

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Département : Biologie

Thème

Biosynthèse des nanoparticules d'argent et applications

Présenté par :

- BOUMARAF Ramla
- KEMOUGUETTE Souaad
- SELLAOUI Khadidja

Devant la commission composée de :

Président :	Benouareth Djamel Eddine	Pr.	Université de Guelma
Examinatrice :	Boumaza Awatif	M.C.B.	Université de Guelma
Encadreur :	Khallef Messaouda	M.C.A.	Université de Guelma

Septembre 2020

Remerciement

Avant tous nous tenons à remercier Allah tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens pour accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier le membre de jury :

*Monsieur **BENOUARETH Djamel Eddine**, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.*

*Madame **BOUMAZA Awatif**, pour avoir bien voulu examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier plus particulièrement notre promotrice, Madame **KHALLEF Messaouda**, pour avoir accepté de nous encadrer, qui depuis le début, n'a cessé de nous faire bénéficier de ses nombreux conseils, de ses critiques, de ses compétences et de son soutien et surtout sa gentillesse. Qu'elle trouve ici nos sincères impressions de gratitude et de respect.*

*Nos sincères remerciements : à **BOUMELLA Hadda**, **LOUACHAME Ala Eddine**, Au personnel du laboratoire pédagogique Madame **HAYAT**, **MEHDI**, **Wafa** et à toute l'équipe de laboratoire universitaire, et à tous ceux qui ont contribué soit de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

A nos professeurs qui nous ont enrichis de leur connaissance en ne ménageant aucun effort dans la diffusion d'un enseignement de qualité.

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

Que chacun veuille trouver ici le témoignage de mon amitié.

" Sincères remerciements et hommages respectueux "



Dédicaces

*Je dédie ce travail qui a été fait dans des conditions très exceptionnelles (COVID-19), à mes chers parents, **MOUNIRA** et **KAMEL** symbole de reconnaissance et de remerciement sur tout ce qu'ils m'ont donné dans ma vie.*

Que DIEU tout puissant vous donne longue vie, santé et bonheur.

*A mes chères sœurs **AMINA**, **AICHA**, **ROKAYA** Pour leur soutien et leur amour illimité.*

*A Mon amie proche qui est ma sœur **RAMLA**, qui a été avec moi pendant toute ma carrière universitaire, a combattu toutes les difficultés avec moi et sa mère tante **NADIRA**, que Dieu vous protège et perpétue notre amitié.*

*A mes proches et toute ma famille, et tous les gens qui m'aiment en particulier le petit **OUSSAMA***

*A la sœur de ma mère **DALILA**, mon oncle **SOULAIMAN**, les sœurs de ma père **MALIKA** et **DJAMILA**.*

Vous êtes toujours dans mon cœur Que DIEU vous miséricorde.

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

Sellaoui Khadidja



Dédicace

*Je dédie ce travail à mes chers parents : Ma chère mère **NADIRA** et Mon cher père **MOHAMMED CHERIF** (Ne pouvant le remercier de vive voix, je lui adresse ici une pensée particulière tu es toujours dans mon cœur Que DIEU te miséricorde papa)*

Aucune dédicace ne saurait exprimer ni la profondeur de mes sentiments ni l'amplitude de ma reconnaissance, Vous m'avez donné la vie, vous avez veillé sur mon éducation et mon bien être, vous m'avez inculqué le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance face aux difficultés de la vie, vous étiez toujours mon refuge qui me prodigue sérénité, amour, tendresse et conseil. Vos prières n'ont jamais cessé et si je suis à cette étape de la vie c'est grâce à vos encouragements et vos paroles de soutien. Pour tout cela et encore plus, je vous dois tout ce que je suis aujourd'hui et ce que je serais demain.

J'espère que j'ai pu réaliser ce que vous avez toujours voulu de moi.

*A ma sœur : **AMEL** qui est pour moi ma deuxième maman et son mari **FAYCAL** merci pour votre soutien et pour être mon deuxième frère et ses enfants **AMIRA, HOUSSEM, AMINE, MOUADH** et le petit **ANAS**.*

*A mon frère **SABRI** Je prie Dieu, le tout puissant, de vous protéger et de vous procurer santé, bonheur et longue vie.*

*A mes amies : **KHADIDJA** Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, et d'être*

*comblé de bonheur. Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir
continuellement encouragé et sa famille surtout sa mère tante **MOUNIRA**.*

*A Mon amie **HADDA** Je vous remercie pour le courage, le sourire, le bonheur,
et tous les bons moments qu'on a passé ensemble.*

*Et à toutes personnes ayant contribué de près ou de loin pour ce
Travail.*

Boumaraf Ramla



Dédicace

Je dédie cette trace de ma vie

*A la mémoire de **mon grand-père**, qu'il puisse reposer en paix.*

*A **mon soleil, Ma mère**, Le plus beau cadeau que le Bon **Dieu** m'a offert. Le symbole de la tendresse, du courage, de la responsabilité et de l'amour. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En témoignage de tes prières, ta bénédiction, ta patience et tes sacrifices.*

*Que **DIEU** le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*A **ma lune, Mon cher père**, école de mon enfance et berceau de ma culture. Qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les bonnes. Tes conseils ont toujours ma raison de vivre, mes sources de force, d'inspiration, de courage et d'espairs. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.*

*Que **DIEU** le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

A mes étoiles, mes princesses sœurs « Chourouk, Amani » et mon cher petit frère Mouhammed Naim Errahmen avec vous j'ai grandi. Pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré, pour toute la spontanéité et votre élan chaleureux. En témoignage de mon affection fraternel de ma profonde tendresse et reconnaissance. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et succès.

*Puisse **Allah** le tout puissant exhausser tous vos vœux.*

*A tous les membres de ma famille surtout ma grand-mère ton amour, ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance. Que **Dieux** te garde, te comble de santé, et te donne longue vie.*

Une mention spéciale à tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu de loin et de près durant mon cursus universitaire surtout mes adorables enseignants ma source de valeurs, d'inspiration, d'informations, de courage et de fierté. Ils sont des personnes qui ont toujours pensé au bien-être de leurs étudiants. Ses conseils judicieux me permettront assurément de progresser au niveau académique, mais aussi au niveau humain. L'éducation que vous m'avez transmise, font de moi aujourd'hui tout ce que je suis.

En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour vous, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Je les remercie pour le sourire qu'ils ont su toujours dessiner sur mon visage.

Kemouguette Souaad

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques.	4
Figure 2	Mécanisme possible de la synthèse verte des nanoparticules.	9
Figure 3	Mécanismes bactéricides des AgNPs due à leur contact direct avec la cellule bactérienne et de la libération d'ions argent.	13
Figure 4	Le mécanisme d'action "Anti quorum sensing" des nanoparticules d'argent.	13
Figure 5	Les mécanismes possibles des AgNPs à induire une cytotoxicité dans les lignées cellulaires cancéreuses.	15
Figure 6	Différents modes d'action des antibiotiques.	20
Figure 7	Schéma illustrant les deux grands types de résistance bactérienne.	23
Figure 8	Efflux actif de médicament.	26
Figure 9	Une version modifiée du substrat auquel l'agent antimicrobien se lie.	26
Figure 10	Inactivation enzymatique de l'antibiotique.	27
Figure 11	Système d'efflux d'argent trouvé dans les bactéries Gram négatif résistantes à l'argent.	29
Figure 12	Modèle du mécanisme d'action du traitement combiné AgNPs-antibiotique.	30
Figure 13	Feuilles de persil frais (<i>Petroselinum crispum</i>).	33
Figure 14	Pomme de terre <i>Solanum tuberosum</i> .	33
Figure 15	Le filtrat de fruit de concombre avant et après la centrifugation.	34
Figure 16	Préparation des huit tubes pour la réduction des ions d'argent.	35
Figure 17	Coloration de Gram.	37
Figure 18	Technique du test catalase.	38
Figure 19	Technique du test oxydase.	38

Figure 20	Image représente le virage de couleur du mélange 1.	39
Figure 21	Image représente le virage de couleur du mélange 2.	40
Figure 22	Image représente le virage de couleur du mélange 3.	40
Figure 23	Image représente le virage de couleur du mélange 4.	41

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Comparaison entre la synthèse biologique et la synthèse chimique.	6
Tableau 2	Caractérisation par UV des préparations préparées.	41

Liste des abréviations

CFU : Unité formant colonie	COVID-19 : Corona virus
EPR : perméabilité et rétention améliorées	PLP : Protéines de Liaison aux Pénicillines
EPS : Substance polymère extracellulaire	PVA : Alcool polyvinylique
ERG : Entérocoques résistant aux glycopeptides	VEGF : facteur de croissance vasculaire endothélial
ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine	VRSA : <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la vancomycine
FTIR : infrarouge à transformée de Fourier	QS : Quorum sensing
HVAC : filtres des systèmes de chauffage, de ventilation et de climatisation	ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène
SARM : <i>Staphylococcus Aureus</i> Résistant à la Méricilline	UV : Ultra-Violet
SPR : résonance plasmodique de surface	MDR : multirésistance aux médicaments

Sommaire

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Les nanoparticules d'argent : biosynthèse, utilisation et effets

1. Les nanoparticules.....	3
1.1 Généralités sur les nanotechnologies.....	3
1.2 Définition des nanoparticules.....	3
1.3 Origine des nanoparticules.....	4
1.3.1 Les nanoparticules naturelles.....	4
1.3.2 Les nanoparticules artificielles.....	4
1.3.3 Les nanoparticules accidentelles.....	4
2. Les nanoparticules d'argent.....	4
2.1 Présentation générale.....	4
2.2 Propriétés des nanoparticules d'argent.....	5
2.3 La synthèse biologique des nanoparticules d'argent.....	6
2.3.1 À l'aide des bactéries.....	7
2.3.2 Des champignons.....	7
2.3.3 Des polysaccharides.....	8
2.3.4 Des plantes.....	8
2.4 Applications médicales des nanoparticules d'argent.....	9
2.4.1 Implants cardiovasculaires.....	9
2.4.2 Cathéters.....	9
2.4.3 Pansements.....	9
2.4.4 Dentisterie.....	10
2.4.5 Tissus imprégnés de nanoparticules pour vêtements cliniques.....	10
2.4.6 Utilisation de nanomatériaux pour l'administration de médicaments.....	10
2.5 Nanoparticules d'argent dans les traitements environnementaux.....	10

2.5.1 Désinfection de l'air.....	10
2.5.2 De l'eau.....	11
2.5.3 Des surfaces.....	11
2.6 Activités biologiques des nanoparticules d'argent.....	11
2.6.1 Activité antibactérienne.....	11
2.6.2 Antivirale.....	14
2.6.3 Antifongique	14
2.6.4 Anti-inflammatoire.....	14
2.6.5 Anti cancéreuse.....	14
2.6.6 Antidiabétique.....	15
2.7 La toxicité des AgNPs	15
2.7.1 Effets néfastes de l'argent sur l'Homme.....	15
2.7.2 Conséquences de la dissémination de l'argent dans l'environnement	16
2.8 Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent.....	16
2.8.1 La spectroscopie UV-Visible.....	16
2.8.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	17
2.8.3 La microscopie.....	17
Chapitre II : La résistance bactérienne	18
1. Contexte historique.....	18
2. Les antibiotiques.....	18
3. La Résistance bactérienne.....	20
3.1 Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques.....	20
3.2 Types de résistance.....	21
3.2.1 Résistance naturelle.....	21
3.2.2 Résistance acquise	21
3.3 Les bactéries multi-résistantes (BMR).....	23
3.4 Mécanisme général de résistance	25
3.5 Mécanismes génétiques de résistance.....	27
3.5.1 Mutation.....	27
3.5.2 Acquisition d'un nouvel ADN.....	28
3.6 Résistance bactérienne à l'argent.....	28
4. La synergie AgNPs-antibiotiques.....	29

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériel et méthodes	32
1. Matériel utilisé	32
2.1 Matériel chimique	32
2.2 Matériel biologique	32
2. Méthodes d'études	32
2.1 Synthèse biologique des nanoparticules d'argent	33
2.1.1 Préparation des extraits biologiques	33
2.1.2 Réduction des ions d'argent présentes dans la solution d'AgNO ₃	34
2.1.3 Caractérisation des AgNPs	35
2.2 Etude Bactériologique	35
Chapitre IV : Résultats et discussion	39
1. Résultats	39
1.1 Virage de couleur des mélanges	39
1.1.1 Mélange 1 (Extrait de persil + AgNO ₃)	39
1.1.2 Mélange 2 (Extrait de pomme de terre + AgNO ₃)	40
1.1.3 Mélange 3 (Extrait de concombre + AgNO ₃)	40
1.1.4 Mélange 4 (Extrait de levure + AgNO ₃)	40
1.2 Caractérisation par UV-Visible	41
2. Discussion	42
Conclusion et perspectives	48
Références bibliographiques	50
Résumés (français, anglais, arabe)	



Introduction

Introduction

Le terme nanotechnologie a été introduit dans le monde par Eric Drexler dans son livre « Engines of Creation » (**Rajput et al., 2018**). Les nanotechnologies constituent un champ de recherche et de développement technologique impliquant la fabrication de structures, de dispositifs et de systèmes de taille nanométriques, allant de 1 à 100 nm et se produisent à la fois naturellement et à la suite de processus artificiels, recélant un potentiel considérable dans divers secteurs (**Li et al., 2011**).

Les méthodes conventionnelles de production de NPs, les approches dites descendante « Top-down » et ascendante « bottom-up », bien que des méthodes chimiques, photochimiques et physiques, elles sont des procédures chronophages, laborieuses et nocives pour l'environnement. Ainsi, leur utilisation a été strictement limitée. Une méthode de synthèse de nanoparticules respectueuse de l'environnement sans produits chimiques toxiques est requise c'est la méthode de synthèse verte, utilisant des micro-organismes, des champignons et des plantes à laquelle nous sommes intéressés au cours de ce travail, qui ont attiré une grande attention en raison de leurs procédures écologiques et biocompatibles (**Muhammad et al., 2016**).

Les plantes (leurs extraits) sont considérées comme un système hautement souhaitable pour la synthèse de NPs en raison de leur grande capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires bioactifs à fort potentiel de réduction (**Sharma et al., 2018**).

Ces dernières années, l'épidémie de maladies infectieuses ré-émergentes et émergentes, ainsi que l'augmentation des coûts du système de santé (**Weiss, 2002**). Cela exigé une priorité mondiale pour l'investissement de nouveaux médicaments pour les combattre(**Tacconelli et al., 2017**), parmi eux : les composés d'argent et leurs dérivés (**Quelemes et al., 2013**).

L'argent depuis longtemps a été utilisé comme agent antibactérien, antifongique et antiviral car tout en étant très toxiques envers les microorganismes, il est beaucoup moins toxique pour l'homme (**Li et al., 2011**). Par conséquent les chercheurs s'orientent vers la biosynthèse des nanoparticules métalliques, en particulier les nanoparticules d'argent et surtout à l'aide des végétaux qui ont des propriétés physico-chimiques distinctives comme des armes puissantes pour résoudre le problème de l'émergence des bactéries multirésistantes (**Rai et al., 2012; Mishra et Singh, 2015**). De plus, grâce à l'utilisation d'AgNPs, les cellules bactériennes sont

moins susceptibles de développer une résistance antibactérienne (**Sharma *et al.*, 2018**).

À ces fins nous réalisons ce travail qui est basé sur la synthèse biologique des nanoparticules d'argent à partir des différents modèles biologiques et qu'il s'agit d'une procédure plus économique et efficace. Nous avons alors adopté cette méthode en faisant réduire les ions d'argent Ag^+ dans la solution (AgNO_3) par les agents de réduction qui se trouve dans les extraits de ces modèles biologiques.

Notre travail est axé sur deux parties principales :

❖ Une étude bibliographique partagée en deux chapitres :

- Le premier chapitre qui décrit une généralité sur les nanoparticules et leurs origines en se basant principalement sur les nanoparticules d'argent leurs propriétés et leurs synthèse biologiques à l'aide des différents modèles biologiques tels que les bactéries, les champignons et les plantes ainsi leurs applications médicales et environnementales et leurs activités biologiques notamment l'activité antibactérienne ainsi que les différentes méthodes de caractérisations telles que la FTIR et l'UV-visible.

- Le deuxième chapitre décrit les antibiotiques, leurs cibles dans les bactéries ainsi que la résistance bactérienne et ses types, aussi on a défini les bactéries multirésistantes avec quelques exemples, et on a mentionné le mécanisme général de résistance en concentrant sur le mécanisme génétique ainsi que la résistance bactérienne à l'argent et la synergie AgNPs-antibiotiques.

❖ Une étude expérimentale partagée aussi en deux chapitres :

-Le premier est matériel et méthodes, dans lequel nous avons adopté un protocole expérimental, permettant d'atteindre l'objectif assigné qui n'est autre que la biosynthèse de nanomatériau d'argent à partir des extraits des quatre modèles biologiques mélangées avec la solution de nitrate d'argent (AgNO_3), en faisant varier quelques paramètres expérimentaux.

-Le second présente les résultats et la discussion clôturé par une conclusion générale.



Chapitre I :

*Les nanoparticules d'argent :
biosynthèse utilisation, et effets*

1. Les nanoparticules

1.1 Généralités sur les nanotechnologies

La nanotechnologie désigne la science qui consiste à concevoir, produire et exploiter des structures et des appareils ayant une ou plusieurs composantes d'environ 100 millièmes de millimètre (100 nanomètres) ou moins en contrôlant la forme et la taille (**Muhammad *et al.*, 2016; Angélique *et al.*, 2018**). À ces échelles, la matière acquiert des propriétés inattendues et souvent différentes de celles des mêmes matériaux à l'échelle micro- ou macroscopique (**Chuto et Chaumet-Riffaud, 2010**).

La nanotechnologie est devenue l'une des technologies les plus prometteuses avec une application potentielle dans tous les domaines de la science (**Aiswarya *et al.*, 2019**) à savoir médicale, pharmaceutique, environnemental, énergétique (**Mohamed *et al.*, 2019**) cosmétique, agricole, séquençage d'ADN, diagnostic et détection biomoléculaire (**Debnath, 2018**).

1.2 Définition des nanoparticules

Selon la commission européenne (2013), le nanomatériel est défini comme un matériel naturel accessoire ou manufacturé contenant des particules ayant au moins une dimension entre 1-100 nm à l'état non lié ou comme agrégat (**Djearamane *et al.*, 2016**). Ces matériaux peuvent être de différentes dimensions : 0D, 1D, 2D ou 3D (**Khan *et al.*, 2017**).

Les nanoparticules (NPs) ne sont pas des simples molécules en soi et sont donc composés de trois couches :

- La couche superficielle, qui peut être fonctionnalisée avec une variété de petites molécules, d'ions métalliques, de tensioactifs et de polymères.
- La couche de coque, qui est un matériel chimiquement différent du noyau dans tous les aspects, etc.
- Le noyau, qui est essentiellement la partie centrale du NP et désigne généralement le NP lui-même (**Khan *et al.*, 2017**).

Du point de vue de la taille, les nanoparticules se situent sur l'échelle du monde vivant entre l'hélice d'ADN (3,4 nm) et un virus (100 nm) (**Angélique *et al.*, 2018**).

A titre de comparaison avec les structures organiques naturelles, les NPs se situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines (fig.1).

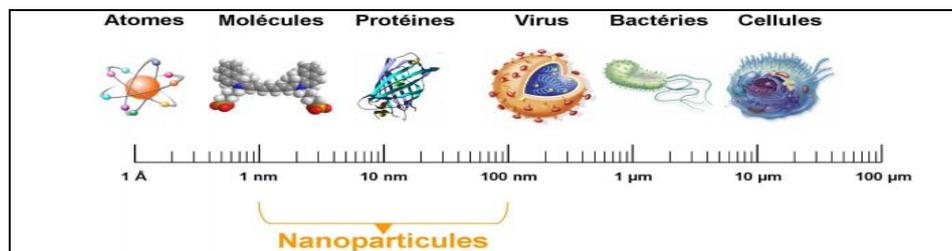


Figure 1 : Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Belfennache, 2010).

1.3 Origine des nanoparticules

1.3.1 Les nanoparticules naturelles

Elles sont produites à la fois à la suite d'événements naturels tels que l'activité volcanique, les réactions de photosynthèse ou encore l'activité marine. On peut en retrouver dans les poussières désertiques. Les nanoparticules sont aussi observées lors du phénomène de combustion (Chauvel, 2018).

Certaines bactéries et levures peuvent réduire la toxicité d'un environnement polluant en agissant sur les ions métalliques et en formant des complexes insolubles sous forme de nanoparticules (Chauvel, 2018).

1.3.2 Les nanoparticules artificielles (industrielles ou manufacturées)

Elles sont produites intentionnellement à l'échelle industrielle par l'homme (Chauvel, 2018; Reyes *et al.*, 2018). A l'aide de différents matériaux tels que les oxydes métalliques, les métaux, le carbone, les polymères et les lipides (Reyes *et al.*, 2018).

1.3.3 Les nanoparticules accidentelles

Elles proviennent des procédés chauds par exemple : Feux de bois, gaz d'échappement de véhicule, freinage... (Ophélie, 2008).

2. Les nanoparticules d'argent

2.1 Présentation générale

L'argent est un élément de métal de transition d'origine naturelle (Keerawelle et Chamara, 2019). Il est utilisé depuis l'antiquité comme agent antifongique et

antiviral ,car tout en étant très toxique pour les microorganismes, il est beaucoup moins toxique pour l'homme (**Li et al., 2011**), de masse atomique de 107,87 g/mol, solide à température ambiante. Sa densité est de 10,5 et son point de fusion est de 960 °C. Il s'oxyde peu, ductile, malléable et bon conducteur thermique et électrique (**Chauvel, 2018**).

Parmi les différentes nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont l'un des nanomatériaux les plus essentiels et les plus fascinants (**Nasrollahzadeh et al., 2019**). Composées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions d'argent. Devant les nanotubes de carbone et les nanoparticules de titane, elles sont les nanoparticules les plus vendues et relâchées dans l'environnement (**Andrieux, 2012**).

2.2 Propriétés des nanoparticules d'argent

Les AgNPs ont des propriétés physico-chimiques distinctives, notamment une conductivité électrique et thermique élevée, une stabilité chimique, une activité catalytique et un comportement optique non linéaire (**Tran et al., 2013**). Plus des propriétés mécaniques et magnétiques par rapport aux matériaux en vrac (**Renata et al., 2012**) dont :

- **Propriétés optiques**

Les AgNPs sont extrêmement efficaces pour absorber et diffuser la lumière et, contrairement à de nombreux colorants et pigments, ont une couleur qui dépend de la taille et de la forme de la particule (**Elham et al., 2016**).

- **Chimie de surface**

Lorsque les nanoparticules sont, en solution, les molécules s'associent à la surface des nanoparticules pour établir une double couche de charge qui stabilise les particules et empêche l'agrégation (**Elham et al., 2016**).

- **Propriétés biologiques**

Les composés d'argent sont révélés efficaces contre les bactéries aérobies et anaérobies en précipitant les protéines cellulaires bactériennes et en bloquant le système respiratoire microbienne (**Elham et al., 2016**).

2.3 La Synthèse Biologique des Nanoparticules d'argent

La synthèse verte des nanoparticules émerge progressivement comme une branche clé de la nanotechnologie dans laquelle les nanoparticules sont produites à l'aide d'entités biologiques (Prateek *et al.*, 2017), où La paroi cellulaire chargée négativement interagit électro statiquement avec les ions métalliques chargés positivement et bio réduit les ions métalliques en NPs (Tran *et al.*, 2013).

Cette méthode peut être considérée comme une approche respectueuse de l'environnement et également comme une technique à faible coût à haut rendement, et non toxique (Soliman *et al.*, 2018), simple, fiable (Rajeshkumar et Bharath, 2017), une densité élevée, la stabilité et la solubilité immédiate des nanoparticules préparées dans l'eau (Zhang *et al.*, 2016). Par rapport aux méthodes de synthèse chimique et physique qui indiquent une faible biocompatibilité et présentent des risques biologiques latents consomment une énergie importante, nécessitent une pression élevée, coûteuses et ont un faible rendement (Mohamed *et al.*, 2019).

Tableau 1 : Comparaison entre la synthèse biologique et la synthèse chimique (Muhammad *et al.*, 2016).

Synthèse des nanoparticules		
Bottom-up approche		Top-down approche
Méthodes vertes	Méthodes chimiques	Méthodes physiques
<ul style="list-style-type: none"> -Utiliser des bactéries. -Utiliser des champignons. -Utiliser des plants et leurs extraits. -Utiliser de la levure. -Utilisation d'enzymes et de biomolécules. -Utiliser un micro-organisme 	<ul style="list-style-type: none"> -Réduction chimique -Sonochimique -Microémulsion -Photochimique -Electrochimique -Pyrolyse -Four micro-onde -Solvothormal 	<ul style="list-style-type: none"> -Ablation laser pulsée. -Evaporation-condensation. -Décharge d'arc. -Pyrolyse par pulvérisation. -Fraisage à billes. -Phase vapeur et gaz. -Décharge de fil d'impulsion. -Lithographie.
Non toxique		Toxique

En raison de sa nature relativement polyvalente les extraits de métabolites secondaires collectés à partir des sources biologiques contiennent de nombreuses biomolécules telles que des **enzymes**, des **protéines**, des **flavonoïdes**, des **stérols**, des **triterpènes**, des **triterpénoïdes** et des **saponines** qu'ils ont des propriétés réductrices

et antioxydants responsables de la réduction des composés métalliques dans leurs nanoparticules respectives (**Keerawelle et Chamara, 2019**).

Certains des agents réducteurs et / ou stabilisants utilisés pour la production de nanoparticules d'argent par synthèse verte sont :

2.3.1 Les bactéries

L'utilisation de bactéries gagne rapidement une importance en raison de son succès croissant, de sa facilité de manipulation et de sa modification génétique. Les AgNPs ont été synthétisées en utilisant à la fois des bactéries gram-positives et gram-négatives pour former ces nanoparticules d'argent, il faut savoir que certaines bactéries ont la capacité de produire des nanoparticules intracellulaires tandis que d'autres produisent des AgNPs extracellulaires (**Chauvel, 2018**).

Les bactéries utilisent couramment le nitrate comme source principale d'azote, grâce à quoi le nitrate est converti en nitrite par la nitrate réductase, en utilisant le pouvoir réducteur d'une forme réduite de nicotinamide adénine dinucléotide (NADH). En fait, l'utilisation de la nitrate réductase comme agent réducteur s'avère jouer un rôle clé dans la bioréduction des ions Ag^+ (**Sang Hun et Bong-Hyun, 2019**).

2.3.2 Les champignons

Les champignons ont un potentiel de synthèse de NPs métalliques en raison de la capacité de bioaccumulation des métaux et de leur tolérance, de leur capacité de liaison élevée et de leur absorption intracellulaire qui sont faciles à manipuler dans une installation de recherche par rapport aux bactéries, aussi ils sécrètent d'énormes enzymes catalysant la réduction de la solution d' $AgNO_3$ ce qui tend à augmenter considérablement la rentabilité de cette approche synthétique (**Muhammad et al., 2016**).

Le mécanisme de la synthèse des AgNPs basé sur les champignons selon (**Muhammad et al., 2016**):

- a) Les particules Ag^+ ont été adsorbées à la surface des cellules fongiques en raison de la présence d'une interaction électrostatique entre des groupes carboxyliques chargés négativement présents dans les enzymes et des ions Ag^+ chargés positivement.

- b) Les particules Ag réduites par les enzymes présentes dans les parois cellulaires provoquant le développement de noyaux Ag.
- c) Les nanoparticules se forment à la surface des mycéliums, pas en solution.

2.3.3 Les polysaccharides

Dans cette méthode, les AgNPs sont préparés en utilisant de l'eau comme solvant respectueux de l'environnement et des polysaccharides comme agent de coiffage et réducteur. Dans un système chauffé doucement de l'amidon et du β -D-glucose (agent réducteur), on obtient la formation d'AgNPs. Cette solution, associée à l'AgNO₃ sous forme de sel permet la synthèse de nanoparticules d'argent de 10-34 nm. Ces AgNPs sont stables dans la solution aqueuse à 25°C pour à peu près 3 mois (**Chauvel, 2018**).

2.3.4 Les plantes

Les plantes sont considérées comme une très bonne méthode pour la synthèse rapide des nanoparticules d'argent en raison de leur large spectre de métabolites secondaires bioactifs, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les acides aminés, les protéines et les enzymes, qui pourraient améliorer la synthèse des nanoparticules, en jouant un rôle d'agent stabilisant ou réducteur (**Chauvel, 2018**).

Les parties des plantes comme les racines, la tige, les graines et les feuilles sont principalement utilisées pour la synthèse des NPs. Le point intéressant est l'agent actif présent dans ces parties (**Muhammad *et al.*, 2016**).

La bio-réduction de l'Ag a été postulée comme piégeant des ions Ag⁺ à la surface des protéines en raison des interactions électrostatiques entre ces deux dans l'extrait de matériel végétal. Les protéines réduisent les ions Ag⁺, entraînant leur changement de structure secondaire et la formation de noyaux d'argent qui se développent successivement par la réduction supplémentaire des ions Ag⁺ et leur accumulation au niveau des noyaux conduisant à la formation des AgNPs (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**).

Après la sélection de l'extrait de plante, les principaux paramètres affectants sont la concentration de l'extrait, la température, le sel métallique, le pH et le temps de contact (**Muhammad *et al.*, 2016**).

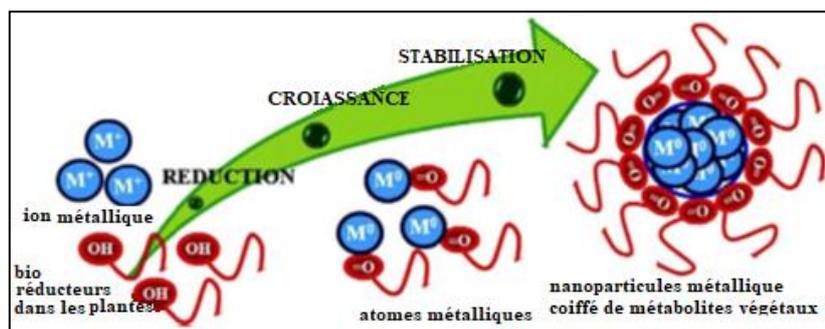


figure 2 : Un mécanisme possible pour la synthèse verte des NPs (Nasrollahzadeh *et al.*, 2019).

2.4 Applications médicales des nanoparticules d'argent

L'argent est largement utilisé depuis l'antiquité comme agent thérapeutique pour de nombreuses maladies (Carolina *et al.*, 2014).

2.4.1 Implants cardiovasculaires

Le premier appareil cardiovasculaire recouvert d'un élément Ag était une valve de foyer en silicone prothétique pour diminuer la survenue d'une endocardite. Cette utilisation de l'Ag a été proposée pour éviter la contamination bactérienne sur la valve en silicone et réduire la réaction inflammatoire du cœur (Muhammad *et al.*, 2016).

2.4.2 Cathéters

Les cathéters recouverts d'argent ont montré une activité antimicrobienne importante in vitro et empêcher la formation de biofilm contre les agents pathogènes (*E. coli*, *Enterococcus*, *S. aureus*, *coagulase négative staphylococci*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*) (Tran *et al.*, 2013). Et peuvent réduire de manière productive les bactéries jusqu'à 72h dans les modèles animaux, et ceux-ci ne sont pas toxique (Muhammad *et al.*, 2016).

2.4.3 Pansements

Les pansements contre les blessures à base d'Ag ont été utilisés pour traiter cliniquement différentes blessures, telles que les brûlures, le pemphigus et la nécrose épidermique toxique, accélérer la ré-épithélialisation bien que, maintenant la formation de nouveaux tissus c.à.d. l'angiogenèse et l'expansion (Muhammad *et al.*, 2016). Les ulcères chroniques de la jambe, les plaies diabétiques et les blessures traumatiques (Chauvel, 2018).

2.4.4 Dentisterie

Les AgNPs ont été utilisés dans les instruments, les composites dentaires et les bandages, dans les adhésifs orthodontiques pour maintenir la force de liaison au cisaillement de l'adhésif orthodontique tout en augmentant sa résistance aux bactéries. En diminuant la colonisation microbienne des matériaux de revêtement, et en améliorant la compétence antifongique. Les AgNPs joint dans les obturations endodontiques a montré un impact antibactérien prolongé contre *Streptococcus milleri*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* (**Muhammad et al., 2016**).

2.4.5 Tissus imprégnés de nanoparticules pour vêtements cliniques

Un groupe de chercheurs a exploré la combinaison de l'utilisation des propriétés bactériolytiques du lysozyme et des propriétés biocides des AgNPs pour la synthèse de revêtements antimicrobiens sur des instruments médicaux (**Sang Hun et Bong-Hyun, 2019**). Les AgNPs ont été utilisés pour produire, des autonettoyants, des gants chirurgicaux réutilisables, des robes de patient et des pansements antibactériens, des couvertures défensives, des combinaisons contre les risques biologiques (**Muhammad et al., 2016**).

2.4.6 Utilisation de nanomatériaux pour l'administration de médicaments

L'administration de médicaments à l'aide de NPs est une stratégie prometteuse pour l'amélioration de la biodisponibilité de chimiothérapies, de radiothérapies, de radionucléides et d'anticorps aux cellules tumorales (**Keywan et al., 2019**). Après une administration systémique et locale, elles peuvent affecter l'absorption cellulaire, la distribution biologique, la pénétration dans les barrières biologiques et les effets thérapeutiques résultants (**Zhang et al., 2016**).

2.5 Nanoparticules d'argent dans les traitements environnementaux

La génération de formes stables du métal noble AgNPs et efficaces offre une perspective avancée dans le domaine de l'hygiène environnementale et de la stérilisation en raison de leurs propriétés antimicrobiennes et désinfectantes (**Tran et al., 2013**).

2.5.1 Désinfection de l'air

L'OMS a estimé que 50% de la contamination biologique présente dans l'air intérieur provient des systèmes de traitement de l'air, par la formation de micro-organismes inoffensifs tels que des agents pathogènes bactériens et fongiques qui sont

accumulés en grande quantité sur les filtres des systèmes de chauffage, de ventilation et de climatisation (HVAC : filters of heating, ventilating, and air-conditioning systems) .Pour réduire la croissance microbienne, l'intégration d'AgNP a provoqué une diminution de la quantité des bactéries, qui a été observée dans le cas des souches à Gram négatif et à Gram positif de *Micrococcus luteus*, *Micrococcus roseus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas luteola* (Tran *et al.*, 2013).

2.5.2 Désinfection de l'eau

Les NPs à base d'argent peuvent être incorporé aux matériaux de base et aux membranes polymères pour désinfecter l'eau contaminée par les bactéries/ virus tout en empêchant la formation de biofilm dans le milieu de filtration pour réduire le nombre des maladies infectieuses d'origine hydrique responsable de décès dans les pays en développement liées à un mauvais traitement de l'eau potable (Tran *et al.*, 2013).

2.5.3 Désinfection des surfaces

Des travaux ont montré que l'incorporation des AgNPs dans la peinture domestique et ont constaté que les surfaces recouvertes de cette peinture modifiée par AgNPs peuvent présenter des propriétés antibactériennes remarquables contre les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*) (Sang Hun et Bong-Hyun, 2019). Les AgNPs se retrouvent dans certains emballages alimentaires, permettant d'augmenter leur efficacité bactéricide et d'augmenter la durée de conservation des aliments emballés dans un tel dispositif (Chauvel, 2018).

2.6 Activités biologiques des nanoparticules d'argent

Les AgNPs ont reçu une énorme attention des scientifiques en raison de leur remarquable défense contre divers micro-organismes pathogènes (Rajeshkumar et Bharath, 2017).

2.6.1 Activité antibactérienne

Les Ag-NPs ont été démontrés comme un biocide efficace contre une bactérie à large spectre comprenant à la fois les Gram négatif et les Gram positif y compris *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, et *Bacillus subtilis* (Zhang *et al.*, 2016). Le rapport surface/volume élevé des AgNPs augmente leur contact avec les microorganismes, favorisant la dissolution des ions argent, améliorant ainsi l'efficacité biocide (Keywan *et al.*, 2019). Ils sont

montrés un effet antibactérien à long terme par rapport à deux autres désinfectants l'hypochlorite de sodium (NaClO) et le phénol (C₆H₅OH) (**Tran et al., 2013**).

L'activité biocide des AgNPs dépend de plusieurs caractéristiques morphologiques et physicochimiques (par exemple, taille, forme et surface) les AgNPs de plus petite taille sont plus susceptibles de traverser la membrane cellulaire et d'entrer dans la cellule, la concentration d'AgNPs qui empêche la croissance bactérienne est différente pour chaque type de bactérie (**Carolina et al., 2014**).

- **Mécanisme d'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent**

L'argent est classé comme un acide doux et les cellules sont principalement composées de bases molles comme le phosphore et le soufre. L'action des AgNPs sur la cellule se traduit par la formation d'une réaction conduisant éventuellement à la mort cellulaire (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**).

Les AgNPs ciblent la membrane bactérienne, l'épuisement des métaux peut être responsable de la formation de trous de forme asymétrique et conduisant à une dissipation de la force motrice des protons et perturbent sa fonction propres, telles que la perméabilité et la respiration ; puis ils pénètrent à l'intérieur des bactéries et libèrent les ions Ag⁺. **Tran et al., 2013**, a cité que ces ions Ag⁺ se lient aux groupes sulfhydryle, ce qui conduit à la dénaturation des protéines en réduisant les liaisons disulfures ; et peut aussi se complexer avec des groupes donneurs d'électrons (**Quelemes et al., 2013**).

Ils sont capables d'interagir éventuellement avec des composés contenant du soufre et du phosphore tels que l'ADN (**Tran et al., 2013**), et entraînant une inhibition du processus de transcription et de traduction. Il conduit aussi à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comme les radicaux hydroxyles (OH⁻) et les anions superoxyde (O₂) (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**). Par la suite, les composants cellulaires fuient des membranes cellulaires endommagées, ce qui conduit finalement à la mort cellulaire (**Zhang et al., 2018**).

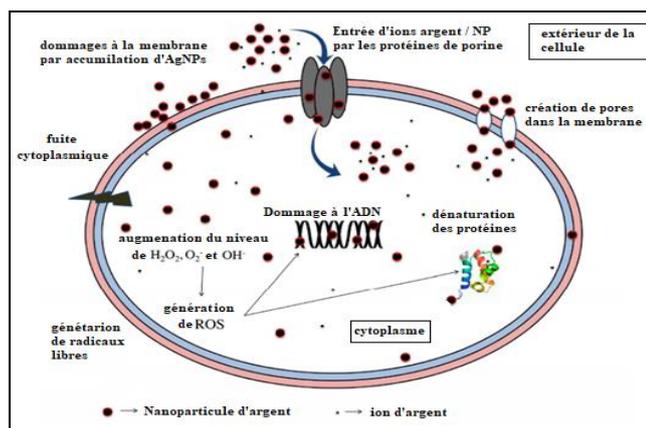


Figure 3 : Mécanismes bactéricides des AgNPs due à leur contact direct avec la cellule bactérienne et de la libération d'ions argent (Chengzhu *et al.*, 2019).

Shrivastava *et al.*, Ont proposé que les AgNPs modulent le profil de phosphotyrosine des peptides bactériens putatifs qui peuvent affecter la signalisation cellulaire, ce qui conduit à une inhibition de la croissance des bactéries. Klueh *et al.*, ont soutenu l'hypothèse d'une interaction de l'argent avec les groupes thiol dans les enzymes (Carolina *et al.*, 2014).

Récemment, les nanoparticules d'argent ont prouvé avoir un effet potentiel anti-QS (anti- Quorum sensing activity). Cet effet se manifeste pour des concentrations entre 0,5 et 4 mg. L⁻¹. Lors d'une autre étude, le mécanisme anti-QS d'AgNPs fabriqués à partir de champignons a été montré contre *P. aeruginosa*. Les nanoparticules d'argent inhibent la production de l'AHLs régulé par LasIR-RhlIR après leur internalisation dans la cellule. En l'absence d'AHLs, les récepteurs LuxI et LuxR ne peuvent pas se lier à l'ADN, ainsi, l'expression des gènes menant aux facteurs de virulence est inhibée (Naik et Kowshik, 2017).

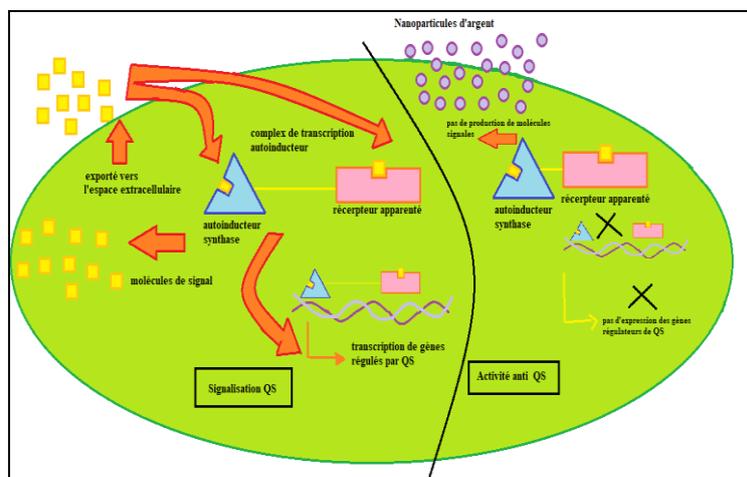


Figure 4 : Le mécanisme d'action "Anti quorum sensing" des nanoparticules d'argent d'après (Naik et Kowshik, 2017).

2.6.2 Activité antivirale

Les nanoparticules ont un fort potentiel antiviral en raison de leurs interactions multiples avec la glycoprotéine récepteur et / ou enveloppe virale, ils peuvent inhiber la multiplication virale à l'intérieur de la cellule hôte en empêchant la réplication ou en bloquant l'entrée de particules virales à l'intérieur de la cellule hôte (**Carolina et al., 2014**). Comme le virus de l'immunodéficience humaine (HIV-1), virus de l'hépatite B et virus syncytial respiratoire (**Li et al., 2011**).

2.6.3 Activité antifongique

Les AgNPs ont une forte activité antifongique sur *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et *Trichophyton mentagrophytes* (**Li et al., 2011**) *Bipolaris sorokiniana* par l'inhibition de la germination des conidies (**Zhang et al., 2016**). Par exemple L'activité antifongique des AgNPs contre *C.albicans* pourrait être exercée en perturbant la structure de la membrane cellulaire et en inhibant le processus de bourgeonnement normal en raison de la destruction de l'intégrité de la membrane (**Tran et al., 2013**).

2.6.4 Activité anti-inflammatoire

Des études ont montré que l'exposition au NPs conduit à la sécrétion de plusieurs cytokines et chimiokines par les cellules épithéliales, conduisant à l'infiltration de macrophages dans les zones exposées. Ensuite les macrophages déclenchent la libération de cytokines inflammatoires qui induisent à la régulation positive des médiateurs inflammatoires induisent une production accrue de cytokines inflammatoires du système circulatoire vers le site de l'inflammation (**Keywan et al., 2019**).

2.6.5 Activité Anti cancéreuse

Les AgNPs peuvent être considérés comme un outil prometteur dans la prévention contre divers types de cellules cancéreuses, comme le carcinome hépatocellulaire, le cancer du poumon et du sein, et le carcinome cervical en raison de leur meilleure pénétration, leur propriétés anti-angiogéniques et anti-prolifératives et la facilité de leur suivi dans le corps (**Sang Hun et Bong-Hyun, 2019; Adnan et al., 2020**).

La propriété antiproliférative dans les cellules cancéreuses est due à leur capacité à endommager l'ADN, à briser les chromosomes, à produire une instabilité

génomique et à perturber l'homéostasie du calcium (Ca^{2+}) qui induit l'apoptose et provoque une instabilité du cytosquelette. La lésion cytosquelettique bloque le cycle et la division cellulaire, favorisant l'activité anti proliférative des cellules cancéreuses (Sang Hun et Bong-Hyun, 2019). Wang *et al.*, ont démontré que les AgNPs (15 nm) peuvent induire l'apoptose et améliorer la radiosensibilité sur les cellules cancéreuses (Carolina *et al.*, 2014).

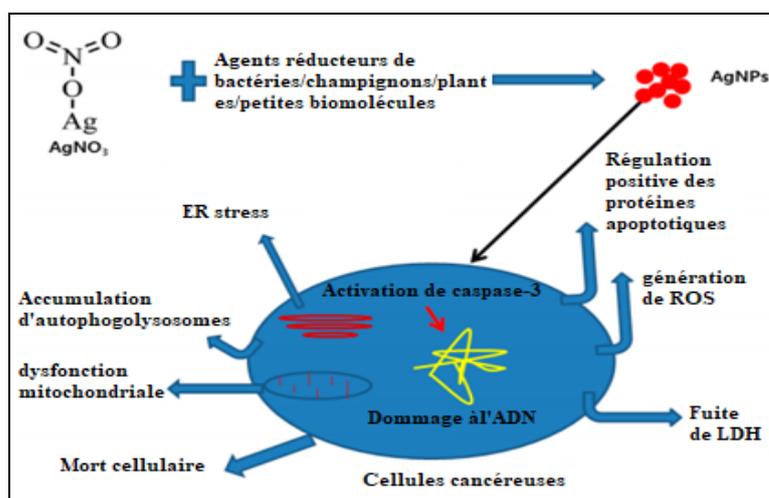


Figure 5 : Les mécanismes possibles des AgNPs à induire une cytotoxicité dans les lignées cellulaires cancéreuses (Zhang *et al.*, 2016).

2.6.6 Activité antidiabétique

Les AgNPs piègent les radicaux libres et réduisent les niveaux d'enzymes qui provoquent l'hydrolyse des glucides complexes (α -glucosidase et α -amylase), ce qui entraîne une augmentation du taux de consommation de glucose (Prateek *et al.*, 2017).

2.7 La toxicité des AgNPs

Cette toxicité est déterminée par de nombreux facteurs, notamment la taille des particules, le type de matériau de revêtement et la structure morphologique. De nombreux rapports ont démontré que la cytotoxicité des AgNPs dépend de la taille (Zhang *et al.*, 2018).

2.7.1 Effets néfastes de l'argent sur l'Homme

L'argent sous forme de nanoparticules peut pénétrer dans le corps humain par différentes voies. Après ingestion ou contact dermique en présence d'une lésion cutanée, les nanoparticules métalliques peuvent se retrouver dans la circulation sanguine et/ou lymphatique et s'accumuler dans les organes provoquant une perte

d'identité cellulaire, une réduction de la capacité de prolifération et des modifications de la structure des organites et du noyau cellulaire (**Saulou-Berion, 2009**).

La dangerosité des nanoparticules vient principalement de leur forme et de leur taille, car elles peuvent être facilement inhalées et interagir avec les voies respiratoires, puis cardiovasculaires (**Saulou-Berion, 2009**).

L'une des conséquences négatives de l'argent ionique pour l'Homme est l'argyrie (ou argyrose, du grec « argyros » qui signifie argent), qui correspond à la coloration bleu-gris de la peau (ex : visage, bras, mains, base des follicules des cheveux, ongles), des yeux et des muqueuses (**Saulou-Berion, 2009**).

2.7.2 Conséquences de la dissémination de l'argent dans l'environnement

L'utilisation croissante de produits contenant des nanoparticules peut conduire à un relargage massif dans l'environnement, notamment les milieux aquatiques (impact sur les poissons, invertébrés, phyto- et zooplancton, algues) et les sols (effets potentiellement néfastes sur les bactéries et les plantes) (**Saulou-Berion, 2009**).

De plus, certaines nanoparticules sont toxiques pour les poissons car ils inhibent l'activité branchiale et affectent les fonctions de croissance et de reproduction. Toutefois, en eaux douces ou dans le milieu maritime, les ions Ag^+ se complexent avec les ions Cl^- , SO_4^{2-} et S^{2-} , formant des précipités très peu solubles. Les nanoparticules provoquent une réduction de la viabilité cellulaire de bactéries du sol, comme par exemple les bactéries dénitrifiantes, qui jouent un rôle majeur dans la fixation de l'azote, l'élimination des nitrates, la dégradation des composés organiques et l'établissement de symbiose avec les plantes (**Saulou-Berion, 2009**).

2.8 Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent

Après la synthèse, la caractérisation des AgNPs est essentielle pour étudier leurs caractéristiques telles que la surface, la morphologie, la taille, la forme, l'agrégation et la solubilité, etc (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**). Plusieurs techniques analytiques ont été utilisées pour la caractérisation des nanoparticules, telles que :

2.8.1 La spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible est l'une des techniques simple, facile, rapide, sensible et la plus couramment utilisée pour la caractérisation des nanoparticules synthétisées. Il s'agit de quantifier la quantité de rayonnement

ultraviolet ou visible absorbée par un constituant en solution. Et mesure le rapport, de l'intensité de deux faisceaux de lumière dans la région UV Visible (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**).

Dans l'AgNPs, la bande de conduction et la bande de valence sont très proches l'une de l'autre dans lesquelles les électrons se déplacent librement. Ces électrons libres donnent naissance à une bande d'absorption par résonance plasmonique de surface (SPR), due à l'oscillation collective d'électrons de nanoparticules d'argent en résonance avec l'onde lumineuse (**Zhang et al., 2016**).

2.8.2 La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

FTIR est un moyen non invasif, adapté, précieux, rentable, et simple pour étudier le rôle des biomolécules dans la réduction de l'AgNO₃ en argent.

Lorsque le rayonnement infrarouge traverse les résultats de l'échantillon, certain de ce rayonnement est absorbé par l'échantillon et reste traversé. Le spectre résultant signifie l'absorption et la transmission en créant une empreinte moléculaire d'échantillon qui représente son identité (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**).

2.8.3 La microscopie

La formation et la distribution des AgNPs ont été confirmées par la microscopie (**Qasim et al., 2018**).

- **La microscopie électronique à balayage (MEB)**

C'est une technique couramment utilisée, car la manipulation de ce type d'appareillage est assez commune, dont la résolution reste assez bonne, variant entre 1 à 7 nm. Outre l'observation de la microstructure, elle permet d'identifier la composition chimique à l'échelle locale et même globale de l'échantillon, via l'analyseur EDX, incorporé dans l'appareil (**Belfennache, 2010**).

- **La microscopie électronique en transmission (MET)**

La (MET) est un outil fondamental pour l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique. Utilisée en mode conventionnel, qui permet de déterminer la morphologie, la taille, la polydispersité et la cristallinité des nanoparticules synthétisées. C'est une technique très performante, dont la résolution est bien meilleure que celle du MEB, se situant entre 0.1 et 1 nm. Cependant sa manipulation reste délicate (**Belfennache, 2010**).



Chapitre II :

La résistance bactérienne

1. Contexte historique

Les bactéries sont des organismes unicellulaires dont les dimensions varient entre 1 et 10 μ m (**Gest, 2004**), ils font partie des protistes procaryotes qui ont un chromosome unique sans membrane nucléaire et une structure cellulaire élémentaire (pas de mitochondries) (**Valcourt, 2016**).

La découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1929 a marqué le début de l'histoire d'antibiotique (**Rao, 1998; Paramasivam, 2013**). La mauvaise utilisation ou l'utilisation, souvent abusive, excessive et intensive des antibiotiques favorise l'évolution des bactéries vers la résistance (**John et al., 1981; Rao, 1998; Paramasivam, 2013**). Ce qui entraîne fréquemment des échecs thérapeutiques (**Courvalin, 2007**) chez l'homme et l'animal (**Rao, 1998**). Etant responsables des maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes (**Saga et Keizo, 2009**), qui représente une menace importante pour la morbidité et la mortalité dans le monde (**Weiss 2002; Tacconelli et al., 2017**).

2. Les antibiotiques

En 1942 Waksman crée le terme « antibiotique » pour faire référence à tous les dérivés produits par le métabolisme des micro-organismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte (**Valcourt, 2016**). Les premiers antibiotiques étaient d'origine naturelle, générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries alors qu'ils sont actuellement obtenus par synthèse chimique (**Jian et al., 2006; Lozniewski et al., 2010**).

On différencie les antibiotiques à effet bactéricide (consiste en la destruction d'une partie de la souche bactérienne) et des antibiotiques à effet bactériostatique (consiste en un ralentissement de la croissance bactérienne pouvant aller jusqu'à une absence de croissance) (**Soilleux, 2007; Archambaud, 2009**), Ils sont divisés en différentes classes telles que les β -lactames, les quinolones, les tétracyclines, les macrolides, les sulfonamides, les aminoglycosides, les carbapénèmes et les céphalosporines (**Jian et al., 2006**).

Pour qu'un antibiotique puisse exercer son action, il faut qu'il soit capable d'atteindre sa cible, donc il doit pénétrer dans la membrane externe des bactéries à

Gram négatif, échapper aux protéines, traverser la paroi bactérienne et la membrane cytoplasmique. Il faut aussi qu'il arrive sur sa cible à des concentrations suffisantes pour avoir une action significative. Si l'une de ces conditions n'est pas remplie, l'antibiotique sera inefficace (Archambaud, 2009).

- **Mécanismes d'action des antibiotiques : Les cibles bactériennes**

Un antibiotique peut avoir 3 types de cibles : la paroi, la membrane plasmique (et membrane externe pour les bactéries Gram (-)), le cytoplasme (les synthèses protéiques, le chromosome) (fig.6) (Lucie, 2018).

- a) **La paroi bactérienne**

L'antibiotique restreint la biosynthèse de peptidoglycane. Par exemple, les β -lactamines inhibent les transpeptidases limitant la formation des mailles de la paroi. La bactérie devient alors très fragile (Lucie, 2018). Exemple : β -lactamines, Glycopeptides, Fosfomycine (Mainardi, 2015).

- b) **La membrane**

L'antibiotique fait des trous dans la membrane responsable de fuites cellulaires (Lucie, 2018). Exemple : Daptomycine, Colimycine (Mainardi, 2015).

- c) **Le cytoplasme**

- **La synthèse des protéines**

L'antibiotique se fixe sur les ribosomes bactériens et inhibe la synthèse des protéines exemple : tétracyclines, aminosides, phénicolés, macrolides, lincosamides, Chloramphénicol, Acide Fusidique et linézolide (Lucie, 2018; Mainardi, 2015) .

- **Les acides nucléiques**

L'antibiotique inhibe la synthèse de l'acide folique qui participe à la formation du tétrahydrofolate (cofacteurs de la synthèse d'acides aminés et de bases puriques) (Lucie, 2018). Exemple : les quinolones, les rifamycines, les nitroimidazoles, les sulfamides, et triméthoprimes (Valcourt, 2016).

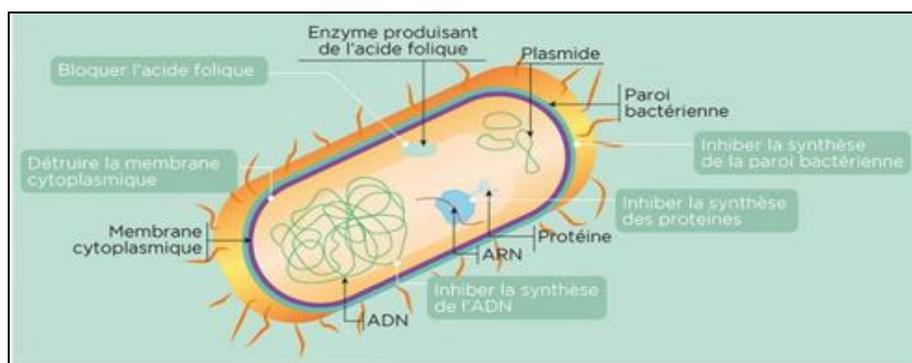


Figure 6 : Différents modes d'action des antibiotiques (Lucie, 2018).

3. La Résistance bactérienne

3.1 Définition de la résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques se définit comme la capacité d'une bactérie à résister à l'effet des antibiotiques aux concentrations d'utilisation médicale. Elle touche l'ensemble des espèces bactériennes et notamment les bactéries à Gram positif (Lina et Cattoir, 2014).

L'organisation mondiale de la santé a défini la résistance bactérienne aux antibiotiques dès 1961 de façons différentes (khadija, 2019):

- **Définition thérapeutique** : Une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration atteignable in vivo (Hajar, 2017).
- **Épidémiologique** : Une souche est dite « résistante » lorsqu'elle supporte une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Hajar, 2017).
- **Génétique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle héberge des gènes codant pour cette résistance, ce qui se traduit comme un changement dans le code génétique du microorganisme, codant ainsi un gène altéré. (khadija, 2019).
- **Clinique** : Une bactérie est dite « résistante » quand elle échappe à l'action de l'antibiotique supposé actif, prescrit au malade, c'est ce qui se manifeste par un échec clinique relatif ou absolu de l'antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et la prescription d'un deuxième antibiotique (khadija, 2019).

3.2 Types de résistance

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque et la résistance acquise :

3.2.1 Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Cette résistance, généralement chromosomique, est présente chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques et elle est due soit à une absence de cible pour l'antibiotique soit à une imperméabilité de la paroi à cet antibiotique (**Normark et Norman, 2002**).

3.2.2 Résistance acquise

Cette résistance ne concerne que quelques souches d'une même espèce ou d'un même genre, normalement sensible à un antibiotique donné, elle est due à :

- Des modifications génétiques chromosomiques ou extras chromosomiques : mutation sur des gènes existants (gènes codant à des mécanismes, gènes régulateurs...) (**Muylaert et Mainil, 2012**).

- Ou par incorporation de nouveaux gènes codant à des mécanismes de résistances. Elle peut être disséminée par transfert horizontal entre les bactéries (**Muylaert et Mainil, 2012**).

- **La résistance par mutation chromosomique**

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, due au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. (**Lozniewski et al., 2010**).

- **La résistance extra-chromosomique (plasmides)**

Il s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent plasmidique (**khadija, 2019**), ou des éléments génétiques spéciaux appelés transposons et intégrons, qui ont la capacité de s'intégrer à la fois aux chromosomes et aux plasmides (**Rao, 1998**). Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une

bactérie donneuse à une autre bactérie dite receveuse ; elle peut se faire entre deux espèces différentes des bactéries (**khadija, 2019**).

Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction la transformation et la conjugaison (**khadija, 2019**).

- **Résistance croisée**

Elle correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotiques due à un seul mécanisme de résistance. La résistance est de niveau variable selon les antibiotiques, en général d'autant plus faible que la molécule est plus active. (**Courvalin, 2007**).

Parmi les nombreux cas de résistance croisée, on peut citer les mutations dans les topoisomérases de type II, gyrase et topoisomérase IV, conférant la résistance aux fluoroquinolones ou la résistance aux 4-6-desoxystreptamines par méthylation de l'ARN 16S. La conséquence majeure de la résistance croisée est la sélection croisée : n'importe quel antibiotique de la classe peut sélectionner des bactéries résistantes à tous les autres membres (**Courvalin, 2007**).

- **Co-résistance**

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne un large phénotype résistant de la bactérie hôte. Là encore, la conséquence de cette organisation génétique est la co-sélection. Dans ce cas, une classe d'antibiotiques à laquelle la bactérie est résistante pourra sélectionner la résistance à des classes d'antibiotiques non reliées. Ceci est par exemple le cas chez les pneumocoques (**Courvalin, 2007**).

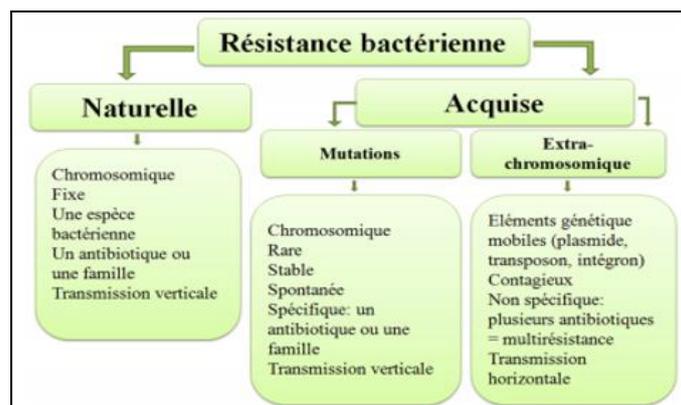


Figure 7 : Schéma illustrant les deux grands types de résistance bactérienne (khadija, 2019).

3.3 Les bactéries multi-résistantes (BMR)

Le terme « multi résistance », fait référence à une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques, et présente une résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques (Valcourt, 2016).

Le nombre d'agents pathogènes présentant une multirésistance a connu une augmentation exponentielle ces derniers temps et est considéré comme un problème important pour la santé publique. Un grand nombre de bactéries ont été signalées comme multirésistantes (MDR), et elles présentent un coût élevé de gestion, y compris les médicaments, la capacité du personnel, les matériaux d'isolement et la perte de productivité (Barros *et al.*, 2018).

❖ Quelques exemples sur bactéries multi-résistantes

a. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

S. aureus est l'une des principales bactéries responsables d'infection humaine en situation communautaire et hospitalière. La résistance à la méticilline est liée à l'acquisition d'un plasmide producteur de pénicillinase. La résistance à la méticilline est liée à l'acquisition d'un gène supplémentaire *mec* codant pour une « protéine liant la pénicilline » (PLP) additionnel dénommé PLP2a ou PLP2c en fonction du type de gène *mec*. Les PLP sont impliqués dans la biosynthèse et le remaniement du peptidoglycane. Ces fragments d'ADN, présents chez tous les SARM, varient en taille et composition (SARM) (Lina et Cattoir, 2014).

b. *Streptococcus pneumoniae*

Ce pathogène est toujours une cause importante d'infections invasives chez l'homme, surtout de pneumonie et de septicémie d'origine communautaire. La résistance à la pénicilline est basée sur des protéines de liaison à la pénicilline avec une affinité réduite qui sont codées par des gènes de mosaïque contenant des blocs de séquence acquis à partir de *S. oralis* résistant à la pénicilline (Witte *et al.*, 2008).

c. Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et les *S. aureus* résistants à la vancomycine (VRSA) expriment vanA

La résistance aux glycopeptides, y compris la vancomycine, est conférée par le gène de résistance vanA. Le gène vanA code pour la D-alanine – D lactate ligase, qui change le domaine terminal D-ala – D-ala du précurseur du peptidoglycane (qui est à la fois le substrat du domaine transpeptidase PBP et de la vancomycine) en D-ala – D-lactate. La vancomycine a une affinité 1000 fois plus faible pour le D-ala – D-lactate que le D-ala – D-ala, de sorte que le gène vanA confère une résistance à la vancomycine (Pelgrift, 2013).

d. *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Neisseria meningitidis* et *E. coli* résistantes aux sulfonamides

La résistance aux sulfonamides est conférée par l'expression de dihydroptéroate synthétase bactérienne altérée (qui est le substrat auquel les sulfonamides se lient). Les bactéries utilisant ce mécanisme de résistance comprennent *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Neisseria meningitidis* et *E. coli* (Pelgrift, 2013).

e. Entérocoques résistant aux glycopeptides (ERG)

Les entérocoques sont des bactéries commensales de la flore digestive de l'homme et des animaux sont naturellement résistants aux céphalosporines et aux sulfamides, et présentent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides. Ainsi la résistance des entérocoques aux glycopeptides est-elle due à l'acquisition d'opérons de résistance (appelés van) responsables d'une modification des cibles moléculaires. Au niveau moléculaire, la résistance aux glycopeptides est due à la fois à la production de précurseurs modifiés de faible affinité pour les glycopeptides et à l'élimination concomitante des précurseurs naturels (Lina et Cattoir, 2014).

3.4 Mécanisme général de résistance

Il existe plusieurs mécanismes de résistance, dont certains fort complexes, qui ne sont que le reflet de l'évolution et de l'adaptation du monde microbien envers les agresseurs que sont les antibiotiques (Weiss, 2002).

3.4.1 Développement d'une résistance aux médicaments

Le développement de la résistance aux médicaments se déroule en (au moins) trois étapes : acquisition par les microbes de gènes de résistance, suivie de l'expression de ces gènes de résistance, suivie de la sélection des microbes exprimant ces gènes de résistance. Premièrement, les bactéries acquièrent une résistance aux médicaments uniques et multiples par transfert horizontal de gènes par transformation, conjugaison et transduction, ou par l'acquisition des gènes de résistance par mutation spontanée de gènes existants (Pelgrift, 2013).

Deuxièmement, en réponse à l'exposition à un médicament antimicrobien, les microbes expriment le gène de résistance. Troisièmement, la résistance se généralise lorsqu'il y a sélection de microbes qui expriment des gènes de résistance contre le médicament antimicrobien (Pelgrift, 2013).

3.4.2 Diminution de l'absorption et augmentation de l'efflux de médicament de la cellule microbienne

Deux mécanismes de résistance importants sont une absorption réduite et une augmentation de l'efflux de médicament. La diminution de l'absorption de médicaments antimicrobiens et /ou l'utilisation de pompes à efflux transmembranaires empêche la concentration d'agent antimicrobien d'augmenter à des niveaux toxiques dans la cellule microbienne. Par exemple *P. aeruginosa* devient multirésistante lorsqu'une mutation se produit dans la protéine régulatrice qui réprime normalement les gènes codant pour les protéines d'efflux, entraînant une surexpression de ces protéines d'efflux (Pelgrift, 2013).

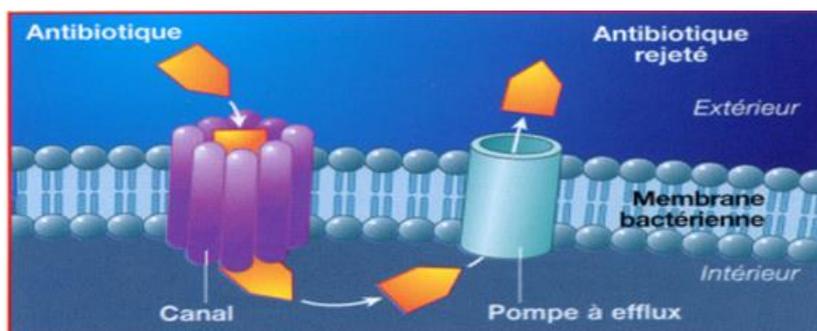


Figure 8 : Efflux actif de médicament (Archambaud, 2009).

3.4.3 Expression de gènes de résistance qui codent pour une version modifiée du substrat auquel l'agent antimicrobien se lie

Le médicament antimicrobien a généralement une affinité de liaison plus faible pour cette version modifiée que la version de type sauvage, ce qui réduit l'activité antimicrobienne. Ces types de gènes de résistance confèrent une résistance aux antibiotiques tels que les bêta-lactames, les glycopeptides (y compris la vancomycine), les sulfonamides, les quinolones, les macrolides, les aminoglycosides, les tétracyclines, le linézolide et la rifampicine (Pelgrift, 2013).

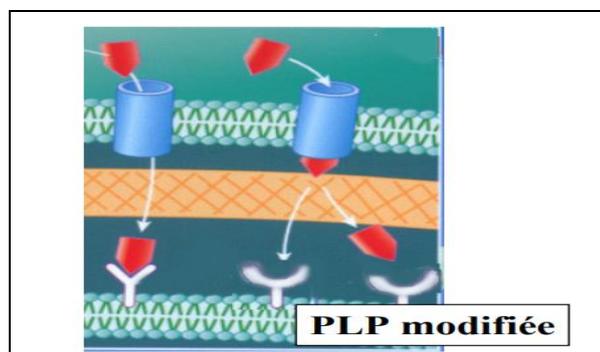


Figure 9 : une version modifiée du substrat auquel l'agent antimicrobien se lie (Archambaud, 2009).

3.4.4 Modification covalente de la molécule de médicament antimicrobien qui inactive son activité antimicrobienne

Les microbes peuvent également exprimer des gènes de résistance aux médicaments qui codent pour des enzymes qui modifient de manière covalente le médicament antimicrobien, réduisant ainsi son activité antimicrobienne. La modification covalente du médicament est utilisée comme mécanisme de résistance

contre les bêta-lactames, les aminosides, le chloramphénicol, les tétracyclines, les macrolides, les quinolones et les streptogramines (Pelgrift, 2013).

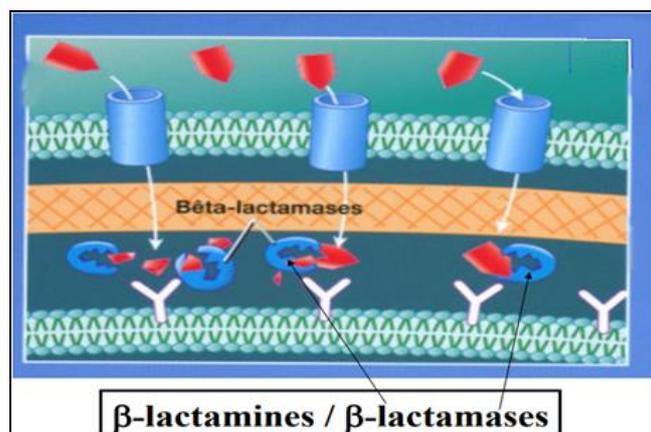


Figure 10 : Inactivation enzymatique de l'antibiotique (Archambaud, 2009).

3.4.5 Augmentation de la production d'un inhibiteur compétitif des antibiotiques

Les bactéries peuvent également atteindre une résistance aux antibiotiques en synthétisant une molécule qui est un inhibiteur compétitif de l'antibiotique (Pelgrift, 2013).

3.4.6 Biofilms

Les cellules de biofilms bactériennes activent l'expression des gènes qui provoquent la synthèse et la sécrétion d'une matrice constituée de substance polymère extracellulaire (EPS). Cette matrice EPS entourant les cellules bactériennes les protège des concentrations très élevées de nombreux agents antibiotiques différents. Par conséquent, les bactéries présentes dans les biofilms sont jusqu'à 1000 fois plus résistantes aux antibiotiques que les bactéries planctoniques (Pelgrift, 2013).

3.5 Mécanismes génétiques de résistance

Les bactéries peuvent acquérir une résistance par une mutation dans l'ADN chromosomique de l'hôte ou par l'acquisition d'un nouvel ADN, d'origine chromosomique ou extrachromosomique, qui contient des informations sur la résistance (Mcmanus, 2019).

3.5.1 Mutation

Les mutations de résistance survivent et entraînent généralement une modification de la protéine qui est moins sensible aux antimicrobiens. Elle a été bien

documentée pour certains agents, tels que les quinolones (beaucoup plus fréquemment avec l'acide nalidixique qu'avec les fluoroquinolones plus récentes), la rifampicine (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*), la streptomycine, sulfonamides et triméthoprime. Dans la plupart des cas, les bactéries devraient subir plusieurs étapes pour acquérir une résistance (Mcmanus, 2019).

3.5.2 Acquisition d'un nouvel ADN

De nouveaux gènes de résistance sont transférés entre les bactéries et peuvent être intégrés dans le chromosome bactérien et hérités de manière stable de génération en génération, ou ils peuvent être maintenus dans un état extra chromosomique sur un plasmide bactérien. La propagation de la résistance entre les genres peut se produire parmi les espèces gram-positives, telles que les *staphylocoques* et les *entérocoques*, et parmi les bactéries gram-négatives, telles que les espèces *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonas*, ou les anaérobies comme les espèces *Bacteroides* (Mcmanus, 2019).

Les espèces à Gram positif peuvent transférer la résistance aux espèces à Gram négatif, mais l'inverse est rare. De nouveaux gènes de résistance contenant de l'ADN chromosomique ou plasmidique peuvent être transférés d'une bactérie à une autre par conjugaison, transduction et transformation (Mcmanus, 2019).

3.6 Résistance bactérienne à l'argent

L'application croissante de nanomatériaux d'argent dans les pansements, les emballages et les textiles a soulevé des inquiétudes concernant le développement de la résistance bactérienne aux nanoparticules d'argent, malgré les bonnes performances des AgNPs contre une gamme de souches bactériennes, comme déjà décrit. En fait, l'un des premiers rapports sur la résistance à l'argent a été publié en 1975, lorsqu'une souche de *Salmonella typhimurium* résistante à l'argent du nitrate, du chlorure mercurique et une gamme d'antibiotiques courants ont été identifiés chez trois patients dans une unité de brûlures (Lina et Cattoir, 2014).

Des décennies plus tard, ce type de résistance exogène a été dévoilé par Gupta *et al.*, Grâce à l'isolement du plasmide pMG101. Ce plasmide a été identifié comme le porteur d'un gène de résistance à l'argent (silE), qui code pour une protéine périplasmique Ag⁺ de 143 acides aminés. En amont de silE, une série de gènes du système Sil codent pour des protéines liées à l'efflux d'argent, comme un système anti-porteur protéine / cation et une ATPase cationique de type P (Lina et Cattoir, 2014).

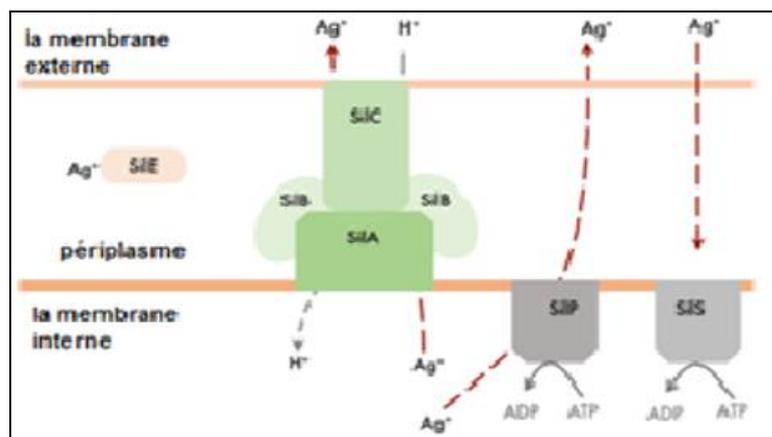


Figure11 : Système d'efflux d'argent trouvé dans les bactéries Gram négatif résistantes à l'argent. SIE est une protéine de liaison Ag⁺ riche en histidine périplasmique ; SilS appartient à un système de régulation de la transcription à deux composants (SilRS); SilA, SilB et SilC comprennent un antiporteur bactérien chimiosmotique à protons / cations (**Barros *et al.*, 2018**).

Un nouveau mécanisme par lequel les bactéries à l'origine sensibles aux NPs d'argent peuvent devenir résistantes à leurs effets toxiques après une exposition répétée à long terme à des concentrations sous-inhibitrices. Le mécanisme est basé sur la production de la flagelline, une protéine bactérienne du flagelle, qui provoque l'agrégation des NPs d'argent et supprime ainsi leur effet antibactérien contre les bactéries à Gram négatif (**Panáček *et al.*, 2018**).

Parmi les quelques bactéries résistantes au AgNPs, les mécanismes de résistance incluent des membranes cellulaires altérées qui diminuent l'absorption d'Ag et des pompes d'efflux qui pompent l'Ag hors de la cellule. De plus, lorsque l'Ag est absent, l'expression de ces gènes de résistance est perdue (**Pelgrift, 2013**).

4. La synergie AgNPs-antibiotiques

Panacek, *et al.*, (2015) ont signalé une interaction synergique entre des antibiotiques ayant différents modes d'action et les AgNPs, y compris AgNPs- β -lactamines R. **Vazquez-Muñoz *et al.*, 2019** ont montré que la souche d'E. Coli utilisée dans l'étude présentait une résistance à l'ampicilline, et cette résistance est surmontée lors de la combinaison AgNPs-ampicilline (**Muñoz *et al.*, 2019**).

La synergie entre les AgNPs et les antibiotiques a également été attribuée précédemment à la liaison chimique entre le groupe soufre des antibiotiques avec les AgNPs, mais aucune preuve expérimentale concluante n'a été fournie pour étayer cette hypothèse. Les AgNPs déstabilisent la membrane cellulaire bactérienne, favorisent l'internalisation des antibiotiques dans la cellule, Pour les antibiotiques qui

agissent à l'intérieur de la cellule, un effet synergique ou additif peut être observé car les AgNPs facilitent l'entrée des cellules antibiotiques et favorisent l'accès à leur cible (Muñoz *et al.*, 2019).

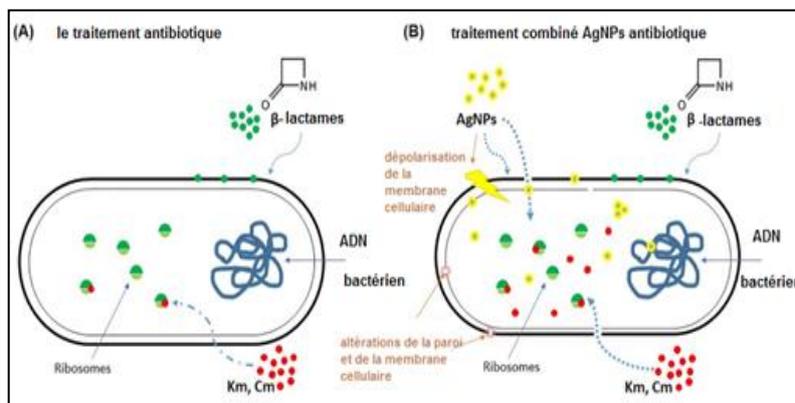


Figure12 : Modèle du mécanisme d'action du traitement combiné AgNPs-antibiotique. A) L'activité des antibiotiques β -lactamines, ainsi que la kanamycine (Km) et le chloramphénicol (Cm) sont indiqués. B) Dans les traitements combinés, les AgNPs dépolarisent la membrane cellulaire affectant la perméabilité et permettant au Km et au Cm d'atteindre les ribosomes à l'intérieur de la cellule et augmentant leur activité antibactérienne (effet synergique et additif) (Muñoz *et al.*, 2019)



Matériel et Méthode

1. Matériel utilisé

1.1 Matériel chimique

La solution de nitrate d'argent AgNO_3 que nous avons utilisé de concentration 1mM a été préparé par le personnel du laboratoire de Sonatrach Skikda le mois de Février 2020.

1.2 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans le présent travail, comporte les feuilles de plante de persil (*Petroselinum crispum*), une pomme de terre (*Solanum tuberosum*), le fruit de concombre (*Cucumis sativus*) et la levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*) qui ont été obtenus à partir du marché local de Guelma durant le mois de mars 2020.

Les souches bactériennes utilisées sont des espèces Gram négatives et Gram positives, pathogènes et multirésistantes obtenues de l'hôpital Ibn Zohr et conservées dans le laboratoire de microbiologie de l'université 8 mai 1945 Guelma.

2. Méthodes d'étude

2.1 Synthèse biologique des nanoparticules d'argent

Nous rapportons ici la synthèse verte d'AgNPs à partir d'une solution aqueuse de sels d'argent (**Kaushik et al., 2014 ; Kaushik et al., 2015**).

2.1.1. Préparation des extraits biologiques

a. Extrait des feuilles de persil *Petroselinum crispum*.

Pour préparer l'extrait, les feuilles de persil frais *Petroselinum crispum* achetées à partir du marché local (figure13), pesant 50g ont été nettoyées, coupées en petits morceaux et bouillies dans 100 ml d'eau déminéralisée pendant 15min. Après refroidissement, le mélange a été filtré pour obtenir un extrait de feuille de persil clair et pure (**Kaushik et al., 2014b**).



Figure 13 : Feuilles de persil frais (*Petroselinum crispum*).

b. Extrait de pommes de terre *Solanum tuberosum*.

Les pommes de terre *Solanum tuberosum* fraîche achetées à partir du marché local ont été nettoyés, pelés et coupés en petits morceaux et 100g ont été bouillis dans 500ml d'eau double distillée à 90°C pendant 15 min. le mélange a ensuite été refroidi et le surnageant a été filtré pour obtenir une infusion de pomme de terre (**Protocole modifié de Kaushik *et al.*, 2015a**).



Figure 14 : Pomme de terre *Solanum tuberosum*.

c. Extrait de fruit de concombre *Cucumis sativus*.

Pour la préparation de l'extrait un fruit de concombre *Cucumis sativus*, nettoyé, coupé en petits morceaux et 50g ont été moulinés à l'aide d'un moulin. Il a ensuite été filtré et centrifugé à 5000tr/min pendant 5min pour obtenir une soupe claire d'extrait (Figure 15) (**Kaushik *et al.*, 2015b**).



Figure 15 : Le filtrat de fruit de concombre avant et après la centrifugation.

d. Extrait de levure (*Saccharomyces cerevisiae*)

Ici, nous avons réussi à préparer une solution d'extrait de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) à une concentration de 1g/l c'est-à-dire 0,1g de poudre sèche a été dissoute dans 100 ml d'eau désionisée (DI) (**Kaushik et al., 2014a**).

2.1.2. Réduction des ions d'argent présent dans la solution d' AgNO_3

Pour réduire les ions Ag^+ présents dans la solution de nitrate d'argent :

une quantité égale d'extrait est ajoutée goutte à goutte à l'obscurité (chambre noire).

Les étapes de notre démarche scientifique expérimentale comme suit :

Nous avons d'abord préparé huit tubes à essai, puis on a ajouté 5ml de chaque extrait dans les quatre premiers tubes, et 5ml de la solution de nitrate d'argent (AgNO_3) dans chacun des quatre tubes qui restent (figure 16).

Ensuite, on additionne les 5 ml de chaque extrait goutte à goutte aux tubes de (AgNO_3) qui correspond, à l'aide d'une ampoule dans une chambre noire.

Puis, le mélange réactionnel a été incubé à température ambiante dont la formation d'AgNPs a été détecté visuellement par un changement progressif de la couleur du mélange.

Finalement, après quelques heures, un changement distinct de la couleur de la solution a été observé. Puis la formation d'AgNPs a été suivie progressivement par balayage du mélange sous spectrophotomètre UV-visible à intervalles réguliers (**Protocole modifié de Kaushik et al., 2014 ; Kaushik et al., 2015**).

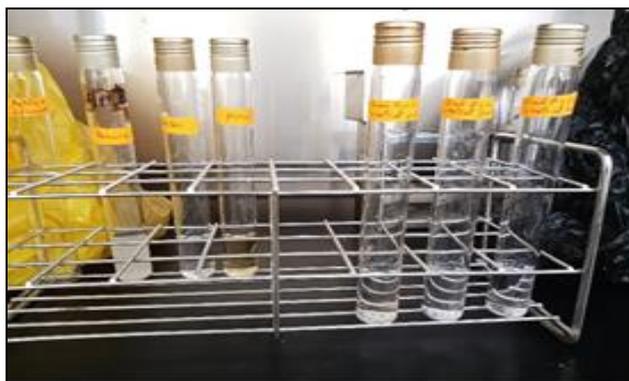


Figure 16 : Préparation des huit tubes pour la réduction des ions d'argent

2.1.3 Caractérisation des AgNPs

La bio-réduction des ions Ag^+ purs a été suivie et contrôlée par absorption à UV-visible, en scannant l'extrait brut avant l'addition des nanoparticules et après changement de couleur à T_0 et à des temps différents du mélange réactionnel dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 800 nm (**Dipankar et Murugan, 2012; Elangovan et al., 2015; Melisa et al., 2016; Muthuraman et al., 2018**), avec une cuvette de quartz de longueur de trajet de 1 cm (**Soshnikova et al., 2017**).

2.2 Etude Bactériologique

➤ Identification phénotypique des souches bactériennes

L'identification des caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques proposés d'une part par la 8^{ème} édition du Manuel de Bergey et par le Manuel des Techniques Bactériologiques de Buttiaux, Beerens et Taquet (**Millier et Veillet, 1979**)

En vue de faciliter l'identification de bactéries conservées dans le laboratoire de microbiologie collectées de travaux de PFE antérieurs sont :

- la coloration de Gram, modifiée par Burke-Kopelov, permet de séparer les bactéries Gram positives des bactéries Gram négatives.
- l'observation microscopique du corps bactérien nous renseigne sur la morphologie.
- la recherche de la catalase.
- la mise en évidence d'une oxydase (méthode de Kovacs, 1956).

Avant de procéder à toute identification, les souches sont repiquées sur milieu gélosé (**Millier et Veillet, 1979**).

a. Repiquage des souches bactériennes

Le repiquage des espèces bactériennes consiste à une revivification des cellules préalablement conservées à 4°C. Cette méthode consiste à incuber les bactéries dans un bouillon nutritif à l'étuve à 37 °C pendant 18h à 24 heures (**Moroh et al., 2008**).

Après 24 heures d'incubation, les différentes souches revivifiées ont été ensemencée sur gélose nutritive, par la méthode des stries, puis incubées dans l'étuve à 37° C pendant 18h à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies bien isolées servant à préparer d'éventuels inoculum bactériens (**Moroh et al., 2008**).

Les cultures en milieu solide sont utilisées essentiellement pour l'isolement de colonies (**Auriol, 2011**), Alors les milieux spécifiques utilisés à cet effet sont :

- Gélose Mac conkey : pour l'isolement des souches *Escherichia coli*.
- Gélose Chapman : pour les souches *Staphylococcus aureus*.

Après l'obtention de la souche bactérienne pure à étudier, nous avons procédé à son identification selon son aspect macroscopique et microscopique (**Auriol, 2011**).

b. Identification des germes isolés

• Examen macroscopique des caractères cultureux

La taille, la forme, la couleur, l'opacité, la surface, la consistance, l'odeur, et évidemment tout changement produit à la surface du milieu solide, sont les caractères fréquemment utilisés pour caractériser macroscopiquement une colonie bactérienne (amas de cellules) (**Ouattara et al., 2013**).

• Caractères morphologiques et structuraux

Application 1 : la coloration de Gram

- Étaler aseptiquement la suspension bactérienne sur 2 cm² environ d'une lame propre, sèche et stérile.

- Fixer de la suspension par passage au-dessus de la flamme du bec Mecker (pendant quelques minutes).

- Placer la lame sur le bac de coloration.

- Inonder le frottis par le violet de gentiane (1 min).

- Laver avec de l'eau distillée stérile.

- Additionner lugol (1 min).

- Laver avec de l'eau.
- Décolorer pendant 15 secondes par de l'éthanol à 95°.
- Inonder par la fuschine de Ziehl diluée au 15ième pendant (1 min).
- Laver avec de l'eau.
- Sécher la lame avec du papier absorbant et examiner au grandissement x100

(Ouattara *et al.*, 2013).

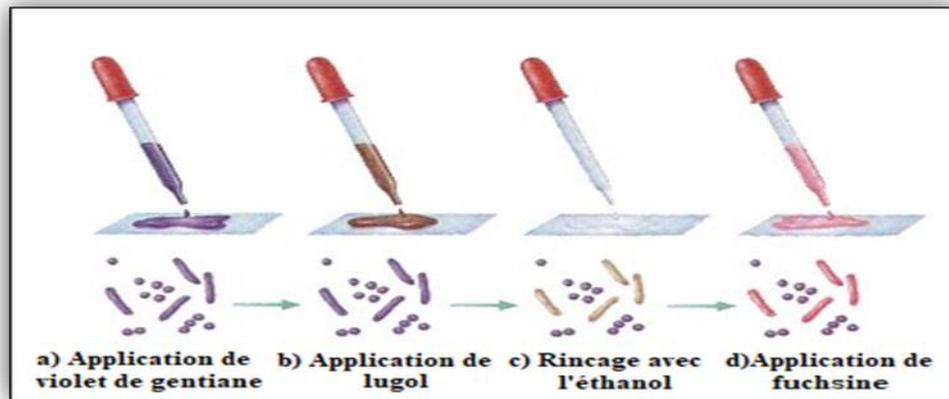


Figure 17 : Coloration de Gram [1].

- **Caractères biochimiques et physiologiques (Enzymes respiratoire)**
 - ✓ **Catalase** : Une enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène (un dégagement de bulles d'air, instantanément, indique sa présence). La catalase est un test clé communément utilisé pour l'identification des bactéries à Gram+ (Ouattara *et al.*, 2013).
 - ✓ **Cytochrome oxydase** : La dernière enzyme de la chaîne respiratoire, elle catalyse le transfert de l' H_2 sur l' O_2 , elle est mise en évidence par la réaction d'oxydation de l'oxalate de diméthyle-paraphénylène-diamine, ce substrat est incolore sous forme réduite est rouge sous forme oxydée. Inversement à son précédent, l'oxydase est un test clé communément utilisé pour l'identification des bactéries à Gram- (Ouattara *et al.*, 2013).

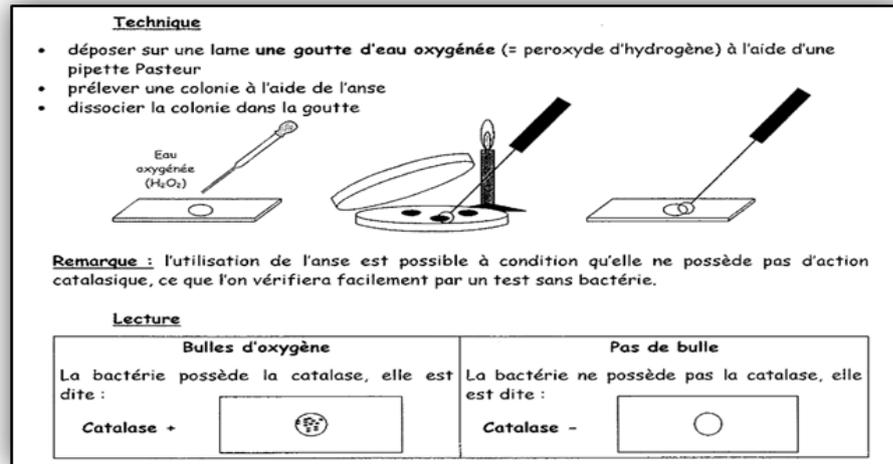


Figure 18 : Technique du test catalase [2].

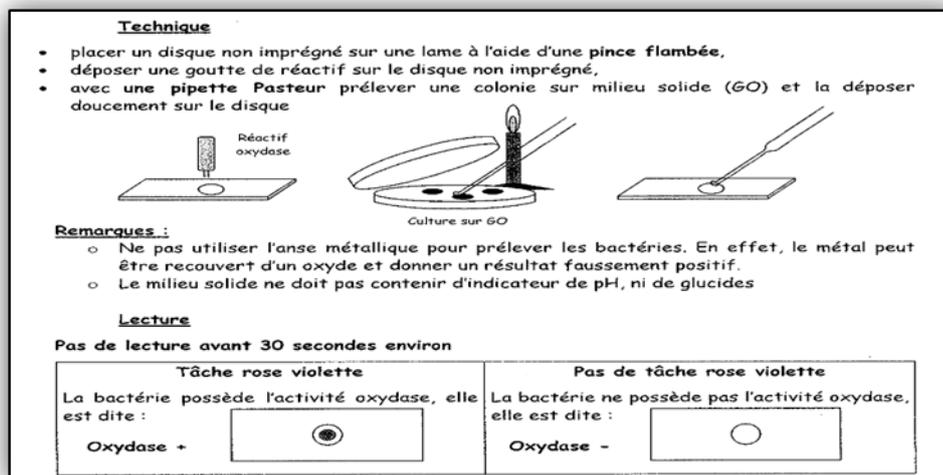


Figure 19 : Technique du test oxydase [2].

c. Préparation et standardisation de l'inoculum

Les colonies qui ont été isolées à partir des cultures jeunes sur milieu gélose nutritive (Fluka, Inde) incubées à 37°C pendant 24 heures sont transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile (0,9% NaCl), afin de préparer des suspensions bactériennes ayant une turbidité équivalente à 0,5 McFarlane (Benyagoub *et al.*, 2014). C'est-à-dire ($\approx 1 \times 10^8$ CFU/ml) (Esmail *et al.*, 2014). Équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.13 à une longueur d'onde de 625 nm (Khrbich *et al.*, 2017).



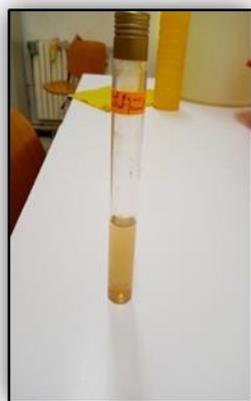
Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Virage de couleur des mélanges

1.1.1 Mélange 1 (Extrait de persil + AgNO₃)

La couleur de la solution a changé distinctement du jaune clair au brun foncé après 28h d'ajout d'extrait de de feuilles de persil (*Petroselinum crispum*) suggérant la formation d'AgNPs (**Kaushik et al., 2014b**).



Le mélange à 0h.

Après 2h 37 min.

Après 28h 25 min.

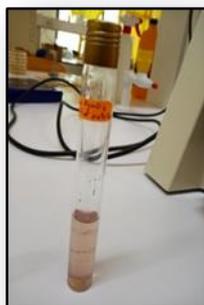
Figure 20 : Image représente le virage de couleur du mélange 1.

1.1.2 Mélange 2 (Extrait de pomme de terre + AgNO₃)

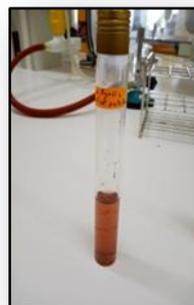
Lorsque l'infusion de pomme de terre *Solanum tuberosum* a été ajoutée à la solution aqueuse de nitrate d'argent, la solution est initialement restée incolore. Mais après quelques minutes, la couleur du mélange a commencé à virer au jaune foncé indiquant la réduction des cations d'argent et la formations d'AgNPs dans la solution. La couleur de la solution s'est intensifiée en brun foncé après 28h comme indiqué sur les figures (**Kaushik et al., 2015a**).



Le mélange à 0h.



Après 2h 25 min.



Après 28h 13 min.

Figure 21 : Image représente le virage de couleur du mélange 2.

1.1.3 Mélange 3 (Extrait de concombre + AgNO₃)

Après quelques heures d'addition d'extrait de fruit de concombre *Cucumis sativus*, le mélange réactif est devenu brun clair à partir d'une solution incolore suggérant la formation d'AgNPs dans le mélange. La couleur s'intensifie avec le temps de réaction et devient brun foncé après 18h. (Kaushik *et al.*, 2015b).



Le mélange à 0h.



Après 18h 30 min.

Figure 22 : Image représente le virage de couleur du mélange 3.

1.1.4 Mélange 4 (Extrait de levure + AgNO₃)

Après quelques heures d'ajout d'extrait de levure *Saccharomyces cerevisiae* à la solution d'AgNO₃, la couleur de la solution a commencé à passer de l'incolore au jaune claire indiquant une légère formation de nanoparticules d'argent dans le mélange après 28h comme indiqué sur la figure (Kaushik *et al.*, 2014a).



Le mélange à 0h.



Après 28h 30 min.

Figure 23 : Image représente le virage de couleur du mélange 4.

La graduation de la couleur obtenue, laisse penser qu'il existe bien une réaction entre les deux réactifs, dont la cinétique est probablement lente, car les mélange ne présentent qu'une couleur nuancée par rapport à celle observée avant le traitement. Ce point sera discuté ultérieurement.

Par ailleurs, ce constat visuel n'a de valeur que s'il est conforté par des résultats faisant appel à des techniques expérimentales dont nous allons faire appel lors des parties suivantes.

1.2 Caractérisations par UV-visible

Les résultats présentés dans le tableau 2 sont les résultats préliminaires d'un seul pilote et d'une seule mesure de caractérisation par UV-visible à λ , cette mesure et ces résultats ne peuvent en aucun cas être interprétés parce que cela nécessite d'autres mesures et analyses interrompues malheureusement par le confinement et l'arrêt de la pratique suite à la pandémie de corona virus.

Tableau 2 : Caractérisation par UV des préparations préparées.

Les dosages effectués	Absorbance (DO) (à 600 nm)
Mélange 1 (Extrait de persil + AgNO ₃)	1,595
Mélange 2 (Extrait de pomme de terre + AgNO ₃)	1,206
Mélange 4 (Extrait de levure + AgNO ₃)	-0,456

2. Discussion

Les personnes infectées par des micro-organismes résistants aux médicaments passent généralement plus de temps à l'hôpital et nécessitent un traitement qui utilise deux ou trois antibiotiques différents et qui est moins efficace, plus toxique et plus coûteux ce qui entraînent une augmentation significative de la mortalité et de la morbidité (**Humberto et al., 2010**). Par conséquent, le développement de nouvelles formules antimicrobiennes ou la modification de celles déjà disponibles afin d'améliorer leur activité antibactérienne pour la thérapie, l'asepsie ou la désinfection est un domaine de recherche hautement prioritaire (**Viorica et al., 2016**).

L'argent est un élément basique, rare et naturel, légèrement plus dur que l'or, très ductile et malléable, ayant la conductivité électrique et thermique la plus élevée avec une résistance de contact minimale dans tous les métaux (**Rai et al., 2012**). Ainsi il a une plus faible propension à induire une résistance microbienne que de nombreux autres matériaux antimicrobiens (**Li et al., 2011**). Les différentes formes d'argent, à savoir, le sel d'argent, l'acétate d'argent, le nitrate d'argent et la sulfadiazine d'argent, sont utilisées pour l'inhibition microbienne (**Rajput et al., 2018**). Depuis longtemps, ils agissent comme agent antifongique et antiviral (**Li et al., 2011**), car tout en étant très toxiques envers les microorganismes, ils sont beaucoup moins toxiques pour l'homme (**Li et al., 2011 ; Renata et al., 2012; Boenigk et al., 2014**), mais avec l'avènement des progrès des antibiotiques, les applications médicales de l'argent ont été déclinées (**Rai et al., 2012**).

Pour atteindre l'objectif de notre travail de recherche assigné on a rapporté une synthèse simple et rapide des AgNPs. En se basant sur quatre modèles biologiques « Les feuilles de plante de persil (*Petroselinum crispum*), la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), le fruit de concombre (*Cucumis sativus*) et la poudre de levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*) mélangées avec la solution de nitrate d'argent (AgNO_3) ce qui a été aussi rapporté dans le travail de **Bezza et al., 2020**, où la synthèse verte de nanoparticules d'argent est basée sur l'utilisation de nombreux extraits de plantes comme agents réducteurs et stabilisants en l'absence de surfactant dangereux.

De prime abord, les résultats primaires montrent un virage de couleur vers le marron dans tous les essais, mais malheureusement on n'a pas pu poursuivre les étapes d'identification des AgNPs biogènes, de caractérisation UV-visible et d'application et de vérification de l'effet biocide sur des bactéries multirésistantes en

raison du confinement qui était appliqué pour minimiser la propagation du virus de corona (COVID-19).

Ces observations laissent déjà penser d'où provient ces changements de couleurs et pour y répondre on s'est référé à la littérature.

La formation des AgNPs à température ambiante a été détectée visuellement par un changement progressif de la couleur des différents mélanges préparés :

- Dans le cas des préparations à partir du matériel végétal utilisé :

1. Extrait de persil *Petroselinum crispum* + AgNO₃, la raison pour laquelle il aura virage de couleur est due à la teneur élevée en acide ascorbique (vitamine C) dans les feuilles de persil *Petroselinum crispum* qui peut jouer un rôle vital en tant qu'agent réducteur puissant dans cette réaction, ce qui a réduit les cations d'argent présent dans la solution de nitrate d'argent lors de l'interaction et qui provoque par conséquent la formation des AgNPs (**Kaushik et al., 2014b**).

2. Extrait de pomme de terre *Solanum tuberosum* + AgNO₃, La pomme de terre est l'une des principales cultures vivrières du monde, dont la partie comestible est son tubercule souterrain. Cette tige souterraine ou tubercule est une riche source de substances bioactives comme les acides aminés, les protéines, la thiamine et l'acide ascorbique. Par conséquent, l'infusion de tubercule de pomme de terre semblait être un bon choix pour la préparation de nanoparticules d'argent à partir d'une solution de nitrate d'argent. Ce qui favorise le changement de couleur observé du mélange qui est dû à la résonance plasmonique de surface des AgNPs (**Kaushik et al., 2015a**).

3. Extrait de concombre *Cucumis sativus* + AgNO₃, il a été constaté que les extraits de feuilles étaient largement utilisés car ils sont une source potentielle d'agents réducteurs qui peuvent réduire et stabiliser les particules colloïdales lors de l'interaction avec les ions métalliques. Cependant, l'extrait de fruit peut être très bien servir cet objectif car il contient également des agents réducteurs et coiffants puissants ce qui explique le changement de couleur du mélange. A titre d'exemple le fruit de concombre *Cucumis sativus* contient des biomolécules organiques censées être des agents réducteurs et coiffants efficaces pour la synthèse de NPs (**Kaushik et al., 2015b**).

Les recherches avancées sur les extraits de feuilles de plantes du *Chenopodium album*, *Acalypha indica*, *Garcinia mangostana*, *Myrica esculent*, *Capsicum annuum*, *Geranium sp.*, *Diopyros kaki*, *Magnolia kobus*, *Coriandrum sp* qui ont été efficacement utilisés pour la synthèse des AgNPs et analysés pour leurs

activités antimicrobienne contre divers organismes pathogènes à partir d'extrait de feuilles *Paederia foetida L.* qui ont été testées par la suite sur l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque contre les bactéries pathogènes *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Vibrio cholera*, *Pseudomonas* et *E.coli*, la ciprofloxacine a été utilisée comme agent antimicrobien de référence, les diamètres des zones d'inhibition autour des disque contenant les AgNPs biosynthétisées sont respectivement 14mm, 26mm, 12mm, 24mm, et 16mm comparés aux diamètres de l'antibiotique 09mm, 20mm, 21mm, 19mm et 11mm pour les souches bactériennes testées. De plus, l'effet combiné de ces AgNPs avec l'antibiotique ciprofloxacine montrait une activité antibactérienne plus élevée (synergie) (Mathavaraj *et al.*, 2013).

Pour mieux comprendre l'explication de ces résultats ont fait appel à d'autres travaux. Selon Yogeswari *et al.*, 2012, une réduction de l'ion argent en particules d'argent lors de l'exposition aux extraits végétaux a été observée à la suite du changement de couleur. La nanoparticule d'argent présente une couleur brun jaunâtre foncé dans la solution aqueuse en raison du phénomène de résonance plasmonique de surface, qui permet de compléter l'idée de Xia *et al.*, 2016, Les constituants végétaux pourraient agir comme agents chélateurs /réducteurs ou de coiffage pour la synthèse des AgNPs. Sans oublier que divers facteurs, y compris la concentration d'extraits de plantes et d'Ag⁺, la température et le temps d'exposition pourraient affecter la biosynthèse des AgNPs. Ils ont aussi rapporté que la taille moyenne des AgNPs diminuait à mesure que le pH du système réactionnel augmentait de 6 à 10.5.

De plus, L'analyse FTIR a confirmé que la bio réduction des ions Ag⁺ en nanoparticule d'argent est due à la réduction par agent de coiffage de l'extrait végétal (Geethalakshmi et Sarada, 2010). A partir de données publiées, il est connu que les NPs présentent une couleur brune en solution aqueuse en raison de l'excitation des vibrations de plasmon de surface dans les AgNPs (Geethalakshmi et Sarada 2010; Ray *et al.*, 2011).

- En ce qui est du cas de la préparation à partir de champignons : Extrait de levure *Saccharomyces cerevisiae* +AgNO₃.

Vue la richesse de la poudre de l'extrait de levure en molécules organiques fonctionnelles, elle a la capacité de réduire les cations d'argent dans la solution de réaction et de stabiliser les particules colloïdales dans le milieu ce qui permet l'apparition de résultat positif qui peut être attribué à la résonance plasmonique de

surface (**Kaushik et al., 2014a**). La bio production verte des AgNPs à partir du filtrat de cellules sans mycélium *Tricholoma crassum* en utilisant 1mM AgNO₃. Cette méthode entraine la formation de NPs sphériques monos dispersés de la gamme de taille 5-50 nm. Ces NPs se sont avérées avoir un effet antimicrobien puissant contre le pathogène humain *E.coli* (souche DH5α) et les agents pathogènes des plantes comme l'agro bactérie phyto pathogène *Agrobacterium tumifaciens* (souche LBA4404) et du champignon phyto pathogène *Magnaporthe oryzae*. Il est également très efficace contre les bactéries pathogènes multirésistantes *E. coli* et *A. tumifaciens*. Ainsi ces NPs peuvent être utilisées aussi bien par l'industrie médicale que pour la lutte contre les maladies des plantes sur le terrain (**Ray et al., 2011**).

En outre, l'attrait de l'utilisation des champignons pour produire des NPs est dû à la présence de quantités importantes d'enzymes spécifiques pour la production extracellulaire de NPs avec des dimensions comprises entre 5 et 60 nm. La synthèse extracellulaire présente des avantages plus pratique par rapport à la synthèse intracellulaire (en raison du nombre d'étapes de purification moins nombreux) (**Hamidi et al., 2014**). Il faut noter aussi que les champignons filamenteux sont faciles à manipuler, nécessitant des matières premières simples et ont une grande capacité de liaison aux parois (**Ray et al., 2011**).

Par comparaison à la synthèse à partir des bactéries, des études ont été menés pour explorer la capacité des bactéries comme *Pseudomonas stutzeri* AG259 à produire des nanoparticules d'argent. Les bactéries montraient une capacité remarquable à survivre dans un environnement extrêmement riche en nanoparticules d'argent, par l'accumulation de ces AgNPs en grandes quantités dans l'espace péri plasmique (**Bammou et al., 2014; Muhammad et al., 2016 ; Chauvel, 2018**). Il est nécessaire de souligner que les bactéries continuent à croître après la formation des AgNPs, mais le principal inconvénient c'est le taux de synthèse qui est lent avec un nombre limité de tailles et de formes obtenues (**Muhammad et al., 2016**). Une synergie a été également observée suite à l'effet de la combinaison des AgNPs biosynthétisés à partir de bactérie *Klebsiella pneumoniae* et les antibiotiques, la pénicilline G, l'amoxicilline, l'érythromycine, la clindamycine et la vancomycine contre *Staph. Aureus* et *E.coli* (**Rai et al., 2012**).

Il a été prouvé que les AgNPs ont promu l'utilisation de l'argent dans divers domaines comme la médecine, la biotechnologie, l'imagerie biologique et l'administration de médicaments (**Kubavat et al., 2019**).

Ces données laissent déjà penser d'où provient la capacité des AgNPs biogènes à exercer une activité bactéricide efficace contre un large spectre des bactéries pathogènes voire les bactéries multirésistantes. Par conséquent divers mécanismes ont été proposés ce qui ouvre la porte vers un domaine largement discuté en nanotechnologie car selon **Mathavaraj et al., 2013**, on en sait peu sur son mode de toxicité. Par conséquent un large rapport de recherche était disponible pour l'utilisation des AgNPs comme agent antimicrobien contre les souches Gram positives, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et les souches Gram négatives *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*.

La nature physicochimique (revêtement de surface, agents réducteurs-stabilisants, forme, taille, morphologie de surface) peut influencer l'activité antibactérienne. Habituellement, lorsque la taille des AgNPs diminue, le rapport surface /volume augmente et, par la suite, l'effet antimicrobien augmente. Les NPs de forme triangulaire présentent le plus fort effet antibactérien (**Hamidi et al., 2014 ; Mohamed et al., 2019**). Il a été constaté que les NPs triangulaires sont plus actives que formes sphériques, qui sont à nouveau plus actives que les Nps en forme de bâtonnet contre *E. coli* (**Rai et al., 2012**). Les AgNPs en raison de leur taille minuscule possèdent un grand rapport surface / volume et présentent ainsi une vitesse de réaction élevée qui aide à établir un meilleur contact avec les micro-organismes et améliore ainsi leur propriété antimicrobienne, ce qui en fait un puissant agent antimicrobien à large spectre (**Rajput et al., 2018**).

Des études ont rapporté que les souches à Gram négatif étaient plus sensibles aux AgNPs que les souches à Gram positif en raison de leur différence sur la structure de la membrane (**Xia et al., 2016**). Il a été constaté que les AgNPs pouvaient améliorer la fuite de protéines en augmentant les perméabilités membranaires des cellules *S. aureus* et *E. coli*. Notamment, des quantités plus élevées de protéines ont fui à travers les membranes d'*E. coli* par rapport à celle des membranes du *S. aureus* (**Lee et al., 2011**).

Récemment, le développement de la résistance bactérienne aux AgNPs a été établi dans *E. coli* et *P. aeruginosa* par la production de la protéine flagellaire adhésive « flagelline » provoquant l'agrégation des Nps et affectant négativement la stabilité colloïdale. L'activité antifongique des AgNps a été documenté dans la littérature (**Mohamed et al., 2019**).

Les méthodes biologiques semblent fournir une taille, une forme et une dispersion contrôlées des particules, ce qui est un facteur important pour diverses applications biomédicales. Les autres avantages des méthodes biologiques sont la disponibilité d'une vaste gamme de ressources biologiques, une diminution du temps requis, une densité élevée, la stabilité et la solubilité immédiate des nanoparticules préparées dans l'eau (**Zhang *et al.*, 2016**). Ainsi que leur utilisation dans les recherches *in vivo* de la culture cellulaire aussi bien sur l'homme ouvre la voie vers une application médicale des nanoparticules biosynthétisées en particulier les AgNPs. En outre, Les nanoparticules d'argent biogéniques sont généralement moins cyto/génotoxiques *in vivo* que les NPs synthétisées chimiquement (**Renata *et al.*, 2012**).



Conclusion générale

Ces dernières années, on s'intéresse de plus en plus à l'étude des nouvelles nanoparticules métalliques. En particulier, Les nanoparticules d'argent qui ont des propriétés physico-chimiques distinctives, notamment une haute conductivité thermique, stabilité chimique, activité catalytique et comportement optique non linéaire. Ces propriétés leur confèrent une valeur potentielle dans les encres, la microélectronique et l'imagerie médicale et produisent diverses sources possédant une activité antibactérienne.

Ils ont été produits par différentes voies de synthèse. Cependant, certains d'entre eux semblent ne pas être concernés par les problèmes environnementaux concernant l'effet délétère potentiel de certains de leurs constituants, tout en présentant des niveaux élevés de toxicité; cela nécessite le développement de nanoparticules utilisant des matériaux biocompatibles et biodégradables, ce qui est le but de la «synthèse verte».et une grande attention a été accordée à la production à haut rendement d'AgNPs de taille définie en utilisant divers systèmes biologiques.

La synthèse biologique des AgNPs à partir de matériaux biocompatibles et biodégradables, comprend des bactéries, des champignons, des levures, des actinomycètes et des extraits de plantes. Récemment, un certain nombre de parties de plantes telles que les fleurs, les feuilles et les fruits, outre les enzymes, ont été utilisées pour la synthèse des AgNPs , ce qui rend cette synthèse populaire en raison de sa nature relativement polyvalente où les extraits de métabolites secondaires collectés à partir des sources biologiques contiennent de nombreuses biomolécules telles que des enzymes, des protéines, des flavonoïdes, des stérols, des triterpènes, des triterpénoïdes et des saponines qu'ils ont des propriétés réductrices et antioxydants responsables de la réduction des composés métalliques dans leurs nanoparticules respectives.

Donc Notre objectif était de synthétiser des nanoparticules d'argent par une procédure simple et respectueuse de l'environnement à faible coût, reproductible évolutive et économique contrairement aux méthodes chimiques. Nous avons testé de nombreux modèles biologiques tels que les feuilles de plante de persil (*Petroselinum crispum*), la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), le fruit de concombre (*Cucumis sativus*) et la levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*), dont l'extrait pourrait

agir comme un agent réducteur pour synthétiser des nanoparticules d'Ag à partir d'une solution aqueuse de nitrate d'argent.

Au terme de ce mémoire, le but que nous nous sommes fixés, à savoir la biosynthèse des nanoparticules d'argent, est atteint.

Et comme perspectives nous proposons ce qui suit :

- ✓ Il sera alors intéressant de tester l'effet sur des souches bactériennes à Gram+ et Gram- pour confirmer cette conclusion.
- ✓ Evaluer les paramètres cinétiques de formation des nanoparticules
- ✓ Caractériser les nanoparticules formées.

- 1- **Adnan M., Obyedul M.K., Alle M., et al., (2020).** Simple and cleaner system of silver nanoparticles synthesis using kenaf seed and unveiling their anticancer and antimicrobial potentials. Journal Nanotechnology in press. doi.org/10.1088/1361-6528/ab7d72
- 2- **Aiswarya D., Raja R.K., Kamaraj C., et al., (2019).** Biosynthesis of Gold and Silver Nanoparticles from the Symbiotic Bacterium, *Photobacterium luminescens* of Entomopathogenic Nematode: Larvicidal Properties Against Three Mosquitoes and *Galleria mellonella* Larvae. Journal of Cluster Science.; 30(3) : 1040-7278. doi : 10.1007/s10876-019-01564-1 16.
- 3- **Andrieux - Ledier A., (2012).** Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques. Thèse de doctorat en Chimie-physique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, France, 165p.
- 4- **Angélique S.D., Audureau E., Franco M., et al., (2018).** Substantial modification of the gene expression profile following exposure of macrophages to welding-related nanoparticles. J Sci Rep.; 4 ;8(1) :8554. doi: 10.1038/s41598-018-26988-z.
- 5- **Archambaud M., (2009).** L'action des antibiotiques. Étude Bactériologique-Hygiène CHU Rangueil Toulouse.
- 6- **Auriol C., (2011).** Compréhension globale de l'évolution in vivo d'*Escherichia coli* lors de cultures sous contraintes de rapports NADPH/NADP+ artificiellement élevés. Thèse de doctorat en microbiologie et Biocatalyse Industrielles. L'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 255p.
- 7- **Bammou M., Sellam K., Lhoussain R., et al., (2014).** Activité antibactérienne (in vitro) de l'extrait aqueux des feuilles d'*Anvillea radiata* sur des bactéries multirésistantes à des antibiotiques. Journal Science Lib Editions Mersenne. ; 6(140503) : 2111-4706.

- 8- **Barros C., Stephanie F., Danijela S., et al., (2018).** Biogenic Nanosilver against Multidrug-Resistant Bacteria (MDRB). *J Antibiotics.* ; 7 (3) : 69.doi.org/10.3390/antibiotics7030069.
- 9- **Belfennache D., (2010).** Elaboration et étude de nanoparticules Au/TiO₂ et Ag/TiO₂. Thèse de doctorat en physique. Faculté des sciences exactes université Mentouri Constantine, 94p.
- 10- **Benyagoub E., Nabbo N., Sirat M., et al., (2014).** Antibacterial and phytochemical constituents of lavender extracts from the region of Tlemcen and their effect on some bacterial species responsible for food poisoning. *Revue des BioRessources.* ; 4 (2) ; 18-28.
- 11- **Bezza F., Shepherd A., Tichapondwa M., et al., (2020).** Synthesis of Biosurfactant Stabilized Silver Nanoparticles, Characterization and Their Potential Application for Bactericidal Purposes ». *Journal of Hazardous Materials.* ; 393 : 122319. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122319.
- 12- **Boenigk J., Daniela B., Sonja Z., et al., (2014).** Effects of Silver Nitrate and Silver Nanoparticles on a Planktonic Community : General Trends after Short-Term Exposure. *J PLoS ONE* 9(4) : e95340. [doi: 10.1371/journal.pone.0095340](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095340).
- 13- **Carolina D.S., Marcelo S., Avinach P., et al., (2014).** Silver Nanoparticles: Therapeutic Uses, Toxicity, and Safety Issues. *Journal of pharmaceutical sciences.* doi.org/10.1002/jps.24001.
- 14- **Chauvel R., (2018).** Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie université Claude Bernard Lyon 1, 105p.
- 15- **Chengzhu L., Li Y., Tjong S.C., (2019).** Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* ; 20 ; 449 ; [doi :10.3390/ijms20020449](https://doi.org/10.3390/ijms20020449).
- 16- **Chuto G., Chaumet-Riffaud P., (2010).** Les nanoparticules. *J Médecine Nucléaire.* ; 34 : 370–376.

- 17-Courvalin p., (2007).** La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaison de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Acad. Vét. France - Tome. ;161(1) :6.
- 18-Debnath P., (2018).** Cytogenetic Effects of Silver and Gold Nanoparticles on Allium Cepa Roots. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. ; 16 (6) : 519–526.
- 19-Dipankar C., Murugan S., (2012).** The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from Iresine herbstii leaf aqueous extracts. J Colloids and Surfaces B : Biointerfaces., 98 ; 112– 119.
- 20-Djearamane S., Ling S.W., Lim Y., et al., (2016).** A Review on Bio-Distribution and Toxicity of Silver, Titanium Dioxide a,d Zinc Oxide Nanopartclis in Aquatic Environment. J Poll Res. ; 35 (4): 701-712 ; 0257– 8050.
- 21-Elangovan K., Elumalai D., Anupriya S., et al., (2015).** Phyto mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of Andrographis echiodes and its bio-efficacy on anticancer and antibacterial activities. Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology. ; S1011-1344(15) 00172-4.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.
- 22-Elham A., Milani M., Fikri A., et al., 2016.** Silver nanoparticles: Synthesis methods, bioapplications and properties. J Critical Reviews in Microbiology. ; 42 :2, 173-180, DOI : 10.3109/1040841X.2014.912200.
- 23-Esmail A., Chahboun N., Abed H., et al., (2014).** Isolement, identification et détermination du profil phénotypique des bactéries bacilles gram négatifs, isolées à partir des eaux collectées de bains maures «Hammam». International Journal of Innovation and Applied Studies. ; 2028-9324 ; 9 (2) : 777-785.
- 24-Geethalakshmi R., et Sarada D., (2010).**Synthesis of Plant-Mediated Silver Nanoparticles Using Trianthema Decandra Extract and Evaluation of Their

- Anti Microbial Activities. International Journal of Engineering Science and Technology. ; 2(5): 970-975.
- 25-Gest H., (2004).** The Discovery of Microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek. Journal of The Royal Society. ; 58 (2) : 187–201. Doi 10.1098/rsnr.2004.0055187.
- 26-Hajar H., (2017).** La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes et détection au laboratoire. Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine sidi Mohamed ben Abdellah maroc, 149p.
- 27-Hamidi M., Hamed M., Nader H., (2014).** Bioproduction of nanoparticles by microorganismes and their applications. DAMA International journal. ; 3(1) : 2319–5037 ; 2319–4731.
- 28-Humberto H., Nilda N., Ayala D., et al., (2010).** Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. World J Microbiol Biotechnol. ; 26 :615–621.doi.10.1007/s11274-009-0211-3.
- 29-Jian L., Roger L., Turnidje J., (2006).** Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis ; 6 : 589–601.
- 30-John L., Debbie S., Jon J., et al., (1981).** Antibiotic-Resistant Bacteria in Drinking Water. Applied and environmental microbiology journal.42(2) : 277-283 ; 0099-2240.
- 31-Kaushik R., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2014) a.** Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract. Appl nanosci.doi.org/10.1007/s13204-014-0393-3.
- 32-Kaushik R., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2014) b.** Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using parsley (*Petroselinum crispum*) leaf extract: spectral analysis of the particles and antibacterial study. Appl nanosci.doi.org/10.1007/s13204-014-0393-3.
- 33-Kaushik R., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2015) a.** Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using potato (*Solanum tuberosum*)

- infusion. *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy* ; S1386-1425(15)00222 doi.org/10.1016/j.saa.2015.02.058
- 34-Kaushik R., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2015) b.** Single-step novel biosynthesis of silver nanoparticles using cucumis sativus fruit extract and study of its photocatalytic and antibacterial. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures.* ;10(1) : 107 – 115.
- 35-Keerawelle B., Chamara A., (2019).** Green Synthesis of Silver Nanoparticles via Medicinal Plant Extracts and Their Antibacterial Activities. *World Journal of Pharmaceutical Research.* ; 8 (7) : 100-111 ; 2277– 7105.
- 36-Keywan M., Najaf M., Samadian H., et al., (2019).** Redox interactions and genotoxicity of metal-based nanoparticles: A comprehensive review. *Journal of Chemico-Biological Interactions.* ; 312. doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108814.
- 37-Khadija M., (2019).** Strategie actuelle de lutter contre l’antibiorésistance. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat Maroc,194p.
- 38-Khan I., Saeed K., Idrees K., (2019).** Nanoparticles: Properties, Applications and Toxicities. *Arabian Journal of Chemistry* .; 12 : 908–93.
- 39-Khrbich G., Nassik S., El Houadfi M., et al., (2017).** Activité antibactérienne de l’huile essentielle d’origan et du carvacrol sur des souches d’Escherichia coli d’origine aviaire. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* ; 6 (3) : 300-307.
- 40-Kubavat K., Pooja K., Trivedi G., (2019).** Green Molecule Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles: Antioxidant, Antibacterial, Cytotoxic and DNA Interaction Study. *Chemistry & Biology Interface.* ; 9(5) : 234-243.
- 41-Lee H.S., Deok R., Soo C., et al., (2011).** Antibacterial Activity of Silver-Nanoparticles Against Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli. ; *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* ; 39(1), 77–85.

- 42-Li W., Xiao-Bao X., Qing-Shan S., (2011).** Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *J Biometals.* ; 24 :135–141 DOI 10.1007/s10534-010-9381-6.
- 43-Lina G., Vincent C., (2014).** Gram positive multi-drug resistance: what probability and fear. *Bull. Acad. Natle Méd.,* 198(3) : 427-438.
- 44-Lozniewski A., Rabaud C., et al., (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins, 4p.
- 45-Lucie B., (2018).** Apprivoisement de l’hôte et domestication de sa flore commensale : antibiorésistance des *E. coli* isolé des fèces des animaux sauvage captifs et non captifs. Thèse de doctorat en vétérinaire. Faculté de médecine et pharmacie Claude Bernard Lyon 1, 126p.
- 46-Mainardi J., (2015).** Mécanismes d’action et de résistance aux antibiotiques/ Session interactive autour de l’antibiogramme. Unité Mobile de Microbiologie Clinique Service de Microbiologie Hôpital Européen Georges Pompidou Faculté et Université Paris René Descartes, 112p.
- 47-Mathavaraj L., Sethumadhavan V., Geun H.G., (2013).** Synthesis, Characterization and Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles using *Paederia foetida* L. leaf extract. *International Research Journal of Biological Sciences.* ;2(3) :28-34 ; 2278-3202.
- 48-Mcmanus M., (2019).** Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Am J Health-Syst Pharm.* ; 54 :1420-33.
- 49-Melisa Q., Ivana A., Pablo D., et al., (2016).** Silver Nanoparticles: Biosynthesis Using an ATCC Reference Strain of *Pseudomonas aeruginosa* and Activity as Broad Spectrum Clinical Antibacterial Agents. Hindawi Publishing Corporation *International Journal of Biomaterials.* ; 5971047 : 7.doi.org/10.1155/2016/5971047.
- 50-Millier L., Veillet., (1979).** Détermination de la flore bactérienne caséolytique psychrotrophe des laits crus réfrigérés.; Laboratoire de Microbiologie Alimentaire ;581-582 ;56p.

- 51-Mishra S., Singh H. B., (2015).** Biosynthesized Silver Nanoparticles as a Nanoweapon against Phytopathogens: Exploring Their Scope and Potential in Agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology.* ; 99 (3): 1097-1107.doi.org/10.1007/s00253-014-6296-0.
- 52-Mohamed H.E.A., Shakeeb A., Ali T., et al., (2019).** Biosynthesis of Silver Nanoparticles from Hyphaene Thebaica Fruits and Their (in Vitro) Pharmacognostic Potentiel. *Materials Research Express.* ; 6 (10) : 1050c9. doi.org/10.1088/2053-1591/ab4217.
- 53-Moroh J., Bahi C., Loukou G., et al., (2008).** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* ; 77 : 44 – 61.
- 54-Muhammad R., Sadaf I., Rafique M., et al., (2016).** A Review on Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology An International Journal.* ; 45(7) : 1272–1291.doi.org/10.1080/21691401.2016.1241792.
- 55-Muñoz-Vazquez R., Meza-Villezas A., Fournier P., et al., (2019).** Enhancement of Antibiotics Antimicrobial Activity Due to the Silver Nanoparticles Impact on the Cell Membrane. *PLoS ONE.* ; 14(11) : e0224904.doi.org/10.1371/journal.pone.0224904.
- 56-Muthuraman M.S., Nithya S., Vinoth V., et al., (2018).** Green synthesis of silver nanoparticles using *Nardostachys jatamansi* and evaluation of its anti-biofilm effect against classical colonizers. *Microbial Pathogenesis.* ; S0882-4010(18)30589-8 doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.024.
- 57-Muylaert A., Mainil J.G., (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.* ; 156 : 109- 123.
- 58-Naik K., Kowshik M., (2017).** The Silver Lining: Towards the Responsible and Limited Usage of Silver ». *Journal of Applied Microbiology.* ; 123 (5) : 1068-87.doi.org/10.1111/jam.13525.

- 59-Nasrollahzadeh M., Mahmoudi-Gom Y., Motahharifar N., et al., (2019).** Recent Developments in the Plant-Mediated Green Synthesis of Ag-Based Nanoparticles for Environmental and Catalytic Applications ». J Chem. Rec. ; 19 :1-45. doi.org/ : 10.1002/tcr.201800202.
- 60-Normark B., Normarn S., (2002).** Evolution and Spread of Antibiotic Resistance. Journal of Internal Medicine. ; 252 : 91–106.
- 61-Ophélie Z., (2008).** Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat en Physicochimie. L'université Paris VI - Pierre et Marie Curie, 330p.
- 62-Ouattara k., Doumba L., Djaman A., et al., (2013).** Activité antibactérienne des extraits des feuilles de *Morinda morindoides* (*Morinda*, Rubiaceae) sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Phytothérapie Springer-Verlag France J. ; 11 :172-177. doi.org/ 10.1007/s10298-013-0780-z.
- 63-Ozturk F., Sevril C., Fatih D., (2019).** Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Aesculus hippocastanum* (horse chestnut) : Evaluation of their antibacterial, antioxidant and drug release system activities. Journal Pre-proof Materials Science & Engineering C. ; S0928-4931(17) 34489-2.doi.org/10.1016/j.msec.2019.110207.
- 64-Panáček A., (2018).** Bacterial Resistance to Silver Nanoparticles and How to Overcome It. Nature Nanotechnology. ; 13(11) :65-71. doi.org/10.1038/s41565-017-0013-y.
- 65-Paramasivam G., (2013).** Detection and Characterization of Antibiotic Resistance Plasmids in Cheney Biosolids. Thèse de doctorat en biologie. Eastern Washington University Cheney, Washington,91p.
- 66-Pelgrift R.Y., (2013).** Nanotechnology as a Therapeutic Tool to Combat Microbial Resistance. Advanced Drug Delivery Reviews, ; 65 : 1803–1815. Doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.011.

- 67-Pourali P., Baserisalehi M., Javad B., (2013).** The effect of temperature on antibacterial activity of biosynthesized silver nanoparticles. *Biometals J.* ; doi.org/ 10.1007/s10534-012-9606-y.
- 68-Prateek M., Ramateke S., Jain N.K., (2017).** Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial cells nanomedicine and biotechnology journal.* ; doi.org/10.1080/21691401.2017.1414825.
- 69-Qasim M., Udomluck N., Chang J., et al., (2018).** Antimicrobial activity of silver nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine.* ; 13 : 235–249.
- 70-Quelemes P., Araruna V., Kuckelhaus S., et al., 2013.** Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* ; 14 :4969-4981 ; doi :10.3390/ijms14034969.
- 71-Rai M.K., Deshmukh S.D., Ingle A., et al.,. (2012).** Silver Nanoparticles: The Powerful Nanoweapon against Multidrug-resistant Bacteria. *Journal of Applied Microbiology.* ; 112 :841–852. doi :10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x.
- 72-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 Journal.* doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019.
- 73-Rajput V., Tatiana M., Svetlana S., et al., (2018).** Effect of nanoparticles on crops and soil microbial communities. *J Soils Sediments.* ; 18 :2179–2187.doi :10.1007/s11368-017-1793-2.
- 74-Rao G., (1998).** Risk Factors for the Spread of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Leading Article drugs.* ; 55 (3) : 323-330. doi :0012-6667/98/0003-0323/\$08.00/0.
- 75-Ray S., Swadesh S., Surekha K., (2011).** Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using the Mycorrhizal Mushroom *Tricljoma Cassum* (Brek) Sacc: It's Antibacterial Activity against Pathogenic Bacteria and Fungus

,Including Multidrug Resistant Plant and Human Bacteria. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. ; 6(3) : 1289-1299.

76-Renata D.L., Seabra B., Durán N., et al., (2012). Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. J. Appl. Toxicol. ; 32 : 867–879. doi :10.1002/jat.2780.

77-Reyes M., Benjamín O., Manuel C., et al., (2018). Antimicrobial Engineered Nanoparticles in the Built Cultural Heritage Context and Their Ecotoxicological Impact on Animals and Plants : A Brief Review. J. Heritage Science. ; 6 (1) : 52.doi.org/10.1186/s40494-018-0219-9.

78-Saga T., Keizo Y., (2009). History of antimicrobial agent and resistant bacteria. Journal of the Japan Medical Association. ; 137(3) :513–517.

79-Sang H., Jun B., (2019). Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. Int. J. Mol. Sci. ; 20 : 865. doi :10.3390/ijms20040865.

80-Saulou C., (2009). Evaluation des propriétés anti-adhésives et biocides de films nanocomposites avec inclusions d'argent, déposés sur acier inoxydable par procédé plasma. Thèse de doctorat en Ingénieries Microbienne et Enzymatique. L'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, 313p.

81-Sharma G., Ju-Suk N., Ashish R.S., et al., (2018). Antimicrobial Potential of Silver Nanoparticles Synthesized Using Medicinal Herb Coptidis rhizome. Journal of Molecules. ; 23 ;2268. doi :10.3390/molecules23092268.

82-Soilleux M., (2007). Les antibiotiques. DCEM1 cm antibioti poly réel,12 p.

83-Soliman H., Elsayed A., et al., (2018). Antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesised by Rhodotorula sp. strain ATL72. Egyptian Journal of Basic and Applied.

84-Sophie A., (2017). Fosfomycine et Lincomycine sur Staphylococcus aureus et non aureus Proposition de diamètres critiques. Concentrations minimales bactéricides de la Lincomycine. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie marseille,130p.

- 85-Soshnikova V., Yeon J., Priyanka S., et al., (2017).** Cardamom fruits as a green resource for facile synthesis of gold and silver nanoparticles and their biological applications. *Artificial cells nanomedicine and biotechnology journal*. ;doi :org/10.1080/21691401.2017.1296849.
- 86-Tacconelli E., Elena C., Alessia S., et al., (2017).** Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect journal*. ; doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3.
- 87-Tran Q., Nguyen V., et al., (2013).** Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives.doi.org/doi:10.1088/2043-6262/4/3/033001. *Adv. Nat. Sci. : Nanosci. Nanotechnol journal*. ;033001 :20.
- 88-Valcourt C., (2019).** Contribution à l'étude du traitement de bactéries multi-résistantes : Associations de composants aromatiques d'huiles essentiels nano-encapsulés avec des antibiotiques. Thèse de doctorat en biologie. L'Université Nantes Angers Le Mans, 233p.
- 89-Viorica R.P., Pawel P., Katarzyna R., et al., (2016).** Antimicrobial properties of biosynthesized silver nanoparticles studied by flow cytometry and related techniques. *Electrophoresis*. ; 37 :752–761.
- 90-Weiss K., (2002).** La résistance bactérienne. Congrès de formation médicale continue FMOQ Le Médecin du Québec. ; 37(3).
- 91-Witte W., Christiane C., Ingo K., et al., (2008).** Emergence and Spread of Antibiotic-Resistant Gram-Positive Bacterial Pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*. ; 298 : 365–377.
- 92-Xia Q., Yan J., Jian W., (2016).** Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Taxus yunnanensis* Callus and Their Antibacterial Activity and Cytotoxicity in Human Cancer Cells. *Nanomaterials journal*. ; 6 :160. doi :10.3390/nano6090160.
- 93-Yogeswari R., Sikha B., Akshya K.O., et al., (2012).** Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulashi) and study of their

antibacterial and antifungal activities. *Journal of Microbiology and Antimicrobials.* ; 4 (6) :103-109. ; doi.org/10.5897/JMA11.060.

94-Zhang L., Wu L., Youbin S., et al., (2018). Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles to *Azotobacter vinelandii*: Growth inhibition, cell injury, oxidative stress and internalization. *PLOS ONE journal.* ; doi.org/10.1371/journal.pone.0209020.

95-Zhang X., Liu Z., Shen W., et al., 2016. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.* ; 17 : 1534 ; doi :10.3390/ijms17091534.

96-Zoubair H., Rachid B., Youssef A., et al., (2016). Antibiotic Resistance Profile of *Escherichia Coli* of avian origin: broiler case in the region of grand casablanca-morocco. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.* ; 2429-53.

Sites bibliographiques

[1] :

https://www.google.com/search?q=la+coloration+de+gram&sxsrf=ALeKk02S4I6RuqYKEgKAf2mR6tlKkK3Eaw:1600259428185&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=mSBCSL87T74q7M%252CrqTvDRxk7Z2xUM%252C_&vet=1&usg=AI4_-kQRHtHrhJBp4zcOkggbSNr7jRd5jA&sa=X&ved=2ahUKEwjDqY_21u3rAhXN8OAKHXaoBaEQ_h16BAgIEAc#imgrc=mSBCSL87T74q7M [consulté le 16-08-2020].

[2] :

https://www.google.com/search?q=teste+oxydase+catalase&tbm=isch&ved=2ahUKEwjgy_LD2O3rAhWFgM4BHcWIDHoQ2-cCegQIABAA&oq=teste+oxydase+catalase&gs_lcp=CgNpbWcQAzoECAAQHICw9wpYzo8LYOWXC2gAcAB4AYAB1QiIAbcckgEPMC40LjEuMS4wLjEuMS4xmAEAoAEBqgELZ3dzLXdpei1pbWfAAQE&sclient=img&ei=EwdiX6D2K4WBur4Pxcuy0Ac&bih=625&biw=1366 [consulté le 06-08-2020].

Résumé

Les nanotechnologies sont aujourd'hui un phénomène de société au niveau mondial, la synthèse des nanoparticules métalliques fait l'objet de nombreux travaux de recherche en raison de leurs excellentes propriétés optiques et électroniques. En particulier, les nanoparticules d'argent présentent un intérêt majeur, dû entre autres, à leurs effets antibactériens. La synthèse de ces matériaux est réalisée par des méthodes physiques ou chimiques, lesquelles sont souvent coûteuses et compliquées à mettre en place et surtout nuisible à l'environnement. Afin d'y remédier, des efforts ont été fournis afin d'améliorer ces méthodes et d'en développer d'autres, notamment celle qu'on qualifie de verte appelée biosynthèse à laquelle nous nous sommes intéressés au cours de ce travail à l'aide de l'extrait de poudre de levure (*Saccharomyces cerevisiae*), de feuilles de persil (*Petroselinum crispum*), de pommes de terre (*Solanum tuberosum*), de fruit de concombre (*Cucumis sativus*). Après l'addition d'une infusion de chacun de ces 4 extraits à une solution de nitrate d'argent, la couleur du mélange a changé indiquant la formation de nanoparticules d'argent. Dans cette étude, nous fournissons une compréhension complète des AgNPs à partir des méthodes de synthèse, des effets antimicrobiens et des considérations toxicologiques possibles des AgNPs pour les humains et l'environnement.

Mots clés : nanoparticules d'argent, biosynthèse, bactérie multi-résistante, antibiotiques, résistance bactérienne.

Abstract

Nanotechnologies are now a phenomenon of society at the global level, the synthesis of metallic nanoparticles is the subject of much research work due to their excellent optical and electronic properties. In particular, silver nanoparticles are of major interest, due among other things to their antibacterial effects. The synthesis of these materials is carried out by physical or chemical methods, which are often expensive and complicated to implement and above all harmful to the environment. In order to remedy this, efforts have been made to improve these methods and develop others, in particular the one described as green called biosynthesis, which we were interested in during this work at the using extract of yeast powder (*Saccharomyces cerevisiae*), parsley leaves (*Petroselinum crispum*), potatoes (*Solanum tuberosum*), cucumber fruit (*Cucumis sativus*). After adding an infusion of each of these 4 extracts to a solution of silver nitrate, the color of the mixture changed indicating the formation of silver nanoparticles. In this study, we provide a comprehensive understanding of AgNPs from synthetic methods, antimicrobial effects, and possible toxicological considerations of AgNPs for humans and the environment.

Keywords: silver nanoparticles, biosynthesis, multi-resistant bacteria, antibiotics, bacterial resistance.

ملخص

أصبحت تقنيات النانو الآن ظاهرة اجتماعية على المستوى العالمي، وتصنيع الجسيمات النانوية المعدنية هو موضوع الكثير من الأعمال والبحوث بسبب خصائصها الضوئية والإلكترونية الممتازة. على وجه الخصوص، الجسيمات النانوية الفضية ذات أهمية كبيرة، من بين أمور أخرى بسبب آثارها المضادة للبكتيريا. يتم تصنيع هذه المواد بطرق فيزيائية أو كيميائية، والتي غالبًا ما تكون باهظة الثمن ومعقدة في التنفيذ وقيل كل شيء ضارة بالبيئة. من أجل معالجة هذا، تم بذل جهود لتحسين هذه الأساليب وتطوير أخرى، ولا سيما تلك الموصوفة بأنها خضراء تسمى التخليق الحيوي، والتي كنا مهتمين بها خلال هذا العمل في استخدام مستخلص مسحوق الخميرة وأوراق البقدونس والبطاطا وفاكهة الخيار. بعد إضافة كل من هذه المستخلصات الأربعة إلى محلول نترات الفضة، تغير لون الخليط مشيرًا إلى تكوين جزيئات الفضة النانوية. في هذه الدراسة، نقدم فهمًا شاملاً لتصنيع الجسيمات النانوية الفضية من الطرق الاصطناعية، وتأثيرات مضادات الميكروبات، والاعتبارات السمية المحتملة لها على الإنسان والبيئة.

الكلمات المفتاحية: جزيئات الفضة النانوية، التخليق الحيوي، البكتيريا متعددة المقاومة، المضادات

الحيوية، مقاومة البكتيريا.