentation de l'efflux par surexpression des pompes d'efflux, pour échapper à l'activité antibactérienne des agents antimicrobiens. De plus, les NPs conjuguées à des antibiotiques présentent des effets synergiques contre les bactéries, interdisent la formation de biofilms et ont été utilisées pour lutter contre les organismes multi-résistants aux médicaments (MDRO). Plusieurs caractéristiques des NPs en font des alternatives aux antibiotiques traditionnels. Premièrement, le grand rapport surface-volume des NPs augmente la surface de contact avec les organismes cibles. Les NPs peuvent agir comme des molécules à l'échelle nanométrique interagissant avec les cellules bactériennes, régulant la pénétration de la membrane cellulaire et interférant avec les voies moléculaires. Deuxièmement, les NPs peuvent renforcer les effets inhibiteurs des antibiotiques. Enfin, les combinaisons d'antibiotiques et de NP fournissent des mécanismes antimicrobiens complexes pour surmonter la résistance aux antibiotiques (Figure I-6).

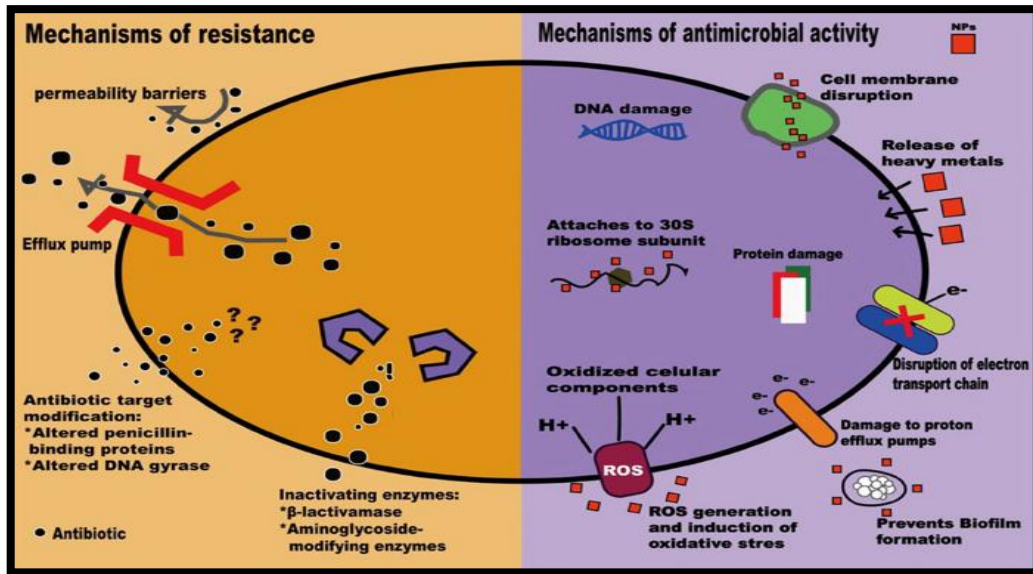


Figure I-6 : Mécanismes de résistance aux antimicrobiens et actions des nanoparticules (Lee, N. Y., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. 2019).

Au cours des dernières décennies, la recherche s'est intéressée aux applications biomédicales des nanoparticules métalliques issues de métaux tels que Ag, Au, Cu, Pt, etc. Parmi elles, les AgNPs ont suscité une attention majeure en raison de leurs propriétés antimicrobiennes uniques. Le mécanisme exact derrière l'action antimicrobienne des AgNPs n'a pas encore été illustré, mais grâce à des études de recherche récentes, il a été constaté qu'en raison de leur petite taille, les AgNPs peuvent facilement pénétrer la paroi cellulaire microbienne et générer des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les radicaux libres, ce qui conduit à l'apoptose (Prasher, P., Singh, M., & Mudila, H. 2018). Les applications antimicrobiennes des AuNPs sont liées à leur non-toxicité, leur facilité de détection, leurs effets polyvalents, leur grande capacité de fonctionnalisation et leurs propriétés photothermiques (Dizaj, S. M., et al. 2014). Usman et al. ont testé les activités antimicrobiennes des NP Cu–chitosane (2–350 nm) contre *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *P. aeruginosa* et *S. choleraesuis* (Usman, M. S., et al. 2013).

I.5.1.1. Activité antibactérienne

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème de santé majeur avec un impact massif à l'échelle mondiale. Au cours des dernières décennies, les industries pharmaceutiques ont concentré leurs préoccupations sur le développement de nouveaux antibiotiques avec une meilleure capacité à cibler les maladies bactériennes (Surwade, P., et al. 2019). Les nanoparticules sont devenues très utiles contre les infections bactériennes compte tenu de leur grande surface volumique et de la synergie élevée résultant de leurs

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

interactions multivalentes. Les AgNPs sont les nanoagents antibactériens les plus largement utilisés en raison de leur efficacité antimicrobienne à grande échelle contre plusieurs bactéries (Tang, S., & Zheng, J. 2018). Les AgNPs s'entremêlent via l'enveloppe cellulaire bactérienne, mais la cible cellulaire principale reste inconnue. Les effets combinés des AgNPs et des antibiotiques entraînent une activité antibactérienne accrue contre les bactéries résistantes aux médicaments (Yuwen, L., et al. 2018). Les nanomatériaux possèdent un pouvoir antibactérien supérieur contre les bactéries Gram-positif par rapport aux bactéries Gram-négatif. Les AgNPs peuvent constamment libérer Ag^0 , ce qui peut être considéré comme un moyen de tuer les microbes. Les approches qui illustrent le mécanisme d'action antibactérienne des AgNPs sont résumées dans (Figure I-7). L'adhérence des ions argent à la membrane cytoplasmique et à la paroi cellulaire se produit en raison de l'affinité électrostatique d' Ag^0 envers les protéines soufrées. Cela conduit à la perturbation de l'enveloppe bactérienne en améliorant la perméabilité de la membrane cytoplasmique (Khorrami, S., et al. 2018). L'absorption d' Ag^0 dans les cellules entraîne la désactivation des enzymes respiratoires, la formation d'ERO et l'interruption de la production d'ATP (Ramkumar, V. S., et al. 2017). Les EROs peuvent jouer un rôle primordial dans les processus de modification de l'ADN et de perturbation de la membrane cellulaire. L'interaction d' Ag^0 avec les composants soufrés et phosphorés de l'ADN entraîne une modification de l'ADN. De même, Ag^0 peut entraver la formulation de protéines en dénaturant les ribosomes dans le cytoplasme (Durán, N., Nakazato, G., & Seabra, A. B. 2016).

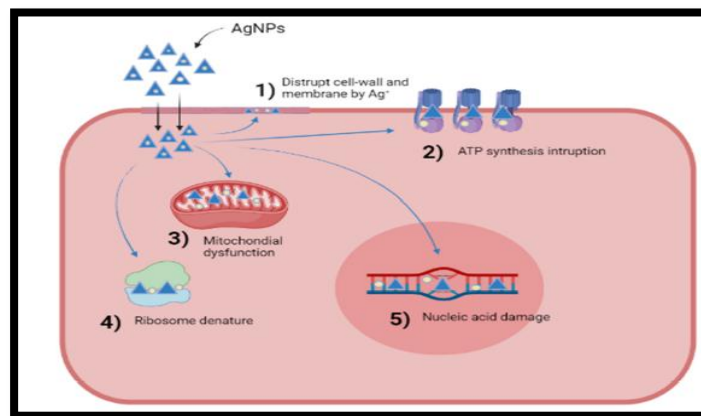


Figure I-7 : Le mécanisme d'action antibactérienne des AgNPs illustré par (1) la perturbation de la paroi cellulaire et de la membrane par les ions argent libérés par les AgNPs ; (2) AgNPs inhibant la synthèse d'ATP; (3) dysfonctionnement mitochondrial causé par l' Ag^+ libéré des AgNPs ; (4) dégradation ribosomique par les AgNPs ; (5) AgNPs endommageant l'acide nucléique en incorporant Ag^+ .

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

I.5.1.2. Activité antifongique

Depuis l'ère primitive, les infections fongiques ont considérablement contribué à l'escalade de la morbidité et de la mortalité. Des études ont montré que les épidémies causées par des champignons pathogènes peuvent être contrôlées en exploitant l'activité fongicide ou fongistatique des nanoparticules. Les AgNPs biosynthétisées stabilisées avec du dodécylsulfate de sodium (SDS) présentent une bonne activité antifongique par rapport au fluconazole et sont hostiles aux phytopathogènes tels que *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Fusarium semitectum*, *Candida glabrata*, *Phoma glomerata* et *Candida albicans*. L'activité antifongique des AgNPs biosynthétisées d'extraits de maïs hostiles au champignon phytopathogène *Phomopsis vexans* a été démontrée en réduisant l'expansion du mycélium de 30 à 40% dans le milieu Potato Dextrose Agar (PDA). Elgorban et al. 2016 ont analysé l'activité antifongique des AgNPs contre les champignons phytopathogènes *Rhizoctonia solani* infectant les plants de coton. De même, l'activité antifongique des ions Ag et des AgNPs hostiles à deux champignons phytopathogènes (*Bipolaris sorokiniana* et *Magnaporthe grisea*) a été rapportée.

Les voies mécanistes suivantes sont considérées comme responsables de l'activité antifongique des AgNPs : (i) les cellules fongiques absorbent facilement les AgNPs en raison de leur petite taille, ce qui entraîne la perturbation des parois cellulaires fongiques ; (ii) Les AgNPs fonctionnent comme une source d'ions Ag⁺ qui arrêtent la réplication de l'ADN et la synthèse de l'ATP, par la formulation de radicaux hydroxyles et de ERO. De ce fait, le cycle biochimique des cellules fongiques est arrêté, induisant la mort des cellules fongiques. En raison de la forte tendance d'Ag⁺ pour les groupes thiol de la protéine cystéine dans les cellules fongiques, les ions Ag⁺ présentent une activité anticandidique par l'inactivation de la synthèse d'ATP et de la fonction enzymatique, entraînant la mort cellulaire (Bamal, D., et al. 2021).

I.5.2. Activités antioxydants

Les antioxydants représentent une forme d'opposition aux oxydants. Les antioxydants sont des substances naturelles ou synthétiques qui peuvent prévenir ou retarder les dommages cellulaires causés par les oxydants (ERO, RNS, radicaux libres, autres molécules instables). Halliwell et Gutteridge ont défini l'antioxydant comme toute substance qui retarde, prévient ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible. Pour que la substance soit considérée comme un antioxydant, elle doit être active à faible concentration (les antioxydants phénoliques perdent souvent leur activité à forte concentration et agissent comme

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

prooxydant), sa quantité doit être suffisamment élevée pour désactiver la molécule cible, elle doit réagir avec des radicaux libres d'oxygène ou d'azote, et le produit final de la réaction doit être moins toxique que le radical éliminé. Il n'y a pas d'antioxydant universel, car différents antioxydants réagissent avec différentes espèces réactives par divers mécanismes, à divers endroits et protègent des cibles moléculaires spécifiques. Généralement, la défense antioxydante peut s'activer soit par des processus *in vivo* (synthèse d'enzymes intracellulaires : superoxydes dismutases, superoxydes réductases, peroxirédoxines, glutathion peroxydases, catalases, peptides - glutathion ; soit sous forme de défenses antioxydantes extracellulaires - synthèse de transferrine, érythrocytes, albumine, urate, glucose ; agents de faible masse moléculaire - bilirubine, α -cétoacides, mélatonine, acide lipoïque, coenzyme Q, acide urique) ou en apportant les substances manquantes sous forme de régime (vitamines - C, E, A, D, riboflavine, thiamine, niacine, pyridoxine, caroténoïdes, flavonoïdes, polyphénols, acides aminés, acide folique, phytoalexines, éléments Se, Fe, Zn, Mg) (Bedlovičová, Z., et al. 2020).

Les nanoparticules antioxydantes peuvent être classées en deux grandes catégories :

- ✚ Les nanoparticules aux propriétés antioxydantes inhérentes.
- ✚ Nanoparticule inerte fonctionnalisée avec des antioxydants.

Ces derniers peuvent être de types très différents, comme un noyau avec des antioxydants liés de manière covalente à la surface (par exemple, dans le cas des nanoantioxydants magnétiques), ou des supports passifs capables de délivrer et de libérer des antioxydants de petites molécules (par exemple, nano-encapsulés, nanotubes ou matériaux mésoporeux) (Figure I-8).

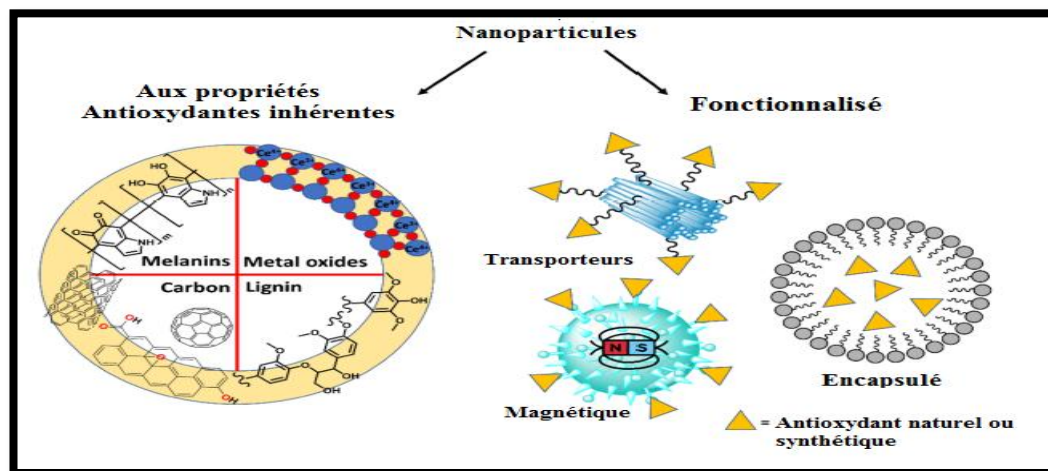


Figure I-8 : Des nanoparticules à activité antioxydante : « les nanoantioxydants » (Baschieri, A., & Amorati, R. 2021).

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

I.5.3. Photocatalyse

La photocatalyse est composée de deux mots bien connus, photo et catalyse. Le photocatalyseur est un terme qui signifie que le photon a répondu pour produire des espèces catalytiquement actives. Hagen a défini la photocatalyse comme "une modification de la vitesse des réactions chimiques ou de leur génération sous l'action de la lumière en présence de substances appelées photocatalyseur qui absorbe les quanta de lumière et participe aux transformations chimiques des réactifs". La photocatalyse est une méthode unique qui peut être utilisée à plusieurs fins telles que l'activité antibactérienne, la dégradation de divers polluants organiques dans les eaux usées, la production d'hydrogène, la purification de l'air.

L'activité photocatalytique est un processus d'interaction entre la catalyse et la lumière visible ou UV pour générer des espèces réactives telles que $\text{OH}\cdot$ et $\text{O}_2^{\cdot-}$ qui pourraient interagir avec les polluants organiques, entraînant l'élimination des polluants organiques. Récemment, le développement d'oxydes métalliques à l'échelle nanométrique a considérablement augmenté l'activité catalytique. Le rapport surface/volume très élevé des nanostructures les rend efficaces et prometteuses pour la photocatalyse et d'autres applications. Les catalyseurs de nanoparticules ont une efficacité photocatalytique supérieure par rapport aux substances photocatalytiques normales.

De nombreux chercheurs ont utilisé TiO_2 , ZnO , SnO_2 et CeO_2 comme photocatalyseurs. Parmi ces semi-conducteurs, TiO_2 et ZnO ont des énergies de bande interdite proches qui présentent une dégradation photocatalytique et une rentabilité. Ainsi, ils sont considérés comme une alternative efficace pour la minéralisation des polluants organiques. TiO_2 et ZnO ont un excellent comportement de photocatalyseur semi-conducteur car ils sont (i) hautement photocatalytiques, (ii) capables d'utiliser la lumière visible et/ou proche UV, (iii) ayant des stabilités physiques et chimiques élevées, (iv) photostables (constance vers photocorrosion), (v) bon marché et (vi) non toxique. Cependant, par rapport au TiO_2 , les NP de ZnO sont favorables en raison de leur rentabilité en raison de leur faible coût, de leur réactivité photochimique élevée et de leur nature non toxique (Fagier, M. A. 2021).

I.5.3.1. Toxicité du NP

Outre de nombreuses applications industrielles et médicales, il existe certaines toxicités associées aux NPs et autres nanomatériaux et des connaissances de base sont nécessaires pour que ces effets toxiques les rencontrent correctement. Les NPs pénètrent subrepticement dans l'environnement par l'eau, le sol et l'air au cours de diverses activités

Chapitre I : généralités et recherche bibliographique

humaines. Cependant, l'application de NP pour le traitement environnemental injecte ou déverse délibérément des NPs manufacturés dans le sol ou les systèmes aquatiques. Les avantages des NP magnétiques, tels que leur petite taille, leur grande réactivité et leur grande capacité, pourraient devenir des facteurs létaux potentiels en induisant des effets toxiques et nocifs cellulaires indésirables, inhabituels chez les homologues de taille micronique. Des études ont également illustré que les NPs peuvent pénétrer dans les organismes lors de l'ingestion ou de l'inhalation et peuvent se déplacer dans le corps vers divers organes et tissus où les NPs ont la possibilité d'exercer la réactivité étant des effets toxicologiques. Bien que certaines études aient également abordé les effets toxicologiques des NPs sur les cellules animales et les cellules végétales, les études toxicologiques avec les NPs magnétiques sur les plantes à ce jour sont encore limités. Les utilisations des NPs d'Ag dans de nombreux produits de consommation les conduisent à leur rejet dans le milieu aquatique et deviennent une source d'Ag dissous et exercent ainsi des effets toxiques sur les organismes aquatiques dont les bactéries, les algues et les poissons.

Le système respiratoire représente une cible unique pour la toxicité potentielle des NPs du fait qu'en plus d'être la porte d'entrée des particules inhalées, il reçoit également l'intégralité du débit cardiaque. L'une des toxicités des NPs est la capacité à s'organiser autour de la concentration en protéines qui dépend de la taille des particules, de la courbure, de la forme et de la charge des caractéristiques de surface, des groupes fonctionnalisés et de l'énergie libre.

Les NPs ont tendance à s'agréger dans l'eau dure et l'eau de mer et sont fortement influencées par le type spécifique de matière organique ou d'autres particules naturelles (colloïdes) présentes dans l'eau douce. L'état de dispersion va modifier l'écotoxicité, mais de nombreux facteurs abiotiques qui l'influencent, comme le pH, la salinité, la présence de matières organiques restent à investiguer systématiquement dans le cadre d'études écotoxicologiques (Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. 2019).

*Chapitre II: Matériels
et Méthodes*

II- Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, nous allons décrire la méthodologie utilisée pour la synthèse des nanoparticules d'argent et présenter les caractérisations des AgNPs biosynthétisées tel que (Spectroscopie réflectance totale atténuée -infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR), Microscope électronique à balayage (MEB), Spectrophotométrie UV-vis). Nous allons ainsi présenter l'activité antimicrobiennes de ces nanoparticules.

II.1. Lieu et durée de l'étude

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau de l'université Kasdi Merbah Ouargla (nouveau pôle universitaire), précisément dans le Plateau Technique en Analyses Physico-chimiques (PTAPC), Ce plateau est une institution à caractère particulier principalement destiné à la recherche de nouvelles méthodes d'analyses physiques et chimiques ainsi qu'à l'élaboration de nouveaux protocoles chimiques de synthèse et d'application, le centre est également invité à se spécialiser dans les analyses les plus complexes qui nécessitent les derniers équipements technologiques. Cette étude a été effectuée durant la période du 20 Mars 2022 au 30 mai 2022. Ce travail a pour objectif de biosynthèse extracellulaire des nanoparticules par des microorganismes et leurs applications antibactériennes.

II.2. Matériel biologique

II.2.1. Origine de souches utilisées

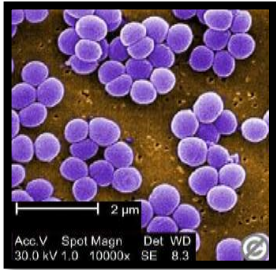
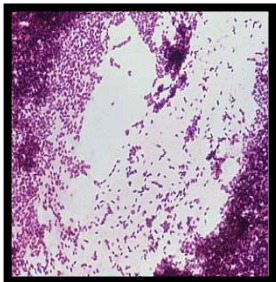
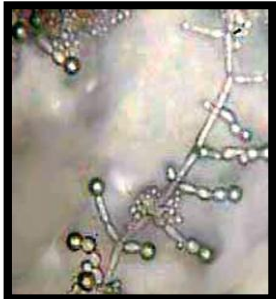
Trois souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) fournies par le laboratoire de bactériologie médical de laboratoire interne de l'hôpital "Mohamed Boudiaf" Ouargla, ont été utilisées dans cette étude : *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 et une souche de levure *Candida albicans* ATCC 10237.

II.2.2. Caractéristiques de souches utilisées

Tableau II-1: Caractéristique des souches utilisées.

Les souches	Figure de la souche	Caractères généraux	Références
<i>S. aureus</i>		<ul style="list-style-type: none">• <i>S. aureus</i> parfois appelée staphylocoque doré.• Une coque (forme sphérique en grappe de raisin).• Gram⁺, coagulase⁺ et catalase⁺.• Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre.• Aéro-anaérobie facultatif, non sporule pas et immobile.	(Leyral et Vierling, 2007). (Jenul, C., & Horswill,

Chapitre II : Matériels et Méthodes

		<ul style="list-style-type: none"> • Naturellement présentes sur la peau et les muqueuses de l'homme et les animaux. • M.O pathogène responsable de toxoinfection alimentaire, infection rhinopharyngées et cutanées. • Température optimale de croissance à 37°. 	<p>A. R. 2019).</p>
<p><i>L. monocytogenes</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> • Une bactérie ubiquitaire (trouvée dans le sol et les réseaux hydriques). • Naturellement présente dans le tractus intestinal des animaux et de l'homme. • Bâtonnets courts ou coccobacilles, de 0,4-0,5 µm de large et 1-2 µm de long. • Gram⁺, catalase⁺ et oxydase⁻. • Aéro-anaérobie facultatif, non sporule pas, ni de capsule et mobiles. • C'est une bactérie pathogène (provoque la listériose). • Température optimale de croissance entre 30° à 37°. 	<p>(Nwachukwu, N. C., & Orji, F. A. 2012).</p> <p>(Dumas, E. 2007).</p> <p>(Skowron, Krzysztof, et al.2019).</p> <p>(Bakış, G., & Derleme, G. 2021).</p>
<p><i>C. albicans</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> • Un champignon saprophyte. • Présent dans le microbiote humain du tractus gastro-intestinal, de la cavité buccale et du vagin. • Se multipliant par bourgeonnement. • Sa paroi est principalement composée de polysaccharides, de polypeptides et de protéines. • sont des champignons levuriformes dont l'appareil végétatif peut se présenter sous des formes variées (blastospores ovales de 2 à 5 µm, filaments ou pseudofilaments). • provoquer des infections superficielles touchant les muqueuses et la peau. • Responsable de maladie candidose. 	<p>(El-Din, A et al. 2012).</p> <p>(Di Cosola, Michele, et al. 2021).</p> <p>(El Kirat, Sofiane. 2010)</p> <p>(Lu, Hui, et al. 2021).</p>

II.3. Méthodes

II.3.1. Revivification et purification des souches

Les 03 souches *S. aureus* ; *L. monocytogenes* et *C.albicans* ayant subi une conservation ont été revivifiées par repiquage de 1 ml de chaque souches dans tube contenant

5 ml de bouillon nutritif (BN) suivie d'une incubation à 37°C° pour les deux souches bactériennes *S. aureus* et *L. monocytogenes* et à 30°C° pour la souche de levure *C.albicans* pendant 24h. Les résultats de la revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

Les souches revivifiées ont été purifiées par ensemencement par stries sur milieu gélose nutritif (GN) et incubées à 37°C° pour les deux souches bactériennes *S. aureus* et *L. monocytogenes* et à 30°C° pour la souche de levure *C.albicans* pendant 24h puis on prélève une colonie de chaque souche pour l'ensemencer dans le milieu du bouillon nutritif (BN). Cette opération a été répétée 3 fois jusqu'à ce que les souches bactériennes soient pures (Zarour, K., et al. 2012).

II.3.2. Synthèse des nanoparticules d'argent

La synthèse a été faite par le protocole décrite par Jeevan et al (Jeevan, P., et al. 2012). Les souches étudiées « *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Candida albicans* » ; ont été inoculées dans un flacon de 250 ml contenant 200 ml de bouillon nutritif stérile. Le milieu inoculé a été incubé à 37°C° dans un incubateur à 120 tr/min pendant 24 heures. Après 24 heures, la culture a été centrifugée pour séparer le surnageant et le culot.

La centrifugation a été effectuée à 4000 tr/min à température de 4°C pendant 10 minutes. Le surnageant obtenu après la centrifugation a été utilisé pour la synthèse des Ag NPs. Le surnageant a été mélangé avec une solution d'AgNO₃ à une concentration de 0,8 mM puis incubé à 30°C° pendant 24 à 48 h sous agitation (100 tr/min). La synthèse a été contrôlée par le changement de couleur du milieu de culture du jaune au brun par inspection visuelle du flacon de culture (Figure II.1).

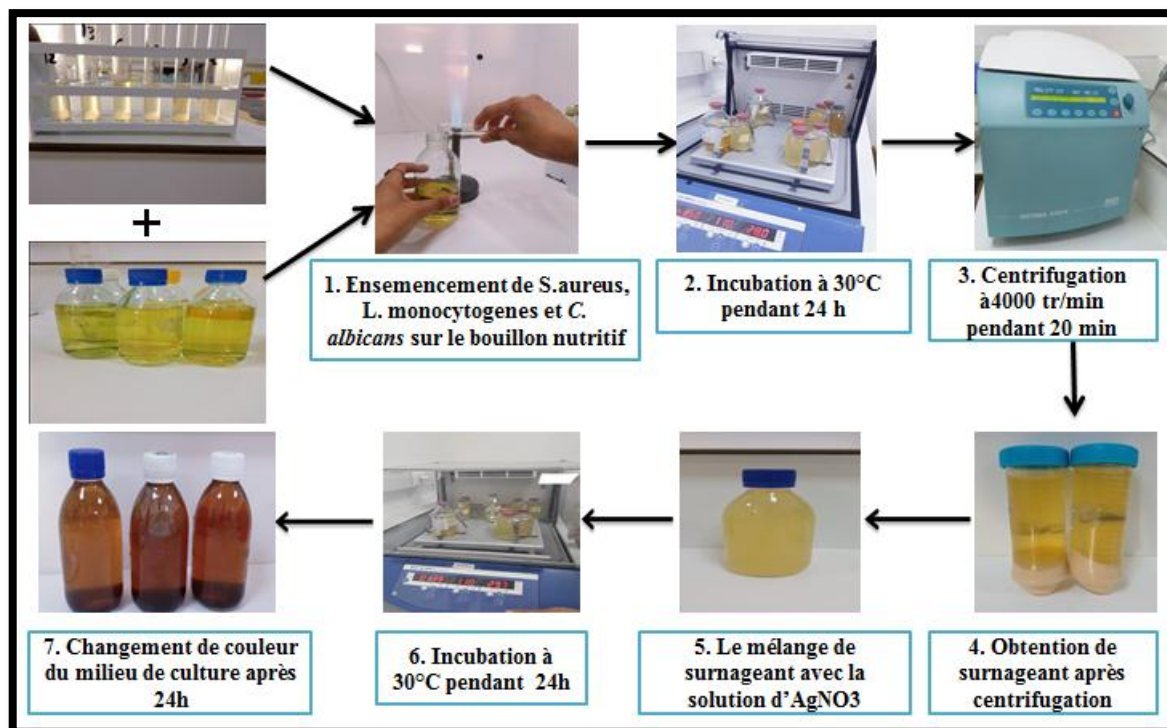


Figure II-1 : Étapes de synthèse de nanoparticules d'argent.

II.3.2.1. Purification des nanoparticules d'argent

La solution d'Ag NPs obtenue après 24h est placée dans la centrifugeuse à 4000 tr/min pendant 20 minutes. Le culot obtenu a été soigneusement nettoyé avec de l'eau distillée, ensuite la solution a été placée dans une centrifugeuse à 4000 tr/min pendant 10 minutes, ce procédé a été répété 03 fois successives. Après centrifugation, le culot obtenu a été mélangé avec l'éthanol puis séché à l'étuve à 90°C pendant 24h. Les Ag NPs purifiées ont été séchées pour obtenir une poudre.

II.3.3. Caractérisation des AgNPs biosynthétisées

La caractérisation des propriétés physiques et chimiques des NPs synthétisées biologiquement doit être examinée avant leurs applications ultérieures. L'examen de caractéristiques telles que la surface, la composition de la taille et de la forme, la pureté, la résistance et l'homogénéité, etc. fournit les données nécessaires sur les cadres à l'échelle nanométrique et des informations sur le contrôle de la production des NPs pour les applications industrielles. La caractérisation des AgNPs est réalisée par la spectroscopie UV-visible, La spectroscopie (ATR-FTIR), la microscopie électronique à balayage (MEB) (Kumari, S., et al. 2020).

II.3.3.1. Spectrophotométrie UV-vis

La spectrophotométrie UV-vis est l'une des plus utilisées technique de caractérisation de nanoparticules synthétisées qui est également utilisé pour surveiller la stabilité et la synthèse des AgNPs. L'UV-vis mesure le rapport de l'intensité de deux faisceaux de lumière dans la région UV-Visible. En AgNPs, la bande de valence et la bande de conduction se situent très proches les unes des autres dans lesquelles la libre circulation des électrons. Ces électrons produisent une bande de résonance de plasmon de surface (SPR) en raison de l'oscillation combinée d'électrons d'AgNPs en résonance avec l'onde lumineuse incidente (Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. 2017).

L'analyse a été effectuée avec des cuvettes de quartz comme récipient d'échantillon (mélange réactionnel après achèvement de la réaction), suivie de mesures l'absorbance et a été enregistrée sur la spectroscopie UV-visible dans la plage 200 -800 nm gamme de longueurs d'onde en utilisant (Cary 100 Series UV-Vis) spectrophotomètre.

II.3.3.2. Spectroscopie réflectance totale atténuée -infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR)

La spectroscopie ATR-FTIR est utilisée pour étudier la chimie de surface des nanoparticules métalliques et pour déterminer si les biomolécules sont impliqué dans la synthèse des nanoparticules (Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. 2017). Elle est basée sur le principe optique de la réflectance, phénomène optique bien connu. L'orsque un faisceau de lumière infrarouge est passé à travers un cristal ATR de telle manière que le faisceau est réfléchi à la surface entre le cristal et milieu adjacent. Cette méthode ne nécessite que très peu de préparation de l'échantillon, et permet d'analyser aussi bien les liquides que les solides (Bieberle-Hütter, A., et al. 2021). Pour l'analyse, L'échantillon de nanoparticules en poudre a été placé dans le porte-échantillon et les spectres ATR-FTIR ont été enregistrés à l'aide de (Cary 600 Series FTIR spectrophotomètre) dans la plage de 4000 à 500 cm^{-1} (Shume, W. M., et al. 2020).

II.3.3.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

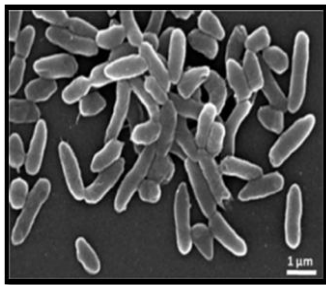
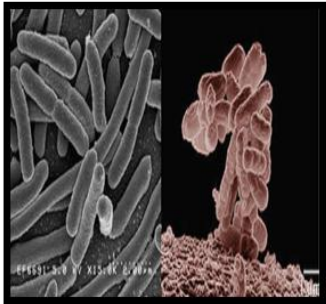
La Microscopie électronique à balayage est une technique utilisée pour enregistrer les images micrographique ; la structure et la compositions élémentaire des AgNPs. La MEB utilise un faisceau d'électrons à haute énergie qui est balayé sur la surface de l'échantillon d'AgNPs, puis l'observation des électrons rétrodiffusés fournit des caractéristiques de l'échantillon (Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. 2017). Pour l'analyse ; une goutte de suspension de AgNPs a été déposée sur de l'aluminium recouvert grille MEB et ont été

mesurées à l'aide de (Zeiss evo 15 Microscope électronique à balayage) pour connaître la composition élémentaire AgNPs échantillon (Shume, W. M., et al. 2020).

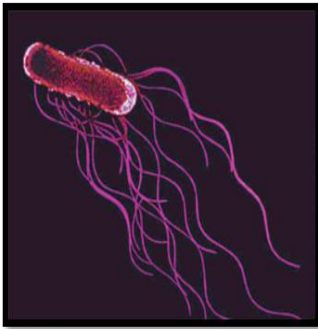
II.3.4. Évaluation de l'activité antibactérienne

II.3.4.1. Caractéristiques des souches bactériennes testées

Tableau II-2: Caractéristiques des souches bactériennes testées.

Les souches	Figure de la souche	Caractères généraux	Références
<i>P. aeruginosa</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Une bactérie à Gram négatif hétérotrophe. • Aérobie stricte, ubiquitaire, saprophyte et naturellement résistante aux antibiotiques. • Mobile, en forme de bâtonnet, d'environ 1 à 5 μm de long et de 0.5 à 1.0 μm de large. • Un pathogène opportuniste, responsable dans des conditions favorables, d'infections graves communautaires et surtout nosocomiales. • Température optimale de croissance de 42°C. 	<p>(Galdino, A. C. M., et al. 2017).</p> <p>(Rossi, E., et al. 2021).</p> <p>(Pang, Z., et al. 2019).</p>
<i>E.coli</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Bacille à Gram-négatif, oxydase négatif (2 à 4μm de long sur 0,4 à 0,6μm de large). • Anaérobie facultative immobiles ou mobiles grâce à des flagelles disposés de manière péritriche. • Réduisent le nitrate en nitrite. • Utilise le glucose par voie fermentatives. • Poussent sur milieu ordinaire. • <i>Escherichia coli</i> représente la première cause de bactériémie. 	<p>(Avril, J. L., et al. 2000).</p> <p>(Daga, A. P., et al. 2019),</p> <p>(Gueye, O. 2007).</p> <p>(Jaureguay, F., et al. 2008).</p>

Chapitre II : Matériels et Méthodes

<i>S. enterica</i>		<ul style="list-style-type: none">• Une bactérie à Gram négatif, oxydase négatif.• Aérobie ou anaérobie facultative, en forme de bâtonnet.• Mobile par les flagelles péritriche, non sporulant.• Mésophile 30 à 43°C.• Réduisent les nitrates en nitrites.• Représente les agents pathogènes d'origine alimentaire.	(Brands, D. A., & Alcamo, I. E. 2006). (Jajere, S. M. 2019). (Wang, X., et al. 2021).
--------------------	---	--	---

II.3.4.2. Milieux de cultures utilisés

Un seul milieu de culture a été utilisé pour tester l'action d'AgNPs synthétisées contre les souches décrites, il s'agit de milieu Mueller Hinton « MH ».

II.3.4.3. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) dissoutes dans de l'eau distillée et stérilisées à 100°C pendant 30 minutes ont été testées pour leur activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque citée par Oza *et al.* Les AgNPs synthétisées à partir de (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 et *Candida albicans* ATCC 10237) ont été testées pour l'activité antibactérienne par la méthode de bien-diffusion contre différents agents pathogènes humains, notamment les bactéries Gram-positifs (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300), les bactéries Gram-négatifs (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, et *Salmonella enterica* ATCC 6017). Les cultures bactériennes ont été cultivées au (BN) pendant 18 h sous agitation à 37°C°, 1 ml de chaque cultures pures ont été inoculées dans le bouillon nutritif pour diluée la charge bactériennes et ont été étalés à l'aide d'un coton-tige stérile sur toute la gélose, puis laisser sécher les boites. L'étape finale de la réalisation de l'activité antibactérienne par la méthode de bien diffusion, des disques stériles de 6 mm de diamètre (du papier Wathman N° 04) ont été préparés, les disques stériles ont été déposés sur la surface de la gélose de Mueller Hinton (MH) à l'aide d'une pince, les disques stériles imbibés d'environ 10 µl à l'aide d'une micropipette de l'échantillon des différentes concentrations de solution d'AgNPs (C1=10mg/ml, C2=5mg/ml, C3=2,5mg/ml, C4=1,25mg/ml, C5=0,62mg/ml, C6=0,31mg/ml). Après incubation à 37°C° pendant 18 heures, les différents niveaux de zone d'inhibition (ZI) entourant le disque ont été mesurés (Oza, G., et al. 2012) (Figure II.2).

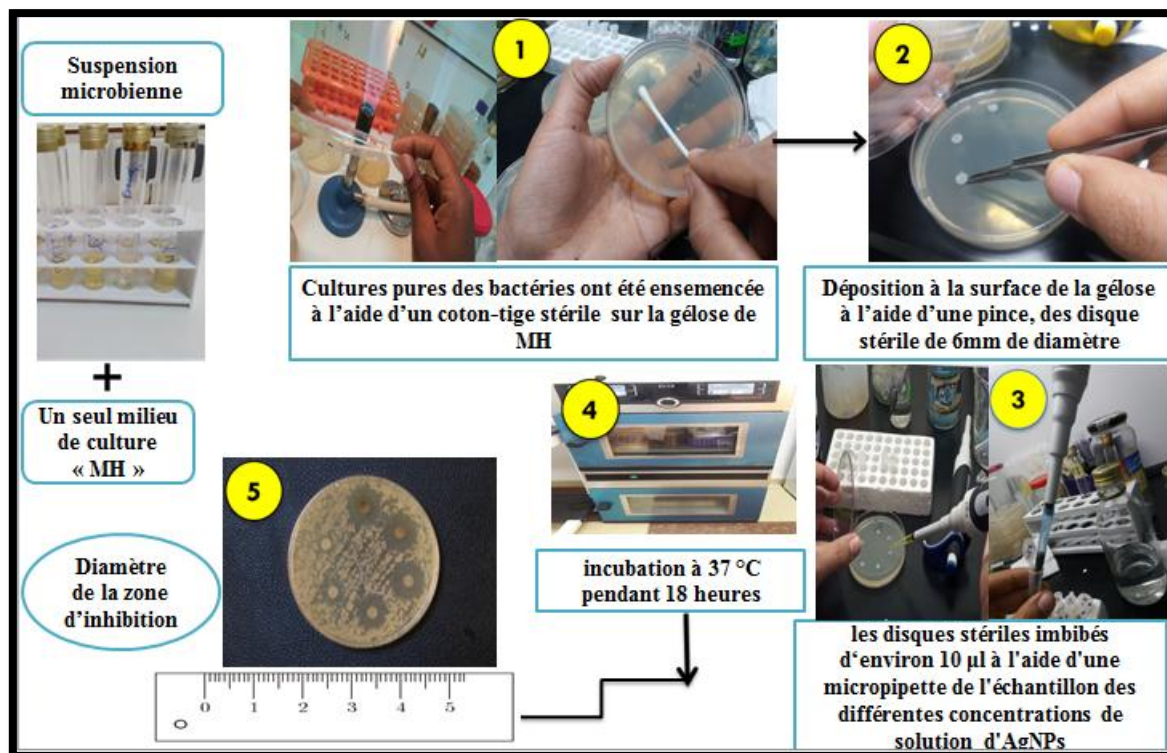


Figure II-2 : Etapes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent.

Pour quantifier l'activité antibactérienne, le diamètre de l'inhibition a été mesuré avec une règle et exprimé en millimètre (Tableau II.3) (Oinaala, D., et al. 2015).

Tableau II-3: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Mouas, Y., Benrebiha, F.Z., Chaouia, C., 2017).

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre <8mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre >20mm

Ce chapitre a présenté les différentes méthodes suivies pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir de *S.aureus*, *L.monocytogenes*, *C.albicans*, les caractérisations des AgNPs biosynthétisées et ainsi que la méthode de l'activité antibactérienne.

*Chapitre III: Résultats
et Discussions*

III- Résultats et discussion

Dans ce chapitre, la biosynthèse des nanoparticules d'argent par les deux souches bactériennes *S. aureus*, *L. monocytogenes*, et la souche de levure *C. albicans*, les caractérisations des AgNPs biosynthétisées et l'activité antibactérienne seront discutés. Le choix d'une bactérie pour la synthèse est en fonction de son adaptation à diverses conditions telles que la température, l'aération et le temps d'incubation, également à sa croissance rapide, culture facile et pour essayer à remplacer les méthodes chimique et physique qui sont toxique et dangereux pour la santé et l'environnement.

III.1. Synthèse de nanoparticules d'argent

Dans la présente étude, la biosynthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent par le surnageant de culture de *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *C. albicans* ont été étudié. Les observations visuelles ont montré un changement de couleur du surnageant de culture après l'ajoute des nitrates d'argents, elle passe du jaune au marron (Figure III.1). Alors qu'aucun changement de couleur n'a été observé sans nitrate d'argent.

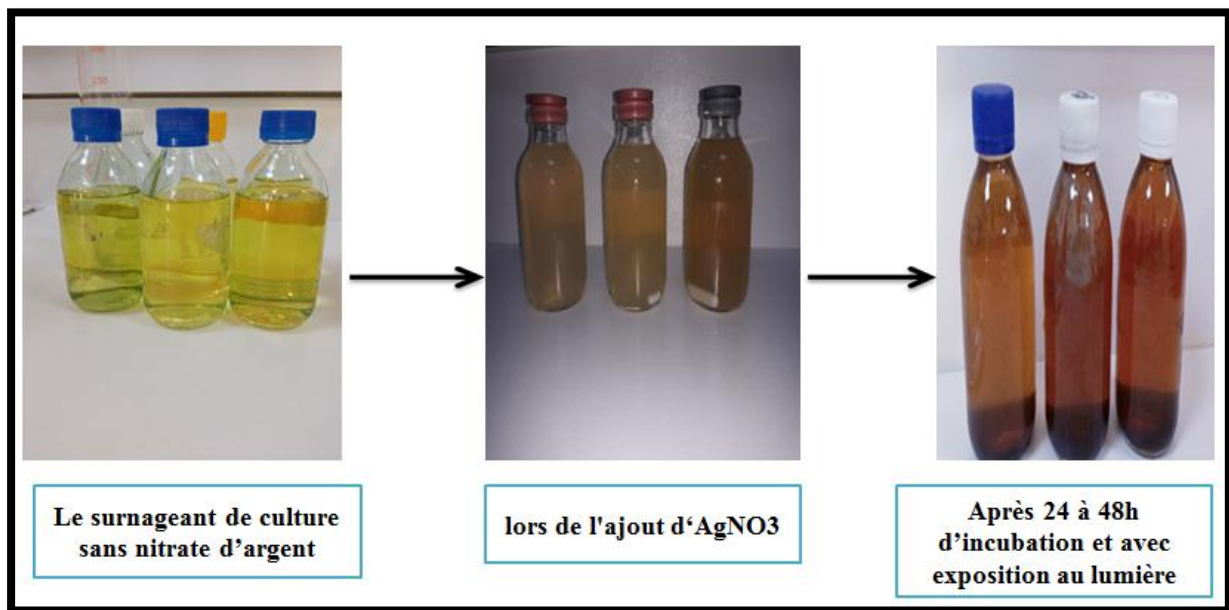


Figure III-1 : Changement de couleur des nanoparticules d'argent synthétisées par *S.aureus*, *L.monocytogenes* et *C.albicans*.

L'apparition d'une couleur brun foncé dans le surnageant de culture traité au nitrate d'argent a suggéré la formation de nanoparticules d'argent (Jeevan, P., Ramya, K., & Rena, A. E. 2012). Une observation similaire a été faite par Duran et *al*, dans la biosynthèse extracellulaire des AgNPs par la souche *Fusarium oxysporum* (Marcato, P. D., et *al*. 2005), également une autre observation a été faite par Singh et *al*. Dans la synthèse extracellulaire

Chapitre III : Résultats et discussions

d'AgNPs par la souche *Sporosarcina koreensis* DC4 (Singh, H., et al. 2018) et la souche *Bacillus methylotrophicus* (Wang, C., et al. 2016).

En fait, la couleur brune des AgNPs résulte de la vibration concomitante d'électrons libres de l'argent métallique qui sont en résonance avec l'onde lumineuse. Cela explique l'origine de l'absorption par résonance plasmonique de surface (SPR) souvent observée avec des NPs métalliques (Kambale, E. K., et al. 2020). Le rendement des AgNPs produits par les 03 souches suivantes (*C.albicans*, *S.aureus*, *L.monocytogenes*) illustré par les graphiques suivants (Figure III.2).

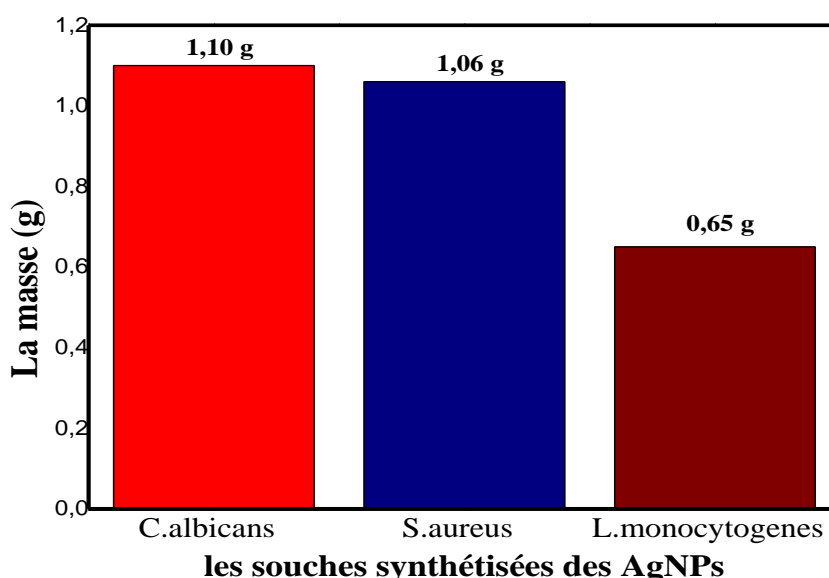


Figure III-2: Le rendement des AgNPs synthétisées.

Une grande quantité des AgNPs a été produite par la souche *C.albicans* qu'est supérieur à celui des souches *S.aureus* et *L.monocytogenes*. La biosynthèse des AgNPs par les levures est considérée comme plus simple, rapide, facile et ont un baguage enzymatique très chargées pour une production stable d'AgNPs par rapport aux bactéries (Roychoudhury, A. 2020). Les levures sont des microorganismes eucaryotes sécrétés des polymères qui permettent des réduisent les ions d'argent en nanoparticules d'argent par rapport aux bactéries qui sécrétaient des enzymes et le taux de génération de chaque bactérie jouées un rôle très important au cours de la biosynthèse. Le taux de génération de *S. aureus* est entre 10 à 20 min et le taux de génération de *L. monocytogènes* est 45 min pendant les 18h la production des enzymes par *S.aureus* est plus élevé que de *L. monocytogènes* ce qui explique la différence dans la masse des nanoparticules d'argent biosynthèse entre les deux bactéries (Roychoudhury, A. 2020).

Le principe de la synthèse des AgNPs à l'aide de microorganismes est un processus de bioréduction, les ions d'argent sont réduits par les enzymes nitrate réductases produites par les micro-organismes (qui sont soit situées dans la paroi cellulaire, soit sécrétées de la cellule vers le milieu de croissance) en nanoparticules d'argent (K.C. Mounika and Katta. M., 2017). Le mécanisme exact de la biosynthèse des AgNPs n'est pas connu. Cependant, il a été émis une hypothèse dans la synthèse extracellulaire que les bactéries réduisent les ions Ag^+ en leur forme élémentaire (Ag^0) qui s'accumule à l'extérieur de la cellule et entraîne la formation d'AgNPs. La présence de divers composants tels que des enzymes, des protéines et d'autres molécules biologiques dans les micro-organismes joue également un rôle important dans le processus de réduction des AgNPs (Figure III.3).

Les AgNPs produits de manière extracellulaire ont des formes et des tailles variées telles que hexagonales, sphériques, triangulaires, circulaires, disque et cubiques, qui dépendent des milieux de culture utilisés pour la culture des bactéries.

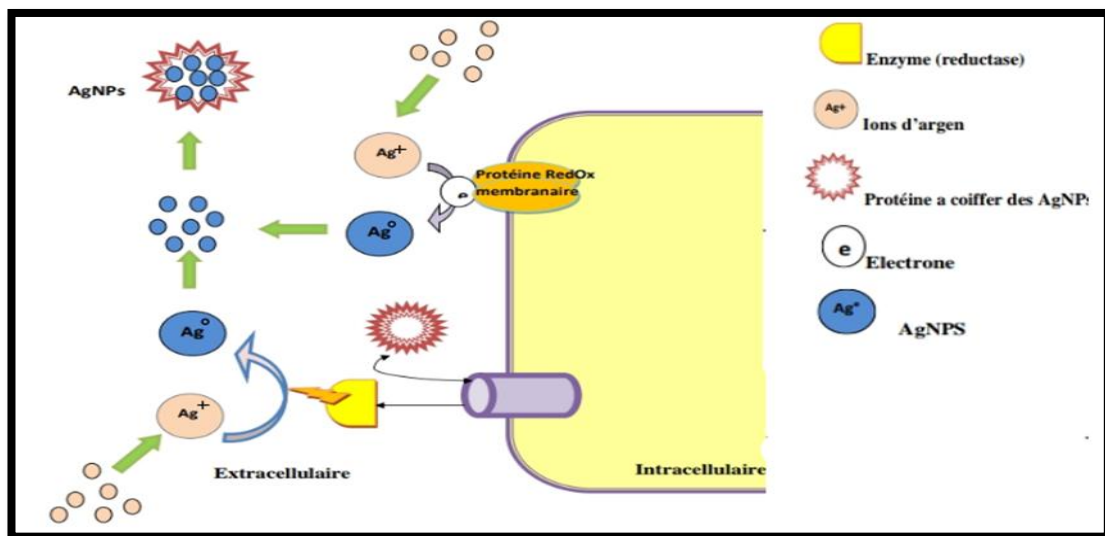


Figure III-3 : Mécanisme extracellulaire de biosynthèse des nanoparticules d'argent par des bactéries médiées par l'enzyme réductase (Bahrulolum, H., et *al.* 2021).

III.1.1. Purification des nanoparticules d'argent

La poudre d'AgNPs obtenue après le séchage de solution d'AgNPs dans l'étuve est présentée dans la figure (III.4).



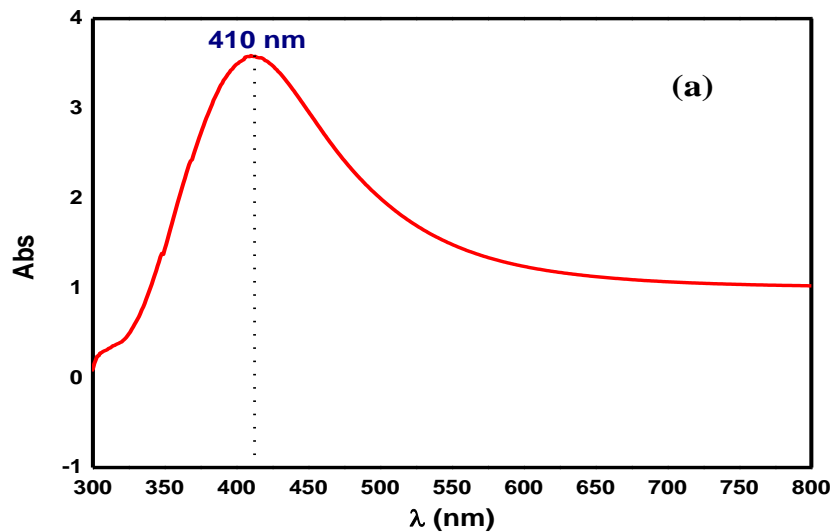
Figure III-4 : Poudre de nanoparticule d'argent.

III.2. Caractérisations des AgNPs biosynthétisées

III.2.1. Spectroscopie UV-Visible

La détection primaire de la synthèse des AgNPs a été observé suite à un changement de couleur du jaune clair à brun foncé. Le changement de couleur progressif était l'indication claire de la réduction d'AgNO₃ à travers un composant réducteur présent dans le filtrat cellulaire (Figure III.1).

La figure (III.5) montre les Spectres UV- visible des AgNPs synthétisées. On observe des pics d'absorbance à 410 nm (Figure III.4a), 454 nm (Figure III.4b) et 474 nm (Figure III.4c) pour les AgNPs biosynthétisées avec le *C. albicans*, *L. monocytogènes* et *S. aureus*, respectivement.



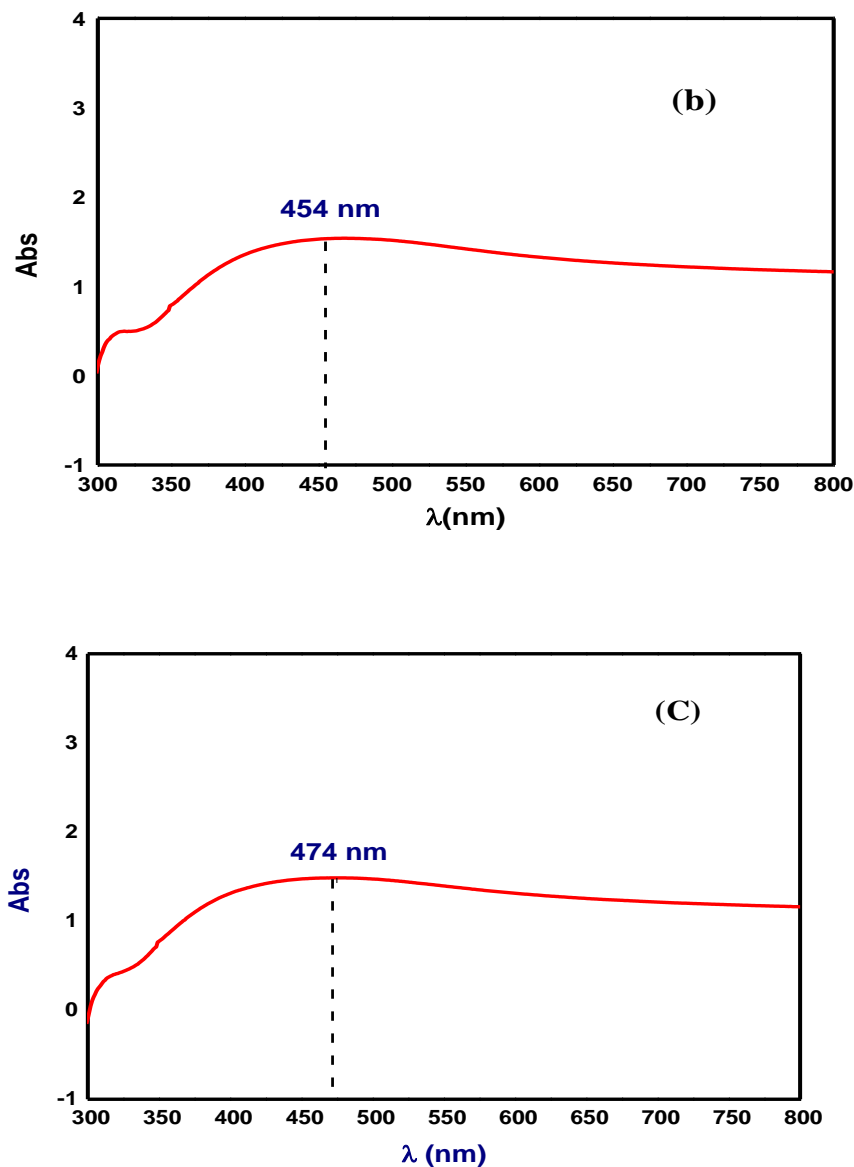


Figure III-5 : Spectre UV- visible des AgNPs synthétisées.

Les pics observés indiquent le phénomène de résonance plasmonique de surface (SPR) des AgNPs (Ali, J., et *al.* 2017), les AgNPs affichent une bonne absorption dans le spectre visible, avec un maximum dans la plage de 400 à 500 nm (Bamal, D., et *al.* 2021). Le déplacement de λ_{\max} de SPR du bleu au rouge pourrait être lié à l'obtention d'AgNPs à différentes tailles et formes (Jaast, S., & Grewal, A. 2021).

Des études antérieures ont également révélé que les particules sous la plage SPR entre 420 et 450 nm étaient attribuées aux AgNPs comprenant des tailles variables allant de 2 à 100 nm. Si le spectre SPR des AgNPs était compris entre 410 et 450 nm, cela indiquait que la biosynthèse des AgNPs étaient ronds et sphériques (Korbekandi, H., et *al.* 2016).

III.2.2. Spectroscopie réflectance totale atténuée - infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR)

Des mesures ATR-FTIR ont été effectuées pour identifier les interactions possibles entre le sel d'argent et les molécules protéiques, qui pourraient expliquer la réduction des ions d'argent Ag^+ et la stabilisation des AgNPs bio-réduits. La figure III.6 montre l'analyse spectroscopique ATR-FTIR des AgNPs synthétisés par *C. albicans* (a) et *L. monocytogènes* (b).

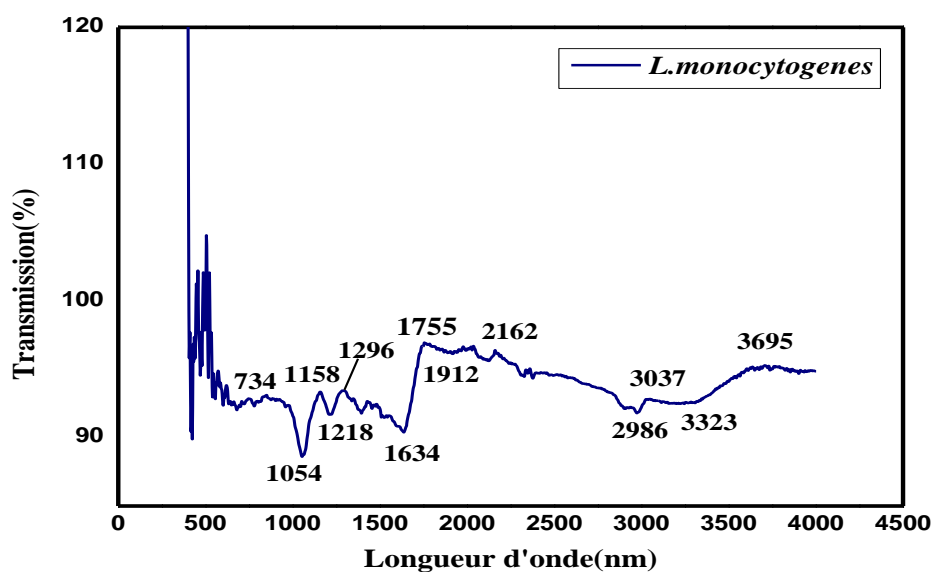
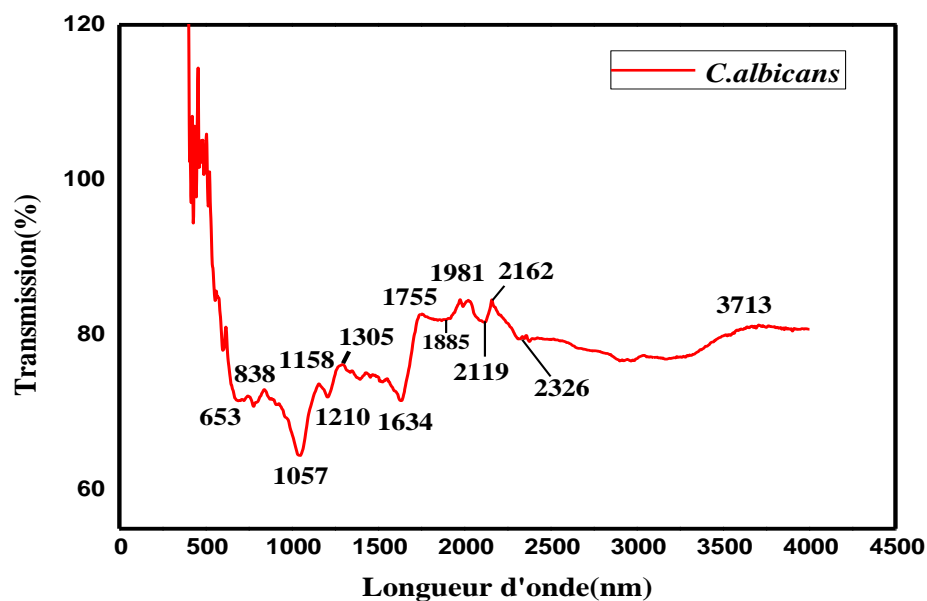


Figure III-6: Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR).

Le spectre ATR montre (Figure III.6(a)) des pics d'absorption observée à 1057, 1158, 1305, 1634 et 1755 cm^{-1} . Les pics 1057, 1158 et 1305 cm^{-1} correspondent à des vibrations d'étirement (–C–N) de l'amide I (Jeevan, P., Ramya, K., & Rena, A. E. 2012). Tandis que le pic à 1634 cm^{-1} est caractéristique des vibrations d'étirement carbonyle dans les liaisons amide et a été reconnue sous forme d'amide I. Le pic 1755 cm^{-1} indique la vibration d'étirement du groupe carbonyle (C=O). Dans la Figure III.6 (b), le spectre ATR montre différents pics d'absorption positionnés à 734, 1054, 1158, 1634, 1755 et 3323 cm^{-1} . Le pic 734 cm^{-1} peut être lié au groupe de protéines (C–H). Le pic d'absorption à 1054 cm^{-1} peut être représenté les vibrations de flexion (C–O–H) dues aux protéines (Ali, J., et al. 2017), et le pic 1158 cm^{-1} correspond à des vibrations d'étirement (–C–N) de l'amide I (Jeevan, P., Ramya, K., & Rena, A. E. 2012), tandis que le pic à 1634 cm^{-1} est caractéristique des vibrations d'étirement carbonyle dans les liaisons d'amide I (Ali, J., et al. 2017). Le pic 1755 cm^{-1} indique la vibration d'étirement du groupe carbonyle (C=O). Le pic 3323 cm^{-1} qui est attribué pour (N–H) de l'amide I recouvert par (–O–H) (El-Bendary, M. A., et al. 2021).

L'observation globale confirme présence de protéines dans des échantillons de nanoparticules d'argent. Il a également été rapporté plus tôt que les protéines peuvent se lier aux nanoparticules soit par leurs groupes amines libres, soit par leurs résidus cystéine. Par conséquent, la stabilisation des nanoparticules d'argent par les protéines est une possibilité évidente (El-Bendary, M. A., et al. 2021).

Dans une étude antérieure, Bhat et al. ont constaté que les biomolécules protéiques présentes dans l'extrait de *C. albicans* se lient aux nanoparticules synthétisées par des acides aminés libres ou des carboxyles groupes, et les protéines extracellulaires libérées pourraient éventuellement stabiliser les AgNPs biosynthétiques (Jalal, M., et al. 2018).

III.2.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La figure III.7 montre les images MEB des NPs obtenues et elle révèle le cluster de structure sphérique en forme de cordon avec une distribution non uniforme. On peut observer que de plus grosses particules d'AgNPs se forment en raison de l'agrégation de nanoparticules qui pourrait être induite par l'évaporation du solvant lors de la préparation de l'échantillon. Cela pourrait avoir contribué à la variation de la taille des particules. Nos résultats ont de bonnes corrélations avec le rapport Nazeruddin (Saravanakumar, A., et al. 2015).

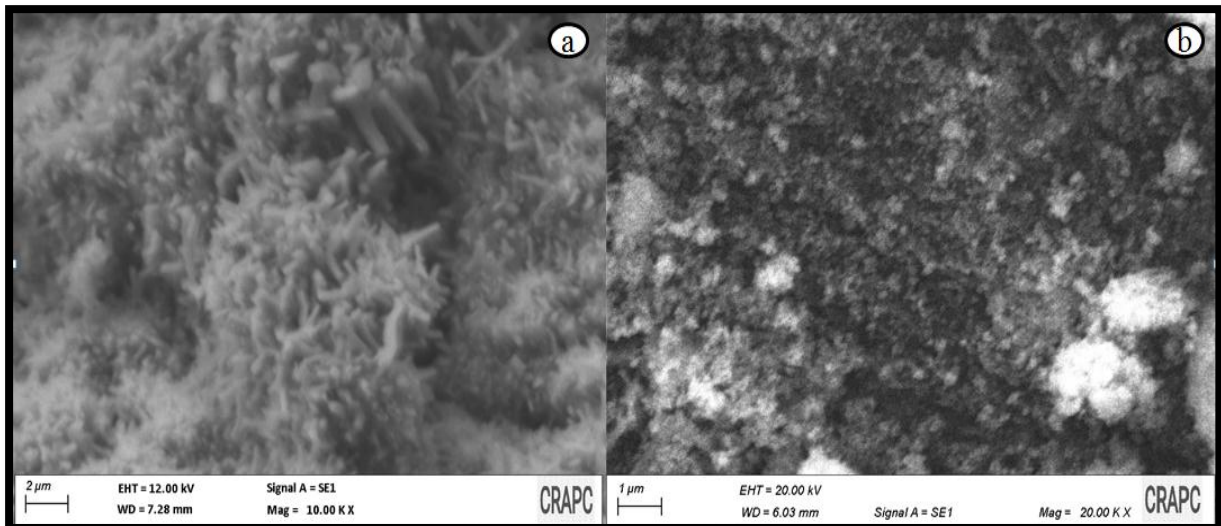


Figure III-7 : Les images MEB des AgNPs biosynthétisées par (a) : *C.albicans* et (b) : *L.monocytogenes*.

III.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des AgNPs synthétisés a été réalisée contre quatre espèces bactériennes à savoir les bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus*), et les bactéries Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella enterica*)

Les figures suivantes montrées les AgNPs synthétisées par *S.aureus*, *L.monocytogenes* et *C.albicans* contre les 04 souches testées. La sensibilité microbienne des nanoparticules d'argent varie selon les espèces microbiennes et la concentration d'AgNPs. Les AgNPs ont montrées un certain degré d'activité antibactérienne comme on peut le voir dans les boites de pétri selon le test de diffusion sur disque. La taille moyenne de la zone d'inhibition mesurée pour toutes les souches est présentée dans le tableau III.1. On observe que la zone d'inhibition est la même pour les petites concentrations d'AgNPs, ce qui laisse conclure que les nanoparticules d'argent sont très actives. Ainsi, on observe que l'augmentation de la concentration d'AgNPs inhibe progressivement la croissance des bactéries. *S. enterica* et *P. aeruginosa* sont les souches les plus sensibles alors que *S. aureus* et *E. coli* sont les souches les moins sensible ou résistant.

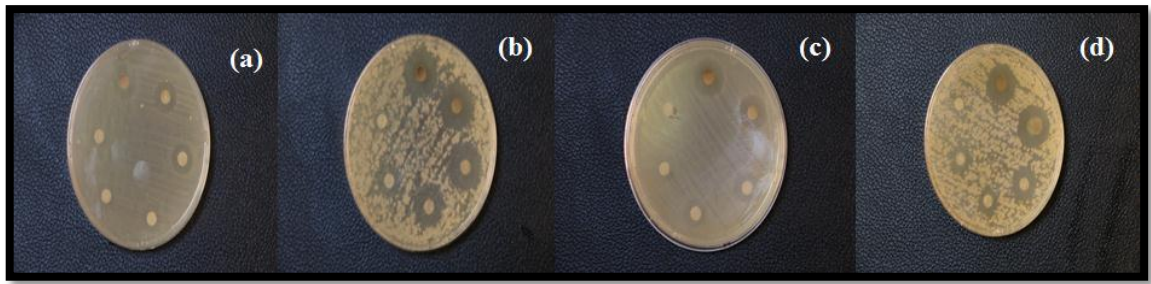


Figure III-8: AgNPs synthétisées par *S.aureus* contre (a) : *S.aureus*, (b) : *S.enterica*, (c) : *E.coli* et (d) : *P. aeruginosa*.

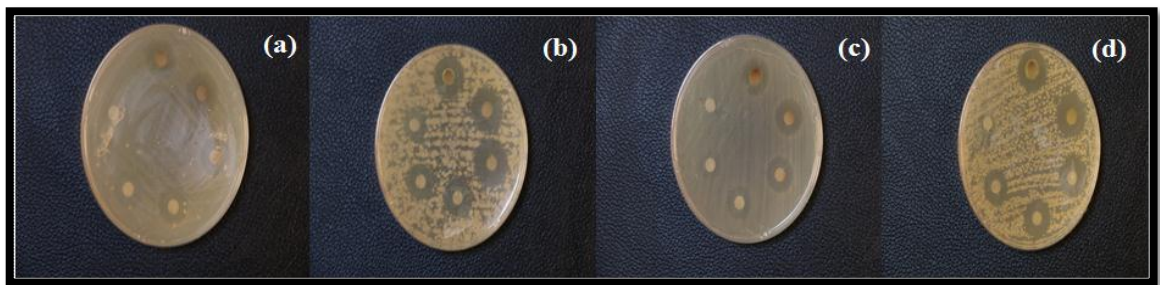


Figure III-9: AgNPs synthétisées par *L.monocytogenes* contre (a) : *S.aureus*, (b) : *S.enterica*, (c) : *E.coli* et (d) : *P. aeruginosa*.

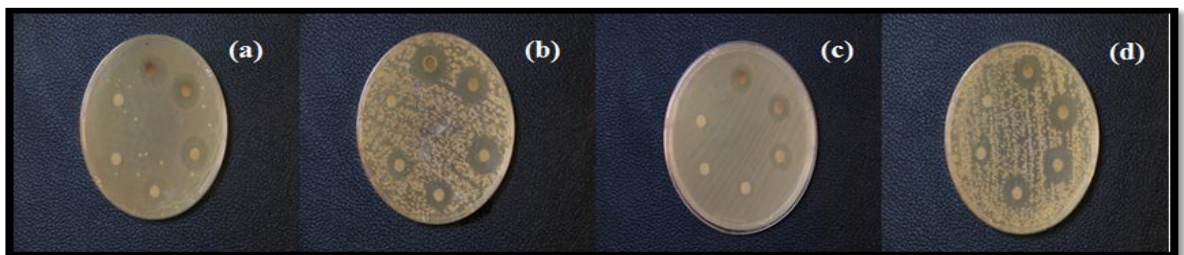


Figure III-10: AgNPs synthétisées par *C.albicans* contre (a) : *S.aureus*, (b) : *S.enterica*, (c) : *E.coli* et (d) : *P. aeruginosa*.

Tableau III-1: La taille moyenne de la zone d'inhibition de toutes les souches testées.

Les bactéries synthétisées des AgNPs	Les différentes concentrations (mg/1ml)	Les souches testées			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		<i>Diamètre de la zone d'inhibition</i>			
	SM (10mg/1ml)	12mm	16mm	9mm	14mm

Chapitre III : Résultats et discussions

<i>S.aureus</i>	(5mg/1ml)	12mm	16mm	8mm	15mm
	(2.5mg/1ml)	12mm	16mm	8mm	13mm
	(1.25mg/1ml)	9mm	14mm	4mm	8mm
	(0.62mg/1ml)	6mm	9mm	–	9mm
	(0.31mg/1ml)	4mm	5mm	–	2mm
<i>L.monocytogenes</i>	SM (10mg/1ml)	10mm	12mm	11mm	15mm
	(5mg/1ml)	12mm	14mm	10mm	16mm
	(2.5mg/1ml)	11mm	16mm	9mm	14mm
	(1.25mg/1ml)	10mm	13mm	9mm	12mm
	(0.62mg/1ml)	9mm	11mm	6mm	9mm
	(0.31mg/1ml)	8mm	8mm	6mm	4mm
<i>C.albicans</i>	SM (10mg/1ml)	10mm	15mm	11mm	12mm
	(5mg/1ml)	9mm	14mm	10mm	13mm
	(2.5mg/1ml)	8mm	14mm	9mm	14mm
	(1.25mg/1ml)	7mm	9mm	6mm	10mm
	(0.62mg/1ml)	6mm	9mm	5mm	6mm
	(0.31mg/1ml)	5mm	4mm	4mm	4mm

Les AgNPs biosynthétisées de *S. aureus* ont montrés une très bonne activité antibactérienne contre *Salmonella enterica* (ZI = 14 et 16 mm) et *P. aeruginosa* (ZI = 14, 15 et 16 mm), et ont montré une faible activité antibactérienne contre *S. aureus* (ZI = 9 et 12 mm) et *E. coli* (ZI = 4, 8 et 9 mm) (voir la Figure III.11). De plus, dans l'étude de cas d'*E. coli*, l'absence de zone d'inhibition avec des faibles concentrations en AgNPs montre que cette bactérie est hautement résistante aux AgNPs. La résistance des micro-organismes à divers agents antimicrobiens existants a déjà été signalée par quelques études, c'est ce qu'il a été

confirmé par Saravanan et *al.* dans son étude sur l'activité antibactérienne des AgNPs contre la souche *Vibrio cholera* (Saravanan, M., et *al.* 2014). Les histogrammes suivants montrés le diamètre de la zone d'inhibition de 4 souches testées en fonction de différentes concentrations de la solution d'AgNPs (C1= 10mg/ml, C2= 5mg/ml, C3= 2.5mg/ml, C4= 1.25mg/ml, C5= 0.62mg/ml, C6= 0.31mg/ml).

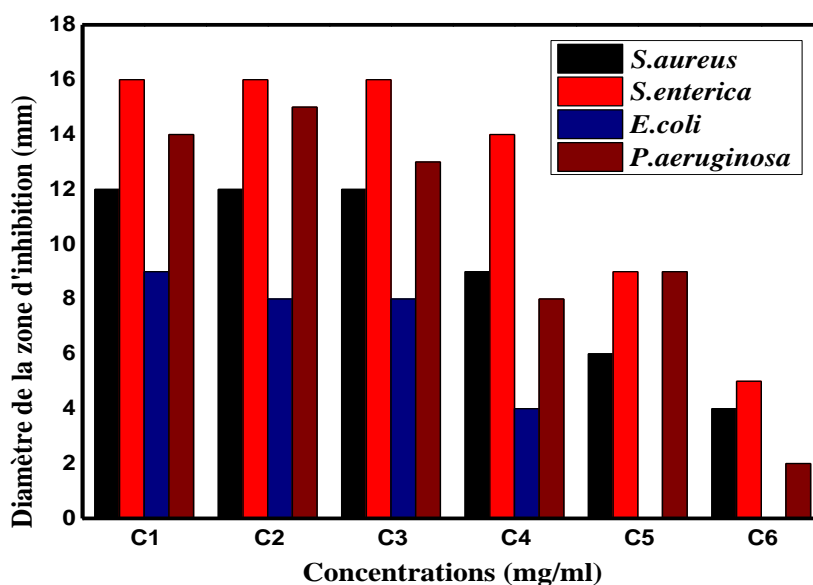


Figure III-11: Histogramme des zones d'inhibitions des AgNPs de *S.aureus* en fonction des différentes concentrations.

Les AgNPs biosynthétisées de *L. monocytogènes* ont montrés une très bonne activité antibactérienne contre *Salmonella enterica* (ZI = 14 et 16 mm) et *P. aeruginosa* (ZI = 15 et 16 mm), presque les mêmes résultats ont été observés dans l'étude de Saravanan et *al.* Sur l'activité antibactérienne des AgNPs élaboré par *Bacillus brevis* (NCIM 2533) contre *S.aureus* et *Salmonella typhi* (Saravanan, M., et *al.* 2018). Ainsi, une faible activité antibactérienne contre *S.aureus* (ZI = 11 et 12 mm) et *E. coli* (ZI = 9, 10 et 11 mm) sont observées (Figure III.12).

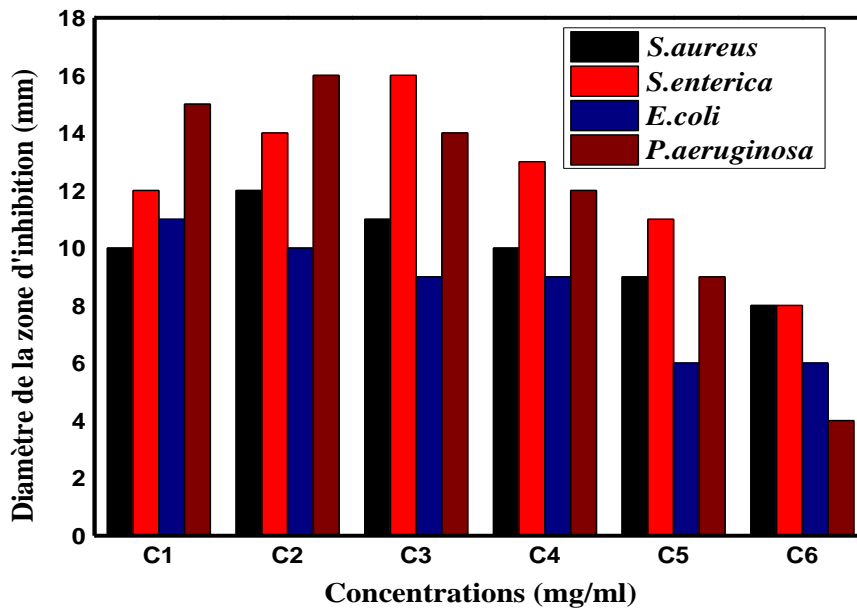


Figure III-12: Histogramme des zones d'inhibitions des AgNPs de *L.monocytogenes* en fonction des différentes concentrations.

Les AgNPs biosynthétisées de *C. albicans* a montré une très bonne activité antibactérienne contre *Salmonella enterica* (ZI= 14 et 15mm) et *P. aeruginosa* (ZI=12, 13 et 14mm), et ont montré une faible activité antibactérienne contre la zone d'inhibition *S.aureus* (ZI= 8, 9 et 10mm) et *E. coli* (ZI= 9, 10 et 11mm) sont observé (Figure III.13).

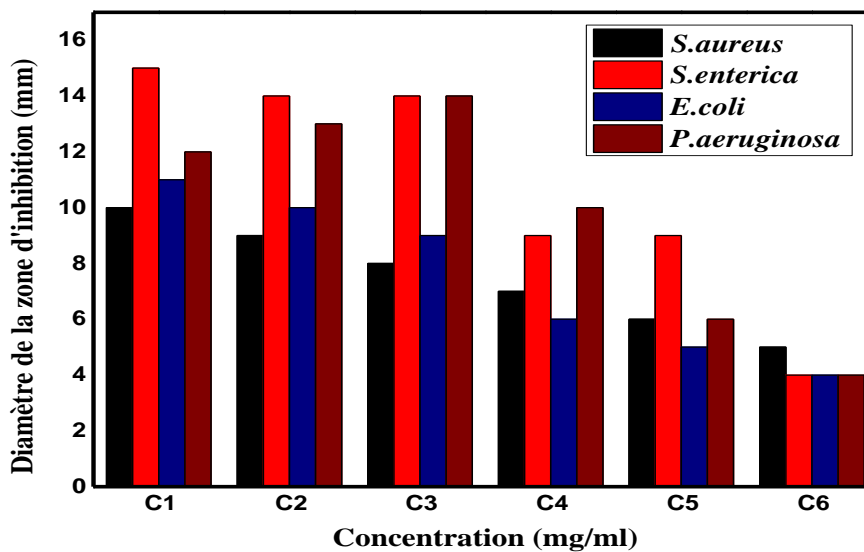


Figure III-13: Histogramme des zones d'inhibitions des AgNPs de *C.albicans* en fonction des différentes concentrations.

Chapitre III : Résultats et discussions

Dans nos résultats, les bactéries gram positif ont montré une zone d'inhibition plus faible tandis que les bactéries gram négatif ont montré de meilleurs résultats. Dans les bactéries gram positif, la couche de peptidoglycane est plus rigide et plus épaisse qui empêche l'entrée de particules à l'échelle nanométrique dans la paroi cellulaire. L'activité antibactérienne plus élevée chez les bactéries à Gram négatif est due à la couche de peptidoglycane mince, Les AgNPs pénètre facilement la paroi cellulaire pour dénaturer ou tuer les bactéries (Jaast, S., & Grewal, A. 2021).

Les nanoparticules d'argent peuvent également tuer les bactéries elles-mêmes, sans libérer d'ions d'argent. Après la fixation des AgNPs à la surface cellulaire, ils s'accumulent dans les fosses de la paroi cellulaire, ce qui entraîne une rupture de la membrane cellulaire. De même, les AgNPs perturbent également la transduction du signal bactérien en déphosphorylant les résidus de tyrosine sur les substrats peptidiques, ce qui provoque l'arrêt de la multiplication cellulaire et de l'apoptose. L'action antibactérienne de Les AgNPs dépend également de l'état de dissolution des AgNPs dans les milieux d'exposition. Les facteurs de synthèse et de traitement, tels que les caractéristiques intrinsèques de l'AgNP (forme, taille, agent de coiffage) et les milieux environnants (composants organiques et inorganiques), affectent directement la dissolution efficacité des AgNPs. La paroi cellulaire épaisse des bactéries Gram-positif peut réduire la pénétration des AgNPs dans leurs cellules ; c'est pourquoi les bactéries Gram-négatif sont plus sensibles aux AgNPs. Ivan Sondi et B.S. Sondi. 2004, ont également étudiés les activités biocides des AgNPs contre *E. coli* et ont confirmé la formation de « fosses » dans la paroi cellulaire de cette bactérie Gram-négatif modèle. Une augmentation significative de la perméabilité s'est produite en raison de l'accumulation d'AgNPs dans la membrane bactérienne, entraînant la mort cellulaire (Bamal, D., et al. 2021).

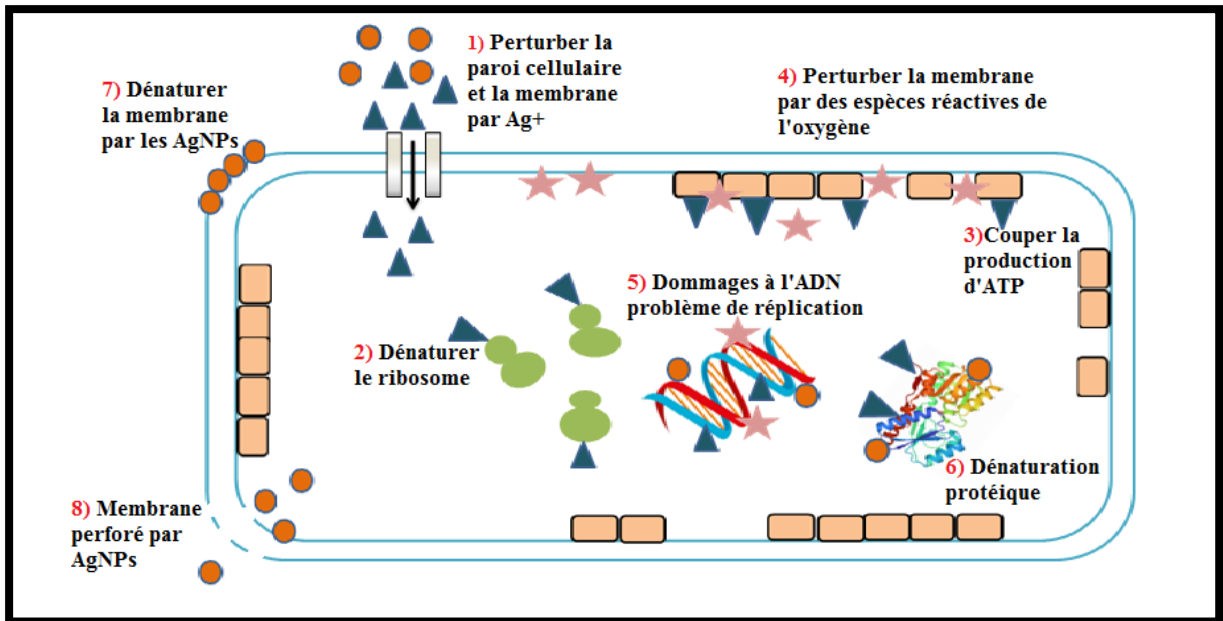


Figure III-14 : Mécanismes d'actions des nanoparticules d'argent (AgNPs) (Yin, I. X., et *al.* 2020).

Références bibliographiques

- Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406-413.
- Ahmad, S., Munir, S., Zeb, N., Ullah, A., Khan, B., Ali, J., ... & Ali, S. (2019). Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. *International journal of nanomedicine*, 14, 5087.
- Ahmad, T., Wani, I. A., Manzoor, N., Ahmed, J., & Asiri, A. M. (2013). Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 107, 227-234.
- Ahmed, S., & Ikram, S. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles: a green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161, 141-153.
- Ali, J., Ali, N., Jamil, S. U. U., Waseem, H., Khan, K., & Pan, G. (2017). Insight into eco-friendly fabrication of silver nanoparticles by *Pseudomonas aeruginosa* and its potential impacts. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(4), 3266-3272.
- Aqel, A., Abou El-Nour, K. M., Ammar, R. A., & Al-Warthan, A. (2012). Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterisation. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(1), 1-23.
- Arif, R., & Uddin, R. (2021). A review on recent developments in the biosynthesis of silver nanoparticles and its biomedical applications. *Medical Devices & Sensors*, 4(1), e10158.
- Avril, J. L., Denis, F., Dabernat, H., & Monteil, H. (2000). *Bacteriologie clinique*. 2^{ème} édition Marketing, paris.
- Bahrulolum, H., Nooraei, S., Javanshir, N., Tarrahimofrad, H., Mirbagheri, V. S., Easton, A. J., & Ahmadian, G. (2021). Green synthesis of metal nanoparticles using microorganisms and their application in the agrifood sector. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 1-26.
- Bakış, G., & Derleme, G. (2021). Overview of *Listeria Monocytogenes* as a Foodborne Pathogen: Traditional Review. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci*, 12(1), 37-48.
- Bamal, D., Singh, A., Chaudhary, G., Kumar, M., Singh, M., Rani, N., ... & Sehrawat, A. R. (2021). Silver nanoparticles biosynthesis, characterization, antimicrobial activities, applications, cytotoxicity and safety issues: An updated review. *Nanomaterials*, 11(8), 2086.
- Bamal, D., Singh, A., Chaudhary, G., Kumar, M., Singh, M., Rani, N., ... & Sehrawat, A. R. (2021). Silver nanoparticles biosynthesis, characterization, antimicrobial activities, applications, cytotoxicity and safety issues: An updated review. *Nanomaterials*, 11(8), 2086.

Références bibliographiques

- Banu, A. N., & Balasubramanian, C. (2014). Optimization and synthesis of silver nanoparticles using *Isaria fumosorosea* against human vector mosquitoes. *Parasitology research*, 113(10), 3843-3851.
- Baschieri, A., & Amorati, R. (2021). Methods to determine chain-breaking antioxidant activity of nanomaterials beyond DPPH•. A review. *Antioxidants*, 10(10), 1551.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020). A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191.
- Belfenache, d. e. (2012). élaboration et étude de nanoparticules au/TiO₂ et Ag/TiO₂ (Doctoral dissertation, Université de Constantine 1).
- Bhuyar, P., Rahim, M. H. A., Sundararaju, S., Ramaraj, R., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2020). Synthesis of silver nanoparticles using marine macroalgae *Padina* sp. and its antibacterial activity towards pathogenic bacteria. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 1-15.
- Bieberle-Hütter, A., Bronneberg, A. C., George, K., & van de Sanden, M. C. M. (2021). Operando attenuated total reflection Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy for water splitting. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 54(13), 133001.
- Brands, D. A., & Alcamo, I. E. (2006). *Salmonella*. Infobase Publishing.
- Christian, P., Von der Kammer, F., Baalousha, M., & Hofmann, T. (2008). Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology*, 17(5), 326-343.
- Daga, A. P., Koga, V. L., Soncini, J. G. M., de Matos, C. M., Perugini, M. R. E., Pelisson, M., ... & Vespero, E. C. (2019). *Escherichia coli* bloodstream infections in patients at a university hospital: virulence factors and clinical characteristics. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 191.
- Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X. J., Ying, A. N. J., Verma, N. K., Beuerman, R. W., ... & Ramakrishna, S. (2015). Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *Rsc Advances*, 5(127), 105003-105037.
- Di Cosola, M., Cazzolla, A. P., Charitos, I. A., Ballini, A., Inchingolo, F., & Santacroce, L. (2021). *Candida albicans* and oral carcinogenesis. A brief review. *Journal of Fungi*, 7(6), 476.
- Dizaj, S. M., Lotfipour, F., Barzegar-Jalali, M., Zarrintan, M. H., & Adibkia, K. (2014). Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 44, 278-284.
- Dumas, E. (2007). *Listeria monocytogenes*: Caractérisation fonctionnelle d'un mutant ferritine. Etude de la biodiversité par une approche protéomique (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I).
- Durán, N., Nakazato, G., & Seabra, A. B. (2016). Antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles, and silver chloride nanoparticles: an overview and comments. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(15), 6555-6570.

Références bibliographiques

- El Kirat, S. (2010). Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions Candida-phagocytes; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez *C. lusitaniae* (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).
- Elamawi, R. M., Al-Harbi, R. E., & Hendi, A. A. (2018). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. *Egyptian journal of biological pest control*, 28(1), 1-11.
- El-Bendary, M. A., Afifi, S. S., Moharam, M. E., Abo El-Ola, S. M., Salama, A., Omara, E. A., ... & Gawdat, N. A. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles using isolated *Bacillus subtilis*: characterization, antimicrobial activity, cytotoxicity, and their performance as antimicrobial agent for textile materials. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 51(1), 54-68.
- Elbeshehy, E. K., Elazzazy, A. M., & Aggelis, G. (2015). Silver nanoparticles synthesis mediated by new isolates of *Bacillus* spp., nanoparticle characterization and their activity against Bean Yellow Mosaic Virus and human pathogens. *Frontiers in microbiology*, 6, 453.
- El-Din, A. Z. A. K., Al-Basri, H. M., & El-Naggar, M. Y. (2012). Critical factors affecting the adherence of *Candida albicans* to the vaginal epithelium. *Journal of Taibah University for Science*, 6(1), 10-18.
- Fagier, M. A. (2021). Plant-mediated biosynthesis and photocatalysis activities of zinc oxide nanoparticles: a prospect towards dyes mineralization. *Journal of Nanotechnology*, 2021.
- Fouda, A., Saad, E. L., Salem, S. S., & Shaheen, T. I. (2018). In-Vitro cytotoxicity, antibacterial, and UV protection properties of the biosynthesized Zinc oxide nanoparticles for medical textile applications. *Microbial pathogenesis*, 125, 252-261.
- Gahlawat, G., & Choudhury, A. R. (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC advances*, 9(23), 12944-12967.
- Galdino, A. C. M., Branquinho, M. H., Santos, A. L., & Viganor, L. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* and its arsenal of proteases: weapons to battle the host. *Pathophysiological Aspects of proteases*, 381-397.
- Ghotekar, S., Pagar, T., Pansambal, S., & Oza, R. (2020). A review on green synthesis of sulfur nanoparticles via plant extract, characterization and its applications. *Advanced Journal of Chemistry-Section. B*, 2, 128-143.
- Golhani, D. K., Khare, A., Burra, G. K., Jain, V. K., & Rao Mokka, J. (2020). Microbes induced biofabrication of nanoparticles: a review. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 50(10), 983-999.
- González-Ballesteros, N., Prado-López, S., Rodríguez-González, J. B., Lastra, M., & Rodríguez-Argüelles, M. (2017). Green synthesis of gold nanoparticles using brown algae *Cystoseira baccata*: Its activity in colon cancer cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 153, 190-198.
- Gueye, O. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à Gram négatif. *P*, 22, 24-28.

Références bibliographiques

- Hemmerlin, M. (2014). Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle: *Synechococcus elongatus* PCC 7942 (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Husseiny, M. I., Abd El-Aziz, M., Badr, Y., & Mahmoud, M. A. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 67(3-4), 1003-1006.
- Jaast, S., & Grewal, A. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles, characterization and evaluation of their photocatalytic dye degradation activity. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100195.
- Jadoun, S., Arif, R., Jangid, N. K., & Meena, R. K. (2021). Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), 355-374.
- 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.
- Jalal, M., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., Almatroudi, A., & Raees, K. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles from oropharyngeal *Candida glabrata* isolates and their antimicrobial activity against clinical strains of bacteria and fungi. *Nanomaterials*, 8(8), 586.
- Jalal, M., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., Almatroudi, A., & Raees, K. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles from oropharyngeal *Candida glabrata* isolates and their antimicrobial activity against clinical strains of bacteria and fungi. *Nanomaterials*, 8(8), 586.
- Jaureguy, F., Landraud, L., Passet, V., Diancourt, L., Frapy, E., Guigon, G., ... & Brisse, S. (2008). Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. *BMC genomics*, 9(1), 1-14.
- Javaid, A., Oloketuyi, S. F., Khan, M. M., & Khan, F. (2018). Diversity of bacterial synthesis of silver nanoparticles. *BioNanoScience*, 8(1), 43-59.
- Jeevan, P., Ramya, K., & Rena, A. E. (2012). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by culture supernatant of *Pseudomonas aeruginosa*.
- Jenul, C., & Horswill, A. R. (2019). Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence. *Microbiology spectrum*, 7(2), 7-2.
- K.C. Mounika and Katta. M., 2017. Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Characterization. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 7(08).
- Kambale, E. K., Nkanga, C. I., Mutonkole, B. P. I., Bapolisi, A. M., Tassa, D. O., Liesse, J. M. I., ... & Memvanga, P. B. (2020). Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts from three Congolese plant species (*Brillantaisia patula*, *Crossopteryx febrifuga* and *Senna siamea*). *Heliyon*, 6(8), e04493.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
- Khorrami, S., Zarrabi, A., Khaleghi, M., Danaei, M., & Mozafari, M. R. (2018). Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *International journal of nanomedicine*, 13, 8013.

Références bibliographiques

- Korbekandi, H., Mohseni, S., Mardani Jouneghani, R., Pourhossein, M., & Iravani, S. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 235-239.
- Kumar, H., Venkatesh, N., Bhowmik, H., & Kuila, A. (2018). Metallic nanoparticle: a review. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 4(2), 3765-3775.
- Kumari, S., Tehri, N., Gahlaut, A., & Hooda, V. (2020). Actinomycetes mediated synthesis, characterization, and applications of metallic nanoparticles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(10), 1386-1395.
- Kumari, S., Tehri, N., Gahlaut, A., & Hooda, V. (2020). Actinomycetes mediated synthesis, characterization, and applications of metallic nanoparticles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(10), 1386-1395.
- Lee, N. Y., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. (2019). Nanoparticles in the treatment of infections caused by multidrug-resistant organisms. *Frontiers in pharmacology*, 1153.
- Leyral, G., & Vierling, E. (2007). *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires*. Wolters Kluwer France.
- Lu, H., Shrivastava, M., Whiteway, M., & Jiang, Y. (2021). *Candida albicans* targets that potentially synergize with fluconazole. *Critical reviews in microbiology*, 47(3), 323-337.
- Marcato, P. D., De Souza, G. I. H., Alves, O. L., Esposito, E., & Durán, N. (2005). Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Fusarium oxysporum* strain. *Proceedings of 2nd Mercosur Congr. on Chem. Eng., 4th Mercosur Congr. on Process Sys. Eng.*, 1-5.
- Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017). Evaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), pp. 363-370.
- Nair, G. M., Sajini, T., & Mathew, B. (2021). *Advanced Green Approaches for Metal and Metal Oxide Nanoparticles Synthesis and Their Environmental Applications*. *Talanta Open*, 100080.
- Nanda, A., & Saravanan, M. (2009). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5(4), 452-456.
- Nwachukwu, N. C., & Orji, F. A. (2012). Studies on the isolation of *Listeria monocytogenes* from food, water, and animal droppings: environmental health perspective. *IntechOpen*.
- Oinaala, D., Lehesvaara, M., Lyhs, U., & Tikkanen-Kaukanen, C. (2015). Antimicrobial activity of organic honeys against food pathogenic bacterium *Clostridium perfringens*. *Organic Agriculture*, 5(2), 153-159.
- Oliveira, D., Borges, A., & Simões, M. (2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, 10(6), 252.
- Oza, G., Pandey, S., Shah, R., & Sharon, M. (2012). Extracellular fabrication of silver nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa* and its antimicrobial assay. *Pelagia Res Lib Adv Appl Sci Res*, 3(3), 1778-1783.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. (2011). Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *J Appl Pharm Sci*, 1(6), 228-234.

Références bibliographiques

- Pandit, C., Roy, A., Ghotekar, S., Khusro, A., Islam, M. N., Emran, T. B., ... & Bradley, D. A. (2022). Biological agents for synthesis of nanoparticles and their applications. *Journal of King Saud University-Science*, 101869.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177-192.
- Prasher, P., Singh, M., & Mudila, H. (2018). Oligodynamic effect of silver nanoparticles: A review. *BioNanoScience*, 8(4), 951-962.
- Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S., & Tahir, M. B. (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(7), 1272-1291.
- Rai, M., Bonde, S., Golinska, P., Trzcińska-Wencel, J., Gade, A., Abd-Elsalam, K., ... & Ingle, A. (2021). *Fusarium* as a novel fungus for the synthesis of nanoparticles: Mechanism and applications. *Journal of Fungi*, 7(2), 139.
- Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles—a review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chemico-biological interactions*, 273, 219-227.
- Ramkumar, V. S., Pugazhendhi, A., Gopalakrishnan, K., Sivagurunathan, P., Saratale, G. D., Dung, T. N. B., & Kannapiran, E. (2017). Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. *Biotechnology reports*, 14, 1-7.
- Rauf, M. A., Owais, M., Rajpoot, R., Ahmad, F., Khan, N., & Zubair, S. (2017). Biomimetically synthesized ZnO nanoparticles attain potent antibacterial activity against less susceptible *S. aureus* skin infection in experimental animals. *RSC advances*, 7(58), 36361-36373.
- Remédios, C., Rosário, F., & Bastos, V. (2012). Environmental nanoparticles interactions with plants: morphological, physiological, and genotoxic aspects. *Journal of Botany*, 2012.
- Rossi, E., La Rosa, R., Bartell, J. A., Marvig, R. L., Haagensen, J. A., Sommer, L. M., ... & Johansen, H. K. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nature Reviews Microbiology*, 19(5), 331-342.
- Roychoudhury, A. (2020). Yeast-mediated green synthesis of nanoparticles for biological applications. *Indian J Pharm Biol Res*, 8(03), 26-31.
- Saravanakumar, A., Ganesh, M., Jayaprakash, J., & Jang, H. T. (2015). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cassia tora* leaf extract and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 28, 277-281.
- Saravanan, M., Barik, S. K., MubarakAli, D., Prakash, P., & Pugazhendhi, A. (2018). Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microbial pathogenesis*, 116, 221-226.
- Saravanan, M., Jacob, V., Arockiaraj, J., & Prakash, P. (2014). Extracellular biosynthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by *Bacillus subtilis* (NCIM—2266). *Journal of Bionanoscience*, 8(1), 21-27.

Références bibliographiques

- Shah, A. H., & Rather, M. A. (2021). Intracellular and Extracellular Microbial Enzymes and Their Role in Nanoparticle Synthesis. In *Microbial Nanotechnology: Green Synthesis and Applications* (pp. 41-59). Springer, Singapore.
- Shume, W. M., Murthy, H. C., & Zereffa, E. A. (2020). A review on synthesis and characterization of Ag₂O nanoparticles for photocatalytic applications. *Journal of Chemistry*, 2020.
- Singh, H., Du, J., Singh, P., & Yi, T. H. (2018). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by *Pseudomonas* sp. THG-LS1. 4 and their antimicrobial application. *Journal of pharmaceutical analysis*, 8(4), 258-264.
- Skalickova, S., Baron, M., & Sochor, J. (2017). Nanoparticles biosynthesized by yeast: a review of their application. *Kvasny Prumysl*, 63(6), 290-292.
- Składanowski, M., Wypij, M., Laskowski, D., Golińska, P., Dahm, H., & Rai, M. (2017). Silver and gold nanoparticles synthesized from *Streptomyces* sp. isolated from acid forest soil with special reference to its antibacterial activity against pathogens. *Journal of Cluster Science*, 28(1), 59-79.
- Skowron, K., Wałęcka-Zacharksa, E., Grudlewska, K., Wiktorczyk, N., Kaczmarek, A., Gryń, G., ... & Gospodarek-Komkowska, E. (2019). Characteristics of *Listeria monocytogenes* strains isolated from milk and humans and the possibility of milk-borne strains transmission. *Polish Journal of Microbiology*, 68(3), 353.
- Surwade, P., Ghildyal, C., Weikel, C., Luxton, T., Peloquin, D., Fan, X., & Shah, V. (2019). Augmented antibacterial activity of ampicillin with silver nanoparticles against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *The Journal of antibiotics*, 72(1), 50-53.
- Tang, S., & Zheng, J. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *Advanced healthcare materials*, 7(13), 1701503.
- Thunugunta, T., Reddy, A. C., & DC, L. R. (2015). Green synthesis of nanoparticles: current prospectus. *Nanotechnology Reviews*, 4(4), 303-323.
- Tsekhmistrenko, S. I., Bityutskyy, V. S., Tsekhmistrenko, O. S., Horalskyi, L. P., Tymoshok, N. O., & Spivak, M. Y. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*, 28(1), 9-17.
- Usman, M. S., El Zowalaty, M. E., Shameli, K., Zainuddin, N., Salama, M., & Ibrahim, N. A. (2013). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 8, 4467.
- Wang, C., Kim, Y. J., Singh, P., Mathiyalagan, R., Jin, Y., & Yang, D. C. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and their antimicrobial activity. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(4), 1127-1132.
- Wang, X., Xie, Y., Cai, H., Duan, S., Song, X., Wu, Y., ... & Liu, H. (2021). Growth and survival characteristics of *Salmonella enterica* regarding antibiotic resistance phenotypes. *LWT*, 149, 111872.
- Yacine, A., Hideur, A., & Karim, M. (2013). Contribution à la caractérisation des polymères soumis à des décharges couronne (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Références bibliographiques

- 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.
- Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International journal of nanomedicine*, 15, 2555.
- Yousaf, A. S., & Ali, S. (2008). Why Nanoscience and Nanotechnology? What is there for us?. *Journal of Faculty of Engineering & Technology*, 5, 11-20.
- Yuwen, L., Sun, Y., Tan, G., Xiu, W., Zhang, Y., Weng, L., ... & Wang, L. (2018). MoS₂@ polydopamine-Ag nanosheets with enhanced antibacterial activity for effective treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms and wound infection. *Nanoscale*, 10(35), 16711-16720.
- Zarour, K., Benmechernene, Z., Hadadji, M., Moussa-Boudjema, B., Henni, D. J., & Kihal, M. (2012). Bioprospecting of *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from Algerian raw camel and goat milk for technological properties useful as adjunct starters. *African Journal of Microbiology Research*, 6(13), 3192-3201.
- Zeyons, O. (2008). Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Zikalala, N., Matshetshe, K., Parani, S., & Oluwafemi, O. S. (2018). Biosynthesis protocols for colloidal metal oxide nanoparticles. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 16, 288-299.

*Conclusion générale et
perspectives*

Conclusion générale

L'objectif de ce travail vise à biosynthétiser des nanoparticules d'argent à partir de trois souches (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 et *Candida albicans* ATCC10237) pour évaluer leurs applications antibactériennes. La biosynthèse de nanoparticules par les bactéries a été rapportée comme une méthode facile, économique, rapide et écologique.

La spectroscopie UV-Vis et le spectre ATR-FTIR ont été utilisés pour caractériser les nanoparticules d'argent formées. Les résultats ont clairement confirmé l'obtention des AgNPs par des bactéries. Le spectre ATR-FTIR a montré différents groupes fonctionnels, tels que, les amines, groupe carbonyle et groupe de protéines, qui peuvent être impliqués dans le plafonnement, la réduction et la stabilisation des AgNPs.

Les AgNPs biosynthétisées ont montré une activité antibactérienne significative contre les trois Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella enterica*) et Gram positif (*Staphylococcus aureus*). Mais une inhibition plus forte a été observée chez les bactéries gram négatif par rapport aux bactéries gram positif.

Par conséquent, les AgNPs possèdent un grand potentiel pour une variété d'applications biomédicales et industrielles. Les nanoparticules d'argent obtenues ont montré des effets antimicrobiens contre divers micro-organismes pathogènes et peut probablement être utilisée davantage pour la production de médicaments antibactériens ; nano-médicaments et l'administration ciblée de médicaments. Ils peuvent également être utilisés pour éliminer la colonisation bactérienne sur les conteneurs de transport d'aliments pour transporter les aliments en toute sécurité sans aucune contamination.

Recommandation et perspectives

- ✚ Faire la synthèse de nouvelles nanoparticules comme : Cu, ZnO, CuS et SnS,....
- ✚ Tester d'autres activités comme l'activité antioxydante, la photocatalyse et toxicité des NPs synthétisées.
- ✚ Faire étude différents paramètres opérationnels pour optimiser la synthèse comme (effet du pH, de concentration, de temps d'incubation et du rapport de volume).
- ✚ Faire examiner les caractérisations d'AgNPs par d'autres appareils comme (la diffraction des rayons X (XRD), la spectroscopie à dispersion d'énergie. (EDS), la microscopie à force atomique (AFM) et la diffusion dynamique de la lumière (DLS).

Annexe

Annexe

Annexe 01 : Matériels

- Bécher en verre
- Erlenmeyer en verre
- Éprouvette graduée
- Micropipette
- Bec benzene
- Tube à essai
- Tube falcon
- Anse de platine
- Spatule
- Capsule
- Boite de pétri
- Balance
- Agitateur

Annexe 02: Produits chimiques

- Nitrate d'argent (Ag NO₃)
- Eau distillée
- Ethanol

Annexe 03 : Appareils

- Centrifugeuse (Rotina 380R)
- La hotte captair bio Smart
- Autoclave
- Bain marie
- Etuve
- Agitateur-incubateur
- Cary 100 Series UV-Vis spectrophotomètre
- Cary 600 Series ATR-FTIR spectrophotomètre
- Microscope électronique à balayage (Zeiss evo 15)

Annexe 04 : Milieux de culture (Composition en g / l d'eau distillée)

➤ **Bouillon nutritive (BN)**

- Peptone 5g
- Extrait de levure.....3g
- Glucose.....20g

➤ **Gélose nutritive (GN)**

- Peptone.....5g
- Extrait de levure.....3g
- Glucose.....20g

- Agar.....10g
- **Mueller Hinton (MH)**
- Mueller Hinton.....38g

Annexe 05 : Méthodes

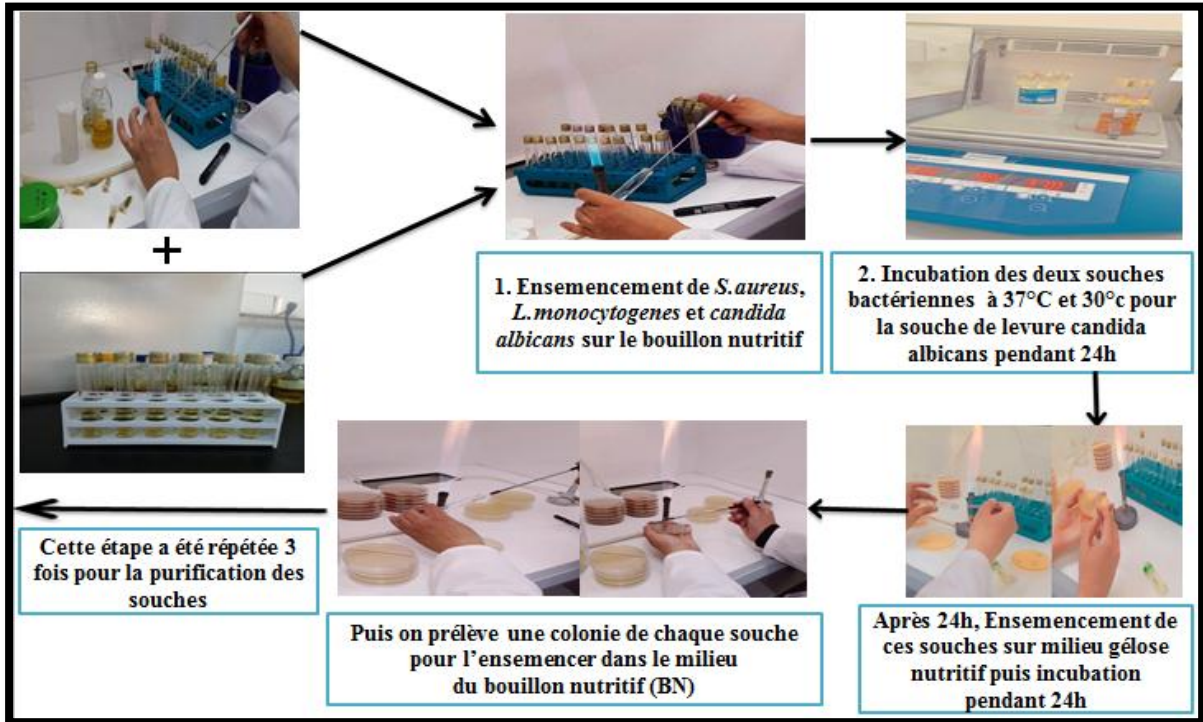


Figure 1: Etapes de revivification et purification des souches.

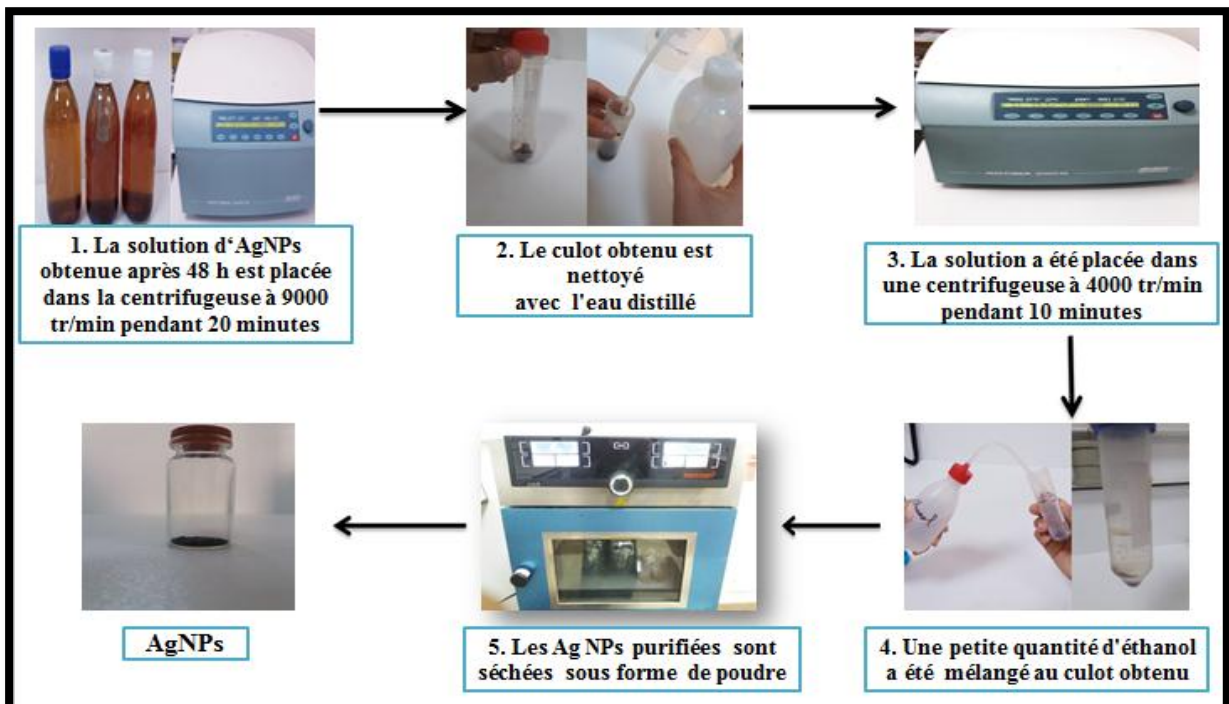


Figure 2: Étapes de séchage de nanoparticules d'argent.

Résumé : Le développement de procédés fiables et respectueux de l'environnement pour la synthèse des matériaux à l'échelle nanométrique est un aspect important de la nanotechnologie. Ce travail expérimental vise à la biosynthèse extracellulaire des AgNPs par 03 souches (*S.aureus*, *L.monocytogenes* et *C.albicans*) et examinée leurs applications antibactériennes. La biosynthèse extracellulaire des nanoparticules d'argent a été réalisée en utilisant le surnageant de culture des 03 souches utilisées. La formation de nanoparticules d'argent a été confirmée par le changement de couleur de culture du jaune au brun foncé. La morphologie et l'uniformité des nanoparticules d'argent ont été étudiées par les images MEB et Spectroscopie UV-Visible. L'interaction entre protéines et AgNPs a été analysée par ATR-FTIR. L'activité antibactérienne des AgNPs ont été confirmées à la fois par les bactéries a Gram positif et a Gram négatif: *S.aureus*, *S.enterica*, *E.coli* et *P. aeruginosa* avec des zones d'inhibitions (ZI) de 12, 16, 11 et 16 mm, respectivement.

Mots clés : Biosynthèse extracellulaire, nanoparticules d'argent, activité antibactérienne, Bactérie et levure.

ملخص: يعد تطوير عمليات موثوقة وصديقة للبيئة لتصنيع مواد على المقياس النانوي جانباً مهماً من تكنولوجيا النانو. يهدف هذا العمل التجريبي إلى تخليق جسيمات النانوية الفضية (AgNPs) خارج الخلية بواسطة 03 سلالات (*S.aureus* و *L.monocytogenes* و *C.albicans*) وفحص نشاطها المضاد للميكروبات. تم إجراء عملية التمثيل الحيوي خارج الخلية للجسيمات النانوية الفضية باستخدام طافي الوسط الزراعي لسلالات 03 المستخدمة. تم تأكيد تكوين الجسيمات النانوية الفضية من خلال التغيير في لون الوسط الزراعي من الأصفر إلى البني الداكن. تمت دراسة مورفولوجيا و الشكل الموحد للجسيمات الفضة النانوية بواسطة صور المجهر الإلكتروني الماسح و التحليل الطيفي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية. تم تحليل التفاعل بين البروتينات وجسيمات النانوية الفضية بواسطة الانعكاس الكلي المنخفض مع التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء. تم تأكيد النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات النانوية الفضية (AgNPs) من قبل كل من البكتيريا الموجبة للجرام والسلبية للجرام: *S.aureus* و *S.enterica* و *E.coli* و *P. aeruginosa* مع ملاحظة مناطق تثبيط (م ت) من 12 و 16 و 11 و 16 ملم على التوالي.

الكلمات المفتاحية: التخليق الحيوي خارج الخلية، جزيئات الفضة النانوية، النشاط المضاد للبكتيريا، البكتيريا، الخميرة.

Abstract: The development of reliable and environmentally friendly processes for the synthesis of materials at the nanoscale is an important aspect of nanotechnology. This experimental work aims at the extracellular synthesis of AgNPs by 03 strains (*S.aureus*, *L.monocytogenes* and *C.albicans*) and examined their antimicrobial activity. The extracellular biosynthesis of silver nanoparticles was carried out using the culture supernatant of the 03 strains used. The formation of silver nanoparticles was confirmed by the culture color change from yellow to dark brown. The morphology and uniformity of silver nanoparticles were studied by SEM images and UV-Vis spectroscopy. The interaction between proteins and AgNPs was analyzed by ATR-FTIR. The antibacterial activity of AgNPs has been confirmed by both Gram-positif and Gram-negatif bacteria: *S.aureus*, *S.enterica*, *E.coli* and *P. aeruginosa* with zones of inhibition (ZI) of 12. 16, 11 and 16mm, respectively.

Keywords: Extracellular biosynthesis, silver nanoparticles, antibacterial activity, bacteria and yeast.