

mRépublique 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

La synthèse biologique de nanoparticules et criblage de leurs activités antibactériennes

Présenté par :

- Bouzerdab Fatima Zohra
- Brahimi Samira
- Ferdjallah Rania
- Rerari Khouloud

Devant la commission composée de :

Président : Benouareth Djamel Eddine Prof Université de Guelma

Examinatrice : Hamdiken Malika M.C.B Université de Guelma

Encadreur : Khallef Messaouda M.C.A Université de Guelma

Juin 2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à la fin de ce travail à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la foi et de nous avoir permis d'en arriver là.

Nous somme honorées aux membres du jury :

*Pr. Benouareth Djamel Eddine, & Mme Hamdiken Malika
d'avoir accepté d'examiner ce travail*

Nous sommes honorées à notre encadreur :

Dr. Khallelf Messaouda, qui a fait preuve d'une grande patience et qui a été d'une grande aide dans la réalisation de ce travail, ses conseils, ses orientations ainsi que son soutien moral et scientifique nous ont permis de mener à terme ce projet.

Nous tenons également à remercier tout le corps enseignant du département de

Biologie de l'université 08 mai 1945 Guelma pour la qualité de leur enseignement et en particulier nos enseignants.

Un grand merci à nos familles qui durant nos études ont cru en nous et ont toujours respecté nos choix .

Au personnel du laboratoire d'analyses médicales Dr. Khelifa Bilal et Chaib Deraine et à Dr. Dardar Djafar, chef d'unité du laboratoire de Microbiologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma, nous vous disons grand merci.

Nous n'omettrons pas de remercier le personnel du laboratoire de pédagogie et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de travail.

Fatima .Z, Samira, Khouloud, Rania .



Dédicace



Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

A l'être le plus cher de ma vie, ma belle mère.

A Celui qui m'a fait de moi une femme, mon père.

A mon frère yazid et mes sœurs soumia, zahra, imen.

*A tous mes tantes **Oudjertli**, Abla, Hassina, Lamia, Salîha qui m'a aidé tout au long de mes études.*

Je remercie mon binôme, Khouloud, Rania, Samira qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.

A tous mes amis de promotin de 2ème année Master BMC en biologie toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

*A tous les membres de famille et toute personne qui porte le nom **Bouzerdab**, je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.*

Merci à vous pour votre soutien.....

Bouzerdab. Fatima. Z



Dédicace



Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

A l'être le plus cher de ma vie, ma mère

A Celui qui m'a fait de moi une femme, mon père.

A mon marie et mes enfants

A ma sœur et mes frères

A mon beau-frère et à mes belles sœurs

A tous mes neveux et nièces

A tous mes amis de promotion de 2ème année Master BMC en biologie toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

A tous les membres de famille et toute personne qui porte le nom

Brahimi Zizoui Bekri

Je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.

Brahimi. Samira



Dédicace

Je dédie ce travail :

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Tahar** pour son soutien et la confiance*

*Qu'il m'ait accordée « **paix a son âme** ».*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Samia**.*

*A mon seul cher frère **Ala** qu'il m'a supporté et encouragé tout au long de mon parcours*

A mes grands-mères et grands-pères que je souhaite une bonne santé.

*A mon oncle **Fateh**, mes tantes et oncles.*

*A mes cousines **Hadjer, Amel et Chahra zed**.*

*A mes chères cousins **Bilel et Amin**, qui m'ont aidé et supporté dans les moments difficiles.*

*A mes chères amies mes adorables : **Samira, Khouloud, Fatima zohra, et Bouchra**.*

*A **Larafa Amira**, qui m'a aidée dans ce travail, Dieu la protège.*

A mes collègues de l'institut de Paramédical.

*A mon enseignant **Naamoune Toufik** pour leur aide Lors de la réalisation de ce travail.*

*A mes amis et frères **Abdessalem, Nadjmeddine et Oussama** m'ont soutenu dans mes moments les plus difficiles.*

Ferdjallah Rania



Dédicace



J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*A ma très chère mère, qui ma donne toujours l'espoir de vivre et
qui n'a jamais cessé de prier pour moi.*

*A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien,
surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le
déroulement de mes études.*

*A mes frères : **Ali, fares** et Ma sœurs : **Oumaima.***

*A mon mari a **Abd Alaziz.***

Et tout qui m'aide et compulse ce modeste travail

A tous les membres de famille et toute personne qui porte le nom

Choufa, Noura, Rerari.

*En fin, je remercie mon binôme, **Fatima, Rania, Samira** qui a
contribué à la réalisation de ce modeste travail.*

Rerari. Khouloud

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des Figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I Les nanoparticules d'Argents.

1. Définition de nanoparticules d'Argent.....	3
2. L'origine des nanoparticules	3
2.1 Les nanoparticules naturelles.....	3
2.2 Les nanoparticules artificielles.....	3
2.3 Les nanoparticules accidentelles.....	3
3. Stabilisation des nanoparticules d'Argent.....	3
4. Les types de nanoparticules	4
4.1 Nanoparticule organique.....	4
4.2 Nanoparticule inorganique.....	5
5. Les propriétés des nanoparticules d'argent	5
6. La Biosynthèse des nanoparticules	6
6.1 Utilisation des bactéries.....	7
6.2 La biosynthèse à partir les plantes.....	8
6.3 La biosynthèse à partir des Algues.....	9
6.4 Utilisation de Champignons.....	9
7. Les Risques liée à l'utilisation des nanoparticules	10
8. Les activités biologiques de nanoparticules d'Argent	11
8.1 Activité antibactériennes.....	11
8.2 Activité antivirale.....	12
8.3 Activité antifongique	12
8.4 Activité anti-inflammatoire.....	12
8.5 Activité anti cancéreuse.....	13
8.6 Activité anti diabétique.....	13
8.7 L'intérêt médical des nanoparticules d'argent.....	13

9. Techniques et caractérisation des nanoparticules d'argent	15
9.1 La spectroscopie UV-Visible.....	15
9.2 La spectroscopie FTIR (Fourier Transform Infrared)	15
Chapitre II Problématique de la résistance bactérienne	
1. Définitions de la résistance aux antibiotiques.....	16
2. Origines de la résistance bactérienne aux antibiotiques	16
3. Type de résistance.....	16
a. Résistance naturelle	17
b. Résistance acquise.....	17
c. Résistance croisées	17
d. La Co-résistance	17
4. Mécanisme de résistance.....	17
5. Les bactéries multi_ Résistantes (BMR)	20
5.1 Définition.....	20
5.2 Les types de bactéries multi_résistantes.....	20
5.2.1 Les BMR hospitalières.....	20
5.2.2 Les BMR communautaires	21
6. Résistance bactérienne a l'argent.....	22
7. La synergie AgNPs antibiotique	22

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III Matériel et méthodes

1. Matériel utilisé	24
1.1 Matériel chimique.....	24
1.2 Matériel biologique.....	25
2. Méthodes d'études	26
2.1 Préparation de l'Amande de glands de chêne vert.....	26
2.2 Préparation des extraits biologiques des glands de chêne	27
3. Synthèse biologique des nanoparticules d'argent.....	29
3.1 Réduction des ions d'argent présentent dans la solution d AgNO3.....	29
3.2 Caractérisation des AgNPs	30
4. Etude bactériologique.....	30
4.1 Repiquages des souches bactériennes.....	30

4.2	Antibiogramme.....	30
4.2.1	Principe.....	31
4.2.2	Préparation de l'inoculum bactérienne.....	31
4.2.3	Ensemencement.....	31
4.2.4	Application des disques d'antibiotique.....	32
5.	Etudes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent biosynthétise	33
5.1	Préparation des disques.....	33
5.2	Association antibiotique-nanoparticules d'argent.....	33
5.2.1	Méthode	34
5.3	Evaluation de l'accroissement de la zone d'inhibition.....	34
	Chapitre IV Résultats et discussion.....	35
	Conclusion Générale	46
	Références bibliographiques	
	Annexe	
	Résumé (français, anglais, arabe)	

Liste des figures

	Titre	Page
Figure 1	Structure de base des nanoparticules organiques.	5
Figure 2	Schéma de principe de la synthèse d'AgNPs à l'aide de bactéries.	8
Figure 3	La biosynthèse de nanoparticule d'argents.	8
Figure 4	Présentation des Algues, la caractérisation et applications de nanoparticules.	9
Figure 5	Mécanismes biogénétiques de la biosynthèse de nanoparticules d'Argent.	10
Figure 6	Représentation schématique des voies de signalisation et des déterminants moléculaires altérés par la toxicité AgNP.	12
Figure 7	Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative.	19
Figure 8	1ère solution de AgNO_3 .	24
Figure 9	2ème solution de AgNO_3 .	24
Figure 10	Forêt de HOOUARA.	25
Figure 11	Préparation d'adsorbant à partir de l'amande de glands de chêne vert afin d'obtenir l'adsorbant approprié.	26
Figure 12	Présente le décorticage, le broyage, le tamisage des glands de chêne.	27
Figure 13	Technique de macération.	27
Figure 14	L'extrait après centrifugation.	27
Figure 15	Le mélange sur la plaque chauffante	28
Figure 16	La filtration.	28
Figure 17	L'extrait après sous feu doux filtration.	28
Figure 18	L'appareil de soxhlet.	28

Figure 19	Préparation des huit tubes pour la réduction des ions d'argent.	29
Figure 20	Ensemencement selon la technique des 4 séries de stries.	32
Figure 21	Application des disques d'antibiotique sur la gélose MH.	32
Figure 22	Disque de 6 mm de diamètre.	33
Figure 23	Image représentant le virage de couleur du mélange 1.	35
Figure 24	Image représentant le virage de couleur du mélange 2.	35
Figure 25	Image représentant le virage de couleur du mélange 3.	36
Figure 26	Le spectre d'absorption UV-vis par AgNPs.	37
Figure 27	Le spectre d'absorption UV-vis par AgNPs.	38
Figure 28	Histogramme illustre l'effet caractéristique des nanoparticules d'argent.	43
Figure 29	Histogramme illustre l'effet anti bactérien des AgNPs	44
Figure 30	Histogramme illustre l'effet anti bactérien des AgNPs	44

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Synthèse biologique de nanoparticules.	7
Tableau 2	Les applications de nanoparticules.	14
Tableau 3	Souches cliniques pathogènes étudiées.	25
Tableau 4	Liste des antibiotiques utilisés et leur charge.	31
Tableau 5	Les valeurs d'absorption des extraits et des AgNO ₃ .	39
Tableau 6	Antibiogramme des souches <i>Staphylococcus sp.</i>	39
Tableau 7	Antibiogramme de souche <i>Escherichia coli</i> .	40
Tableau 8	Antibiogramme de souche <i>Escherichia coli</i> .	40
Tableau 9	Antibiogramme de souche <i>Klebsiella sp(1)</i> .	41
Tableau 10	Antibiogramme de souche <i>Klebsiella (2)</i> .	41
Tableau 11	Effet des antibiotiques associés aux AgNPs vis-à-vis des souches cliniques.	45

Liste des abréviations

Ag⁺ : Ions argent

AgCl : chlorure d'argent

AgNO₃: Nitrate d'argent

AgNPs : Nanoparticules d'argent

AgO: Argent

AgO: Argent

AMC: Amoxicilline + acide clavulanique (Amoxiclav)

AMC30 : Amoxicilline + Acide clavulanique

AMX: Amoxicilline

ATB: Antibiotique

ATM30 : Aztréonam

ATP: Adénosine tri phosphate

BMR : Bactéries multi-résistantes

CAZ30 : Ceftazidine

CF : Céfalotine

COL : COLISTIN

CZ30 : Cefazoline

E : Erythromycine

FTIR: Fourier Transform Infrared

FTIRM: Fourier Transform Infrared MFS

Gen: Gentamicine

IPM10 : Imipénème

KmN30 : Kanamycine

LVX : Lévofloxacine

MeLLFs: Metal liquide-like Films

MFS: Major facilitator superfamily

MFS: Major facilitator superfamily

Mm : Millimètre

NADH : hydrure de nicotinamide adénine dinucléotide

NAL30 : Nalidixic acide

NPs : Nanoparticules

P : Pénicilline

PBP: penicillin - binding protein

PEG: polyéthers glycol

PEG: polyéthers glycol

PVA: le poly (alcool vinylique)

PVP: poly vnylpyrrolidone

R: Résistance

ROS: Espèces Réactives de l'Oxygène

SAR: Staphylococcus Aureus Résistant à la Meticilline

SAR: Staphylococcus Aureus Résistant à la Meticilline

SARL: Sto phylococcus Aureus Résistant à la Meticilline

SPR : Résonance plasmon de surface

UV : Ultra-Violet

Introduction

Introduction

Les nanosciences et les nanotechnologies représentent l'un des développements les plus prometteurs des sciences de la matière. (**Ledier,2012**). Le préfixe « nano », qui est dérivé du mot grec « Nanos » signifie « nain » et l'échelle nanométrique représente une partie d'un milliard, un nanomètre est équivalu donc 10^{-9} mètres (**Hulkoti et Taranath.,2014**).

Les nanoparticules d'argent sont un des produits phares de la gamme des nanomatériaux. Elles possèdent des propriétés spécifiques telles que le diamètre, la forme et la surface et un large champ d'application (biologique, médecine, catalyse... etc.) (**Moussa, 2016**).

Les nanoparticules peuvent être synthétisées par différents procédés physico-chimiques comme la déposition de vapeur et la réduction chimique et par des procédés photochimiques, bien que ces derniers soient souvent toxiques, coûteux et non respectueux de l'environnement.

Depuis quelques années la communauté scientifique a étudié d'autres méthodes de synthèse des nanoparticules respectueuses de l'environnement sans substances toxiques. C'est la méthode de synthèse verte qui utilise les organismes vivants (bactérie, champignon, levure, plante...) comme bioréacteurs pour fabriquer les nanoparticules. Ces méthodes ont attiré une grande attention en raison de leur simplicité de mise en œuvre, de la disponibilité de la matière première et surtout de l'activité biologique.

Aujourd'hui, les efforts de recherche se concentrent sur l'intégration des nanoparticules à la biologie. Il a été reporté que les antibiotiques perturbent souvent la flore bactérienne du tube digestif. L'utilisation massive d'agent antibiotiques, s'avère souvent inefficace du fait de la résistance accrue des microorganismes sous forme de bio films, et même néfaste pour l'environnement et la santé humaine (émergence de souche microbiennes multi résistantes). Ainsi, de nouvelles façons de formuler des matériaux biocides constituent un domaine d'attraction à venir (**Jarvinen et al., 1993 ; Dagliaet al., 2007**).

Pour cette raison, il existe un besoin d'utilisation d'un agent ne générant pas de résistance et présentant une bonne propriété bactéricide. Le domaine des nanotechnologies est l'un des domaines de recherche les plus actifs de la science moderne des matériaux (**Youcef et Daniel., 2012**).

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux méthodes de synthèse verte. Notre travail a donc pour objectif l'élaboration des nanoparticules d'argent par un procédé simple, rapide et propre vis-à-vis de l'environnement et du manipulateur. Pour répondre à ces critères nous avons choisi de préparer les nanoparticules d'argent en dispersion aqueuse en utilisant l'extrait de glands de chêne comme bio réducteur.

Notre travail est axé sur deux parties principales :

- ❖ Une étude bibliographique partagée en deux chapitres :
 - Le premier chapitre intitulé « rappel bibliographique sur les nanoparticules » décrit la définition des nanoparticules d'argent, leurs origines, leur stabilisation, leurs types, leurs propriétés et leurs synthèses biologiques à l'aide des différents modèles biologiques tels que les bactéries, les champignons et les plantes. Ce chapitre présente aussi l'intérêt médicale des nanoparticules, leurs activités biologiques notamment l'activité antibactérienne ainsi que les différentes techniques de caractérisation telles que la FTIR et l'UV-visible.
 - Le deuxième chapitre intitulé « problématique de la résistance bactérienne » présente la définition de la résistance des bactéries aux antibiotiques, les origines et les types de cette résistance. Nous avons aussi défini le mécanisme général de résistance et les bactéries multi résistantes avec quelques exemples ainsi que la résistance bactérienne à l'argent et la synergie AgNPs-antibiotiques.
 - ❖ Une étude expérimentale partagée aussi en deux chapitres :
 - Le premier intitulé 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 d'extrait des glands de chênes biologiques mélangé avec la solution de nitrate d'argent (AgNO_3).
 - Le second présente les résultats et leurs discussions.
- Le travail est clôturé par une conclusion générale.

Partie 1

Partie bibliographique

Chapitre 1

Les nanoparticules d'argents

1. Définition de nanoparticules d'Argent

Les nanoparticules d'argent, appartiennent aux nanomatériaux et possèdent une taille comprise entre 1 et 100 nm Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont l'un des plus nanomatériaux essentiels et les plus fascinants. Elles sont formées d'un cœur en argent métallique (Ag₀) entouré d'un revêtement organique ou inorganique. Ce revêtement qui relié au cœur par covalence, servant parfois directement de réducteur dans la synthèse des nanoparticules (ex. : citrate), a pour but de limiter leur agrégation par la création de forces répulsives entre les particules. On remarque ainsi que le revêtement n'est pas continu et que le noyau peut réagir avec son environnement (**Guilleux , 2012; Nasrollahzadeh et al., 2019**).

2. L'origine des nanoparticules

2.1 Les nanoparticules naturelles

Les nanoparticules naturelles peuvent être produites par 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. 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, 1993**).

2.2 Les nanoparticules artificielles

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

2.3 Les nanoparticules accidentelles

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

3. Stabilisation des nanoparticules d'Argent

Il existe deux mécanismes distincts :

➤ La stabilisation stérique

Parmi tous les polymères utilisés comme enrobage, les plus utilisés sont le polyvinylpyrrolidone (PVP), le poly (alcool vinylique) (PVAL), le polyacrylamide. Le PVP va

induire une stabilisation des NPs à cause de leurs longues chaînes de polymères qui forment une capsule et emprisonne le noyau d'Ag, qui réduisent la possibilité d'agglomération en augmentant l'énergie requise au rapprochement des NPs. Ces forces stériques vont également limiter l'adsorption de matière organique en plus d'être très peu affectées par les changements de forces ionique

➤ **La stabilisation électrostatique**

Le citrate (cit) est l'acide carboxylique le plus répandu et le plus utilisé comme agent d'enrobage pour sa charge électrostatique. La stabilisation de la NP est assurée par la charge négative de la surface ainsi que la double couche électrique. La charge de surface est négative, car elle est représentée par les molécules de citrate (normalement déportons) qui sont adsorbées sur la surface des Ag NPs. La deuxième couche est composée d'ions qui sont attirés par la charge de surface (première couche) via la force de Coulomb, ce qui couvre électriquement la première couche (Théoret, 2016).

4. Les types de nanoparticules

La composition du cœur des nanoparticules est très variée : il peut s'agir d'assemblages organiques ou inorganiques (Goutayer, 2008).

4.1 Nanoparticule organique

➤ **Système micellaire/ lipidique**

Une micelle est un agrégat sphéroïdal formé par l'autoassemblage d'une monocouche de phospholipides dont la tête polaire est hydrophile et la queue hydrophobe. Les micelles et les liposomes sont des NP lipidiques qui permettent le transport de substances hydrophiles ou hydrophobes. Les liposomes se différencient des micelles par la présence d'une double couche lipidique délimitant un compartiment central hydrophile (Chuto et Chaumet-Riffaud., 2010).

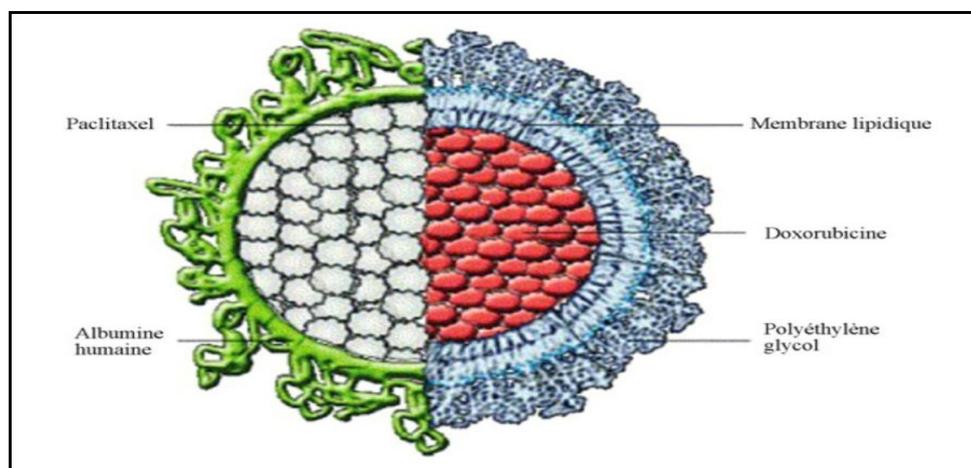


Figure 1 : Structure de base des nanoparticules organiques (Yezhelyev et al., 2006).

➤ **Nanoparticules à base de polymères**

Le principe de base est le même que pour les NP lipidiques. L'assemblage en nanosphères de polymères naturels (albumine, héparine) ou synthétiques (poly-L-lactide, PEG) permet le transport de substances (**Chuto et Chaumet-Riffaud., 2010**).

➤ **Les nanoparticules de carbone**

Il y a deux formes de nanotube de carbone sont les formes traditionnelles : le graphite, le diamant, de nouvelles formes du carbone ont été récemment découvertes, tels que les fullerènes, les nanotubes multifeuillets, les nanotubes monofeuillets (**Bernard, 2007**).

4.2 Nanoparticule inorganique

Outre les nanoparticules organiques, des nanoparticules inorganiques ont également été développées. Les plus courantes sont les nanoparticules métalliques d'or ou d'argent, les nanoparticules magnétiques, les nanoparticules en silice et les nanocristaux semi-conducteurs. (**Goutayer, 2008**).

5. Les propriétés des nanoparticules d'argent

L'argent est un métal blanc, brillant, malléable et à l'état trace dans la croûte terrestre. Il est principalement concentré dans les roches basaltiques et ignées. Une prédominance naturelle d'argent est trouvée dans le pétrole brut et dans l'eau des sources thermales et des cheminées de vapeurs. L'argent peut être présent sous différents états d'oxydation : Ag⁰, Ag⁺, Ag²⁺ et Ag³⁺. Les 2 premières espèces sont les plus communes. L'argent ionique, Ag⁺, va s'associer avec d'autres éléments organiques ou inorganiques pour former des sels ou des complexes (e.g. AgNO₃, AgCl) solubles ou insolubles. L'argent métallique, Ag⁰, est insoluble dans l'eau à moins d'être dans un environnement très acide. Ce métal, dit noble, est exploité pour sa grande résistance à la corrosion en plus de sa haute conductivité thermique et électrique (**Peyrot, 2012**).

Les nanoparticules d'argent ont des propriétés physico-chimiques particulières, y compris une haute conductivité électrique et thermique, une stabilité chimique, une activité catalytique et un comportement optique non linéaire en plus des propriétés mécaniques et magnétiques par rapport aux matériaux en vrac (**Renata et al., 2012 ; Tran et al., 2013**).

Les nanoparticules d'argents présentent des propriétés électromagnétiques spécifiques liées à leur morphologie, à la distance inter-particulaire et à l'indice de réfraction du milieu hôte. La maîtrise de ces différents paramètres est à la base du contrôle des propriétés contenant ces

nanoparticules et pourrait être utilisée pour la réalisation de fonctions optiques et photoniques (**Saint-Etienne, 2009**).

À partir de la fin du XIXe siècle, les nanoparticules d'argent ont commencé à être utilisées dans l'industrie pharmaceutique et certaines maladies telles des inflammation set des problèmes de peau (**Piadre et al., 2016**).

L'argent nanométrique est aussi produit en bonne quantité et est utilisé surtout pour ses propriétés antimicrobiennes et également dans le traitement du cancer (**Ostiguy et al., 2010 ; Liz et al., 2013**).

6. La Biosynthèse des nanoparticules

Il existe différentes méthodes pour produire ces nanoparticules d'argent, qui ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients sont : la méthode de photo réduction par UV, physique, chimique et biologique.

Les techniques biologiques de création de nanoparticules d'argent ont de grands avantages par rapports aux méthodes chimiques et physiques. Les AgNPs produits par méthode biologiques sont « eco-friendly » car aucun réducteur toxique ou agent stabilisateur ne sont utilisés pour la synthèse de ces nanoparticule (**Chauvel Romain, 2018**).

Tableau 1 : Synthèse biologique de nanoparticules (Vithiya et Sen., 2011)

Sources	Name of the organisms	Localization	Types of nanoparticles produced	Size ranges (nm)	References
Plant	<i>Azadirachta indica</i> (Neem)	Extracellular	Ag, Au	50-100	7
	Geranium leaves plant extract	No	Ag	16-40	8
	<i>Avena sativa</i> (Oat)	Extracellular	Au	5-85	9
	Aloe vera	Extracellular	Au	50-350	10
Fungi sources	<i>Fusarium oxysporum</i>	Intracellular	Au	20-40	11
	<i>Verticillium</i> sp.	Intracellular	Ag	25-12	12
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Intracellular	Ag	5-25	13
	<i>Schizosaccharomycepombe</i>	Intracellular	CdS	200	14
	<i>Fusarium oxysporum</i> and <i>Verticillium</i> sp.	Intracellular	Magnetite	20-50	15
Yeast	Yeast strain MKY3	Extracellular	Ag	2-5	16
	<i>Candida glabrata</i>	Intracellular	CdS	200	17
	<i>Schizosaccharomyce pombe</i>	Intracellular	CdS	200	17
Bacteria	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Intracellular	Ag	200	18
	<i>Lactobacillus</i> strains	Intracellular	Ag, Au	No	19
	<i>Escherichia coli</i>	Intracellular	Cds	2-5	20
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Extracellular	Au	5-32	18

6.1 Utilisation des bacteries

Les cellules microbiennes sont considérées comme des bio-usines pour la synthèse de nanoparticules d’or, d’argent et de sulfure de cadmium, les bactéries ont la capacité de synthétiser des nanoparticules de manière intracellulaire et extracellulaire. Plusieurs chercheurs ont rapporté que l'enzyme nitrate réductase dépendante du NADH joue un rôle vital dans la conversion des ions métalliques en nanoparticules. Ces particules sont sûres et respectueuses de l'environnement avec de nombreuses applications dans la médecine, l'agriculture, l'industrie cosmétique, l'administration de médicaments et les capteurs biochimiques.

La bactérie *Pseudomonas stutzeri* produit des nanocristaux d’argent de taille 200 nm (Hulkoti et Taranath., 2014 ; Punjab et al., 2015).

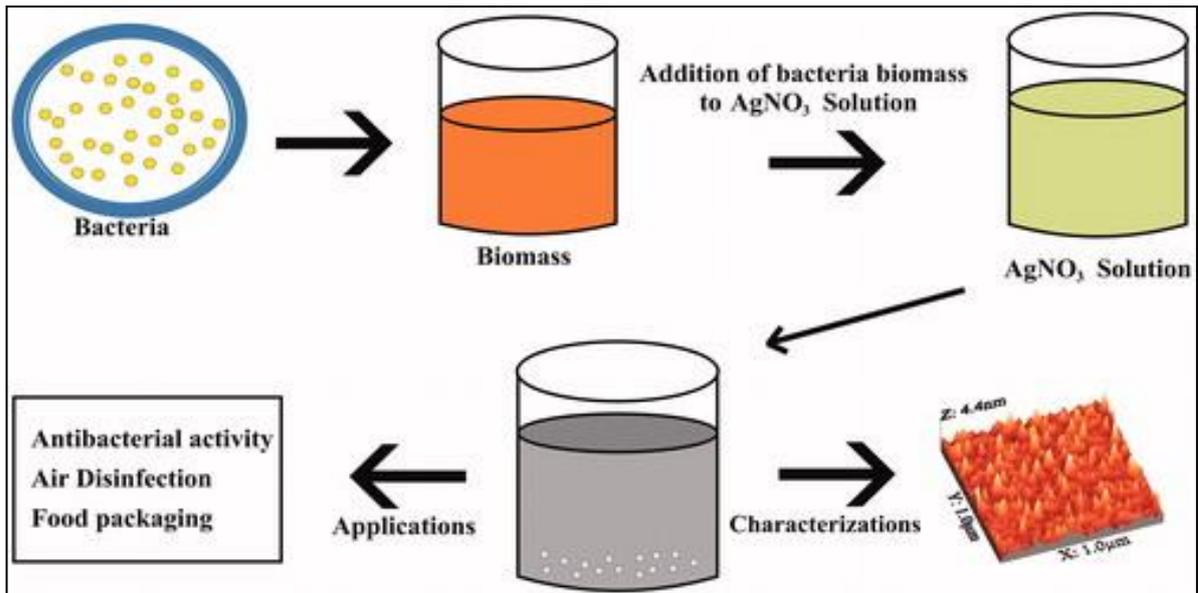


Figure 2 : Schéma de principe de la synthèse d'AgNPs à l'aide de bactéries.

(Rafique et al., 2016).

6.2 La biosynthèse à partir les plantes

La synthèse implique les végétaux est exempte de produits chimiques toxiques, de plus des agents de coiffage naturels sont facilement fournis par les plantes. Les nanoparticules d'Argent synthétisées à partir d'extraits de plantes d'Aloe Vera, *Cinnamon zeylanicum* et l'utilisation de gland de chêne encore existe. La plupart des rapports disponibles sur la synthèse de'AgNPs utilisent des bouillons résultant de feuilles de plantes fraîches bouillantes (Vithiya et Sen., 2011).

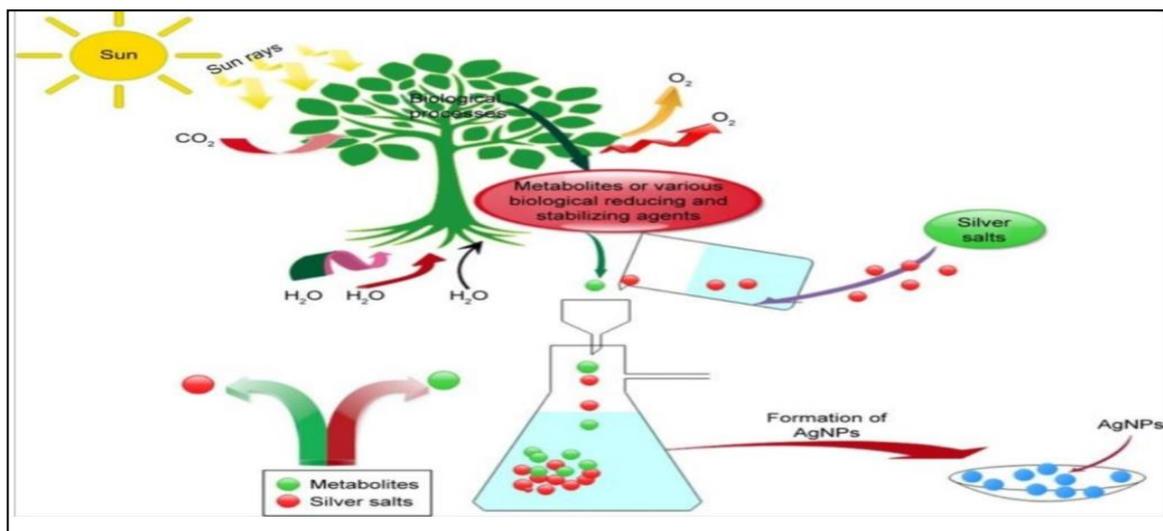


Figure 3 : La biosynthèse de nanoparticule d'argents (Chauvel, 2018).

6.3 La biosynthèse à partir des Algues

Les algues sont une riche source de métabolites secondaires, facile à cultiver à croissance rapide et évolutive, ils sont connus pour l'hyper-accumulation des ions de métaux lourds et possèdent une capacité exceptionnelle pour les remodeler en formes plus malléables (Chaudhary et al., 2020).

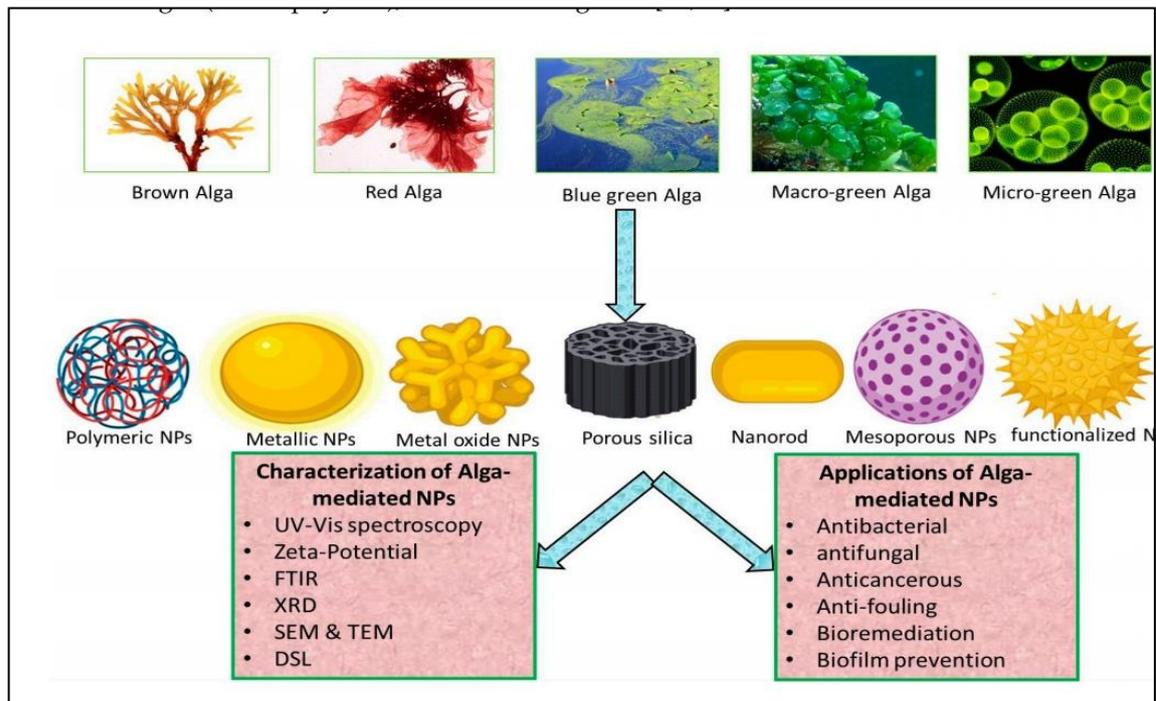


Figure 4 : Présentation des Algues, la caractérisation et applications de nanoparticules (Chaudhary et al., 2020).

6.4 Utilisation de Champignons

Les champignons sont des agents attrayants pour la synthèse biogénique des nanoparticules d'argent, car elles offrent une tolérance élevée aux métaux et sont faciles à gérer. Ils sécrètent également de grandes quantités de protéines extracellulaires qui contribuent à la stabilité des nanoparticules, Environ 6 400 substances bioactives sont connues pour être produites par champignons filamenteux microscopiques. Les champignons ont des avantages par rapport aux autres micro-organismes, en ce sens qu'ils produisent de grandes quantités de protéines et d'enzymes, dont certaines peuvent être utilisées pour la synthèse rapide et durable des nanoparticules. Le mécanisme de synthèse biogénique des nanoparticules à l'aide de champignons peut être intracellulaires ou extracellulaires, bien que la formation extracellulaire a des avantages telle que : moins cher, la formation intracellulaire peut revêt également une grande

importance). Les Ag-NPs sont actifs contre champignons dermatophytes comme *Trichophyton mentagrophytes*. Dans l'activité antifongique in vitro, le fluconazole, un agent antifongique largement utilisé contre de nombreuses infections fongiques, a été utilisé comme contrôle positif pour la comparaison avec Ag-NPs (Gajbhiye et al., 2009 ; Pantidos et Horsfall.,2014 ; Guilger-Casagrande et Lima., 2019).

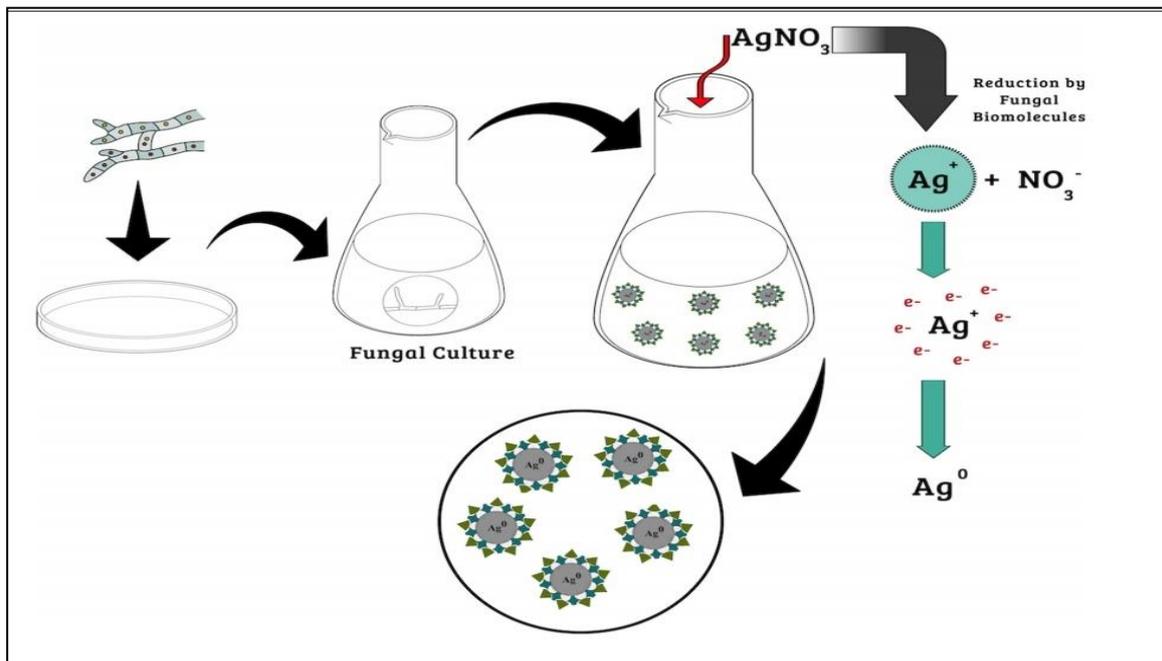


Figure 5 : Mécanismes biogénétique de la biosynthèse des nanoparticules d'Argent (Guilger-Casagrande et Lima., 2019).

7. Les Risques liée à l'utilisation des nanoparticules

L'interaction avec le vivant constitue une interrogation majeure car les propriétés particulières aux nanoparticules, qui les rendent si intéressantes, peuvent potentiellement représenter un danger non négligeable pour les hommes et l'environnement.

Les nanoparticules d'Argent peuvent pénétrer dans le corps humain par différentes voies, ils peuvent se retrouver dans le foie, yeux, muscles, Estomac, poumons, la thyroïde, cœur et pancréas. Une fois dans la cellule, leurs propriétés catalytiques pourraient générer des espèces radicalaires (ROS : Radical Oxygen Species) et causer de sérieuses altérations dans l'ADN (ce qui constituerait un fâcheux effet secondaire de l'utilisation des crèmes solaires).

En ce qui concerne l'environnement, la libération incontrôlée de nanoparticules (ex : combustion des fiouls, ruissellement des nanoparticules utilisées dans les façades autonettoyantes) pourrait avoir de graves conséquences environnementales. Certaines

nanoparticules sont même envisagées pour des utilisations en dépollution par exemple pour le piégeage des halogénures, arsenic, mercure, etc.

Indique l'Anses : elles favorisent la mortalité des organismes aquatiques et terrestres, tout en inhibant leur croissance et leur reproduction (Hadrup et Lam., 2013 ; Sedira, 2014 ; Loumé, 2015).

8. Les activités biologiques des nanoparticules d'Argent

8.1 Activité antibactérienne

Malgré diverses hypothèses disponibles, les mécanismes des propriétés antibactériennes des AgNPs n'ont pas été clairement établis à ce jour. Sur la base de la littérature actuelle, les mécanismes cytotoxiques proposés peuvent être résumés comme suit (Hun-lee et Bong-Hyun., 2019) :

- ✓ Adhésion des AgNPs sur la surface membranaire des cellules microbiennes, modifiant la bicouche lipidique ou augmentant la perméabilité membranaire

- ✓ Pénétration intracellulaire des AgNPs

- ✓ La toxicité cellulaire induite par l'AgNPs déclenchée par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de radicaux libres, endommageant les micro-organites intracellulaires (c'est-à-dire les mitochondries, les ribosomes et les vacuoles) et les biomolécules, y compris l'ADN, les protéines et les lipides.

- ✓ Modulation des voies de transduction du signal intracellulaire.

Les AgNPs peuvent également se fixer à la surface de la paroi cellulaire bactérienne et y pénétrer pour provoquer des modifications structurelles de la membrane ou augmenter sa perméabilité, ce qui déclenche la mort des cellules, la cytotoxicité peut être causée par la libération d'ions de Ag⁺, dans une autre recherche la toxicité cellulaire dans les cellules souches a été observée à la concentration antibactérienne de nanoparticules (Dubey et al., 2015).

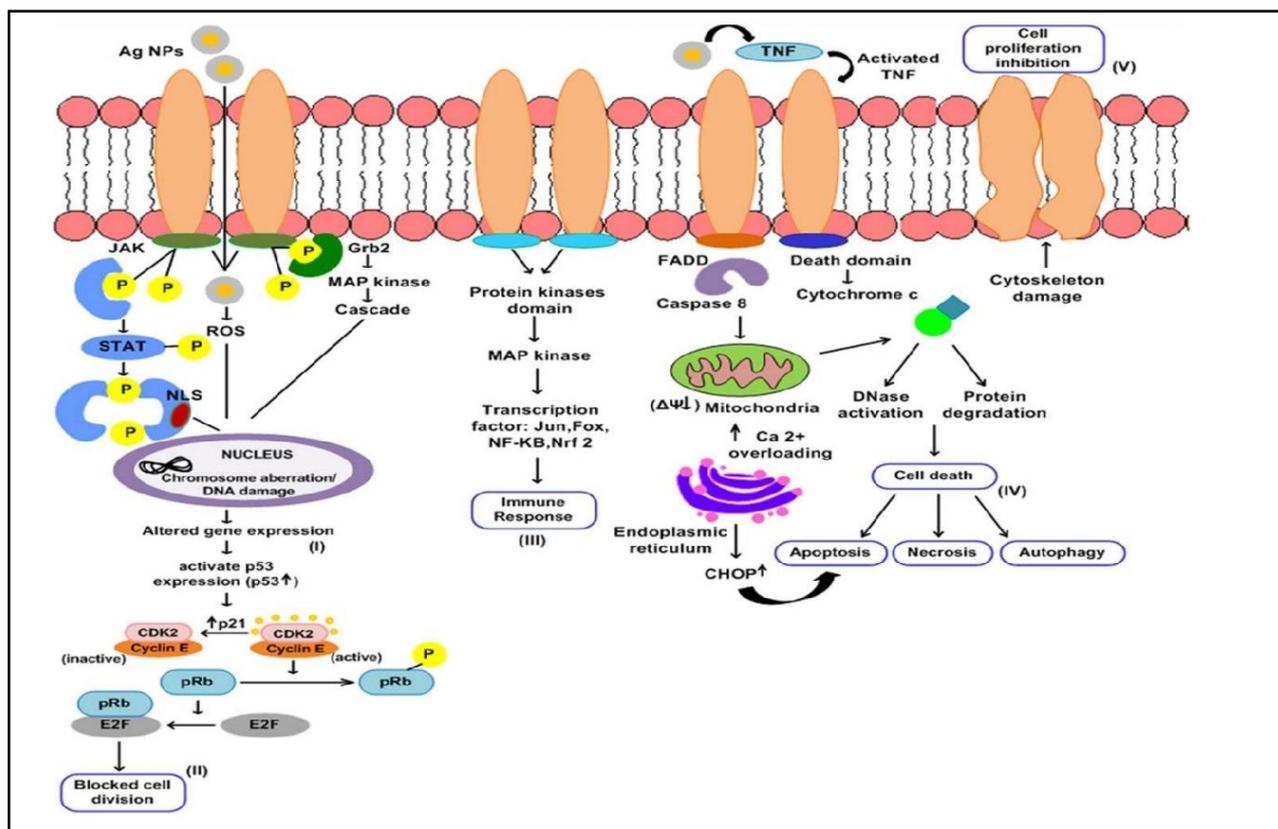


Figure 6 : Représentation schématique des voies de signalisation et des déterminants moléculaires altérés par la toxicité Ag NPs (Dubey et al., 2015).

8.2 Activité antivirale

Les nanoparticules d'argent subissent une interaction dépendante de la taille avec le VIH-1 exclusivement dans la gamme de 1 à 10 nm attachées au virus. Les nanoparticules interagissent avec les résidus soufrés exposés du les boutons de glycoprotéine le virus VIH-1 (via une liaison gp120) (Elechiguerra et al., 2005).

8.3 Activité antifongique

Les nanoparticules d'argent inhibent la croissance des dermatophytes (*Candida SP* et *Trichophyton mentagrophytes*) qui causent des infections fongiques superficielle (Kim et al. 2008).

8.4 Activité anti-inflammatoire

Parmi plusieurs agents anti-inflammatoires, AgNPs ont récemment joué un rôle important dans le domaine anti-inflammatoire. Ils sont connus pour être antimicrobien, mais les réponses anti-inflammatoires des AgNPs sont encore limitées. Poursuivant l'étude précédente, Wang et al. ont étudié pour obtenir des preuves supplémentaires des propriétés anti-inflammatoires des

AgNPs, dans lequel ils ont utilisé à la fois des modèles in vivo et in vitro et ont découvert que les AgNPs sont capables de réguler à la baisse les quantités de marqueurs inflammatoires, suggérant que les AgNPs pourraient supprimer les événements inflammatoires dans les premières phases de la cicatrisation (**Zhang et al., 2016**).

8.5 Activité anti cancéreuse

Beaucoup d'études suggèrent que l'activité antitumorale de l'argent colloïdale et des nanoparticules d'or sur les cellules cancéreuses passe par la formation de ROS (reactive oxygen species) à l'intérieur de la cellule. L'augmentation de la formation de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène affecte aussi la transduction du signal déclenchant l'apoptose. Les radicaux superoxydes contribuent aussi au découplage de la respiration avec la production d'ATP.

Récemment, les nanoparticules d'argent ont affiché un effet cytotoxique énorme contre les cellules leucémiques, le cancer du sein, le carcinome hépatocellulaire, les cellules humaines de foie HepG2, le cancer du poumon (**Chauval, 2018**).

8.6 Activité anti diabétique :

Des extraits de tige de *Tephrosia tinctoria* médiés par la synthèse de nanoparticules d'argent a été évalué pour le contrôle de la glycémie, les nanoparticules piègent les radicaux libres, réduisent les niveaux d'enzymes qui apportent sur l'hydrolyse des glucides complexes (**Prateek et al., 2018**).

8.7 L'intérêt médical des nanoparticules d'Argent

Le tableau expose les domaines, les applications et les utilités des produits contenant des nanoparticules d'argent.

**Tableau 2 : Les applications des Nanoparticules
(Sedira, 2014., Cité par Diallo et kante., 2019).**

Domaines	Applications	Utilités
Secteur Biomédical	<ul style="list-style-type: none"> -Des pansements dits « Argentiques » (Tels que des pansements Acticoat) -Des cathéters urinaires, vasculaires et péritonéaux -Des masques chirurgicaux. 	<ul style="list-style-type: none"> -Prévenir des infections, -Prévenir la formation de biofilms bactériens, -Guérir des blessures, -Ne provoquent pas d'allergie ni d'irritation
Agro-alimentaire et le traitement de l'eau	<ul style="list-style-type: none"> -Des équipements en argent, -Des films alimentaires dans lesquels sont incorporées des particules de phosphate de calcium biodégradables portant des nanoparticules d'argent -Des membranes de filtration imprégnées de nanoparticules d'argent. 	<ul style="list-style-type: none"> -Eviter les contaminations et prévenir l'apparition d'un goût métallique, - Empêcher le développement d'agents infectieux dans les circuits de distribution d'eau potable.
Hygiène des personnes	<ul style="list-style-type: none"> -Déodorant (Shiseido), savon, gel bactéricide pour les mains, -Produits cosmétiques, -Sièges des toilettes publiques -Vêtements et textiles 	<ul style="list-style-type: none"> -Retarder le développement des bactéries et champignons, -Eviter les mauvaises odeurs, -Empêcher l'adhésion des pollens allergènes
Désinfection des surfaces	<ul style="list-style-type: none"> -Peintures murales, revêtement de sol, -Revêtement de surfaces d'acier inoxydable pour les équipements médicaux, industries agroalimentaires ou pharmaceutiques 	<ul style="list-style-type: none"> Surtout pour les personnes allergiques aux désinfectants habituels.
Technologies et équipements électroménagers	<ul style="list-style-type: none"> -Ordinateur, Combinés téléphoniques, calculatrice, clavier d'ordinateurs... -Machines, réfrigérateurs, aspirateur... 	<ul style="list-style-type: none"> Libération d'ions Ag⁺ à partir d'argent métalliques grâce à un courant électrique.

9. Techniques de caractérisation des nanoparticules d'argent**9.1 La spectroscopie UV-Visible**

La spectroscopie UV-Visible est utilisée pour l'estimation de la taille moyenne et de la polydispersité des particules d'argent. Tel que décrit dans le chapitre 1, les particules d'argent ont des propriétés plasmatiques caractéristiques de leur taille et de leur forme. Sur le spectre d'absorption, le maximum est caractéristique de la taille moyenne des particules et l'étendue du spectre est caractéristique de la polydispersité de la suspension colloïdale⁽⁴¹⁾ La spectroscopie UV-Visible permet aussi de mesurer la réflectivité des MeLLFs (**Party M, 2012**).

9.2 La spectroscopie FTIR (Fourier Transform Infrared)

Technique d'analyse rapide permettant d'identifier rapidement les fonctions chimiques des molécules présentes dans les matériaux analysés.

La spectroscopie FTIR est fréquemment utilisée pour déterminer des biomolécules sont impliqués dans la synthèse de nanoparticules. La FTIR a également été étendue à l'étude des matériaux à l'échelle nanométrique, comme la confirmation de molécules fonctionnelles greffées de manière covalente sur des nanotubes de carbone (Lin et Al., 2014). Les avantages des spectromètres FTIR par rapport aux spectromètres dispersifs sont la collecte rapide de données, un signal fort, un grand rapport signal/bruit et moins d'échauffement de l'échantillon (**Kumar et Barth., 2010 ; Zhang et al., 2016**).

Chapitre 2

Problématique de la résistance bactérienne

1. Définitions de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel. Elle constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Elle peut toucher toute personne, à n'importe quel âge et dans n'importe quel pays [1].

La résistance aux antibiotiques apparaît comme un événement normal de l'évolution des microorganismes. Elle est toutefois favorisée par l'usage des antibiotiques qui exercent une pression de sélection en privilégiant la croissance de souches résistantes ou en induisant l'expression de phénotypes inductibles (**Van Bambeke et al., 2010**).

2. Origines de la résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques n'est pas un phénomène récent. Les microorganismes sont continuellement en compétition pour l'espace et la nourriture et ils ont développé un certain nombre de mécanismes pour contribuer à leur survie. Ces mécanismes comprenant la production d'antibiotiques pour tuer ou ralentir la croissance d'organismes concurrents, notamment de bactéries. Afin d'affronter ces antibiotiques, les bactéries reposent sur une activation et un échange efficace des gènes, y compris des gènes de résistance aux antibiotiques.

Au fil des siècles, cette lutte continue a abouti à la constitution d'un réservoir profond de gènes résistants aux antibiotiques, auxquels les bactéries peuvent accéder si nécessaire (**Padget, 2016**).

L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable de l'émergence de la résistance microbienne. Même si leur prescription a diminué ces dernières années suite aux diverses procédures menées, ces substances ont été et sont encore trop souvent utilisées sans justification préalable. Des antibiotiques plus toxiques à large spectre sont parfois prescrits pour éviter un isolement et un antibiogramme, avec pour conséquence le risque d'effets secondaires graves, de surinfections et d'une sélection de souches mutantes résistantes. Le phénomène est encore aggravé par les patients qui interrompent prématurément leur traitement, permettant aux mutants résistants de survivre.

Son émergence est due également à l'hospitalisation prolongée, la longue durée des séjours et les comorbidités, le non-respect des pratiques hygiéniques et le transfert des malades entre les hôpitaux (**Sylvie, 2009 ; Mangin, 2016 ; Bouyahya et al., 2017**).

3. Types de résistance

La résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel. On parle de résistance naturelle si les bactéries résistent à des antibiotiques de manière innée. Celle-ci constitue également un marqueur d'identification de la bactérie. D'autres bactéries échappent, par des modifications

génétiques, à l'action d'antibiotiques auxquels elles étaient jusqu'alors sensibles : on parle de résistance acquise. Elle constitue un marqueur épidémiologique (Veyssière, 2019).

a. Résistance naturelle

Les gènes de résistances font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce.

Elle se caractérise par des modifications structurales, dans le cas de la membrane externe des bactéries à Gram-, et métaboliques, dans le cas du bacille de la tuberculose insensible à un grand nombre d'antibiotiques en s'opposant à l'action des antibiotiques par le biais de son métabolisme original. Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite en répondant à un signal enzymatique établi par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (Sylvie Carle, 2009 ; Bouyahya et al., 2017).

b. Résistance acquise

On parle de résistance acquise lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique y deviennent résistantes. La résistance acquise se caractérise donc par l'apparition subite d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques chez certaines bactéries qui étaient auparavant sensibles.

Elle est due à des modifications dans le profil d'expression génique via des mutations ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus, les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (Veyssiere, 2019 ; Bouyahya et al., 2017).

c. Résistances croisées

La résistance croisée est le phénomène par lequel les bactéries qui développent une résistance à un antibiotique d'une classe sont également résistantes à d'autres membres de cette classe auxquels d'elles n'ont peut-être jamais été exposées, la conséquence majeure de cette résistance est la sélection croisée (Neely et Holder., 1999 ; Stéphanie Faure, 2010).

d. La Co-résistance

Plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance (Faure, 2010).

4.Mécanismes de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens, les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la

pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique sont également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (Muylaert et Mainil., 2012).

➤ **Inactivation enzymatique de l'antibiotique**

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. On décrit également ce type de résistance pour le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones). Les enzymes peuvent être divisées en trois classes selon la réaction catalysée (phosphorylation ou adénylylation d'un groupe hydroxyle, acétylation d'un amino groupe) et sont nommés en fonction du site qu'ils modifient sur la molécule antibiotique (Muylaert et Mainil., 2012 ; Courvalin et Carlier.,1981).

➤ **Mécanisme d'efflux**

Les bactéries sont pourvues de systèmes leur permettant d'expulser dans le milieu extérieur des métabolites ou composés toxiques étrangers comme les antibiotiques. Cet efflux actif nécessite de l'énergie sous forme d'ATP (Adénosine Tri Phosphate) (Mangin, 2016).

On classe ces pompes à efflux selon leur spécificité de substrats ;

- Les pompes d'efflux de types MFS (**major facilitator superfamily**) peuvent jouer un rôle dans la résistance aux tétracyclines ou au chloramphénicol. La plupart des gènes codant pour ces pompes sont retrouvés sur des plasmides.
- La pompe AdeABC est retrouvée chez 80 % des souches d'*A. baumannii* est impliquée dans la diminution de la sensibilité aux bêta-lactamines, aux aminoglycosides, aux fluoroquinolones, aux tétracyclines, à la tigécycline et au chloramphénicol (Decréa., 2016).

➤ **Modification de la cible**

Dans certaines situations, la bactérie modifie l'affinité de ses protéines de liaison à des antibiotiques spécifiques. Par exemple, certaines souches pathogènes telles que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* et *Shigella dysenteriae* modifient l'affinité des protéines de liaison à la pénicilline (penicillin-binding proteins, PBP), ce qui leur permet de résister à des antibiotiques de la famille des β -lactamines (les antibiotiques qui ciblent spécifiquement les enzymes de synthèse de la paroi bactérienne) (Bouyahya et al., 2017).

➤ **La perméabilité réduite**

Chez les bactéries à Gram négatif, l'enveloppe comprend la membrane externe et la membrane cytoplasmique ; la perméabilité de ces deux structures joue un rôle majeur dans la sensibilité. Elle peut en effet moduler la diffusion (passive) de l'antibiotique lors de son entrée, et réguler son expulsion (active). Les porines situées dans la membrane externe et les pompes d'efflux qui forment des complexes protéiques intra- et inter-membranaires sont parmi les voies principales de ce transport (**Pagésa et Garnotel., 2003**).

Plusieurs observations indiquent que l'altération de l'équilibre des porines OmpF/OmpC au cours de l'antibiothérapie est due à des événements de régulation ou de mutation du gène de la porine ou à une cascade régulatrice contrôlant la perméabilité de l'enveloppe bactérienne (**Davin-Regli et Al., 2020**).

➤ **Protection de la cible**

La protection de la cible se fait par production d'une protéine permettant d'éviter l'interaction entre la cible et l'antibiotique (résistance aux tétracyclines) (**Grandjean, 2015**).

➤ **Piégeage de l'antibiotique**

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible (**Muyleart et Mainil., 2012**).

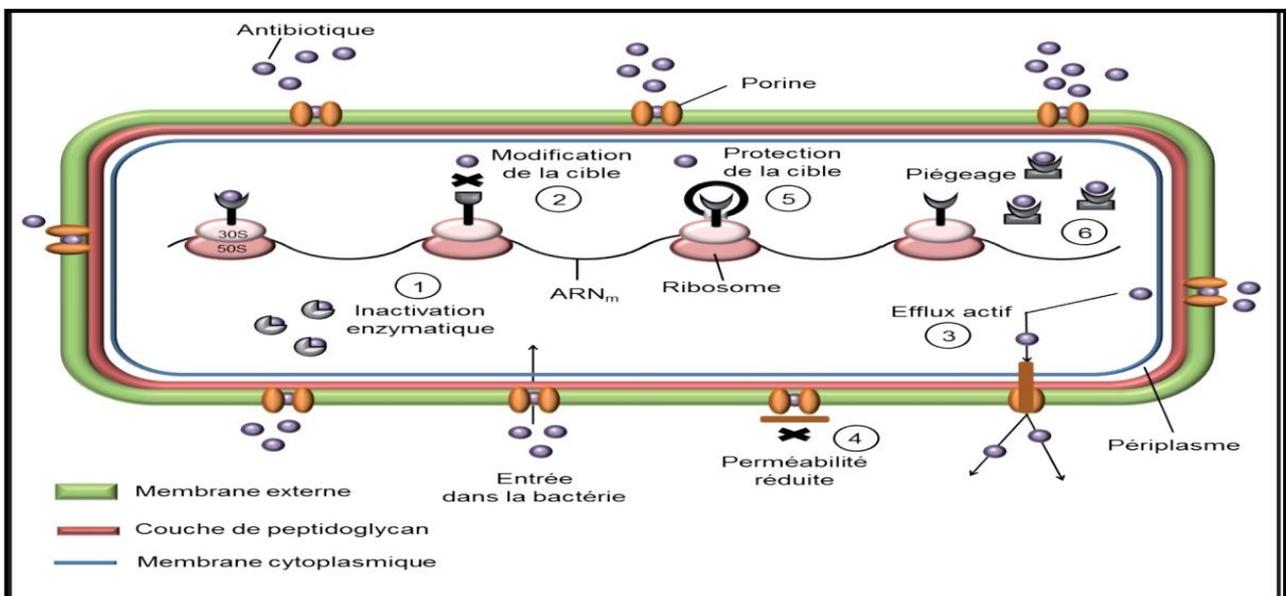


Figure 7 : différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie Gram négative

(**Muyleart et Mainil., 2012**).

5. Les bactéries multi-résistantes

5.1 Définition

Une BMR est définie comme une bactérie ayant acquis une résistance à au moins trois molécules de trois familles ou groupes d'antibiotiques différents auxquels elle est normalement sensible ; une exception consiste en la présence d'un seul marqueur-clé de résistance (d'ailleurs souvent, mais pas toujours associé à d'autres marqueurs) dont la signification clinique est majeure (**Brun-Buisson, 2014**).

La multirésistance concerne à la fois les bactéries responsables d'infections communautaires tels que les pneumocoques ou les bacilles de la tuberculose et les bactéries responsables d'infections nosocomiales ou associées aux soins.

Certaines résistances nécessitent une prise en charge particulière, car elles concernent des espèces bactériennes qui sont à la fois commensales capables de disséminer dans la population générale et à fort potentiel pathogène. C'est le cas des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (**SARM**) et des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (**EBLSE**) (**Khiev et Veber., 2010**).

5.2 Les types de bactéries multi-résistantes

5.2.1 Les BMR hospitalières

En milieu hospitalier, les principales bactéries devenues résistantes à plusieurs antibiotiques sont (**Janin, 2018**)

a. USARM

Les souches de *S.aureus* résistantes à la méticilline (**SARM**) est la plus fréquente des BMR impliquées dans les infections nosocomiales et ils représentent 13% de l'ensemble des bactéries des infections nosocomiales. Le développement incontrôlé des épidémies de SARM et les preuves répétées de leur diffusion clonale justifient à eux seuls la mise en place d'un programme de lutte contre les BMR (**Saadaoui,2008**).

Les BMR, notamment les SARM, sont dans la très grande majorité des cas acquis au cours d'une hospitalisation. Les SARM sont résistants à toutes les β -lactamines, et sont généralement résistants aux fluoroquinolones et très souvent aux aminosides (**Jarlier, 2004**).

b. EBLSE

Les entérobactéries représentent 40% des bactéries des infections nosocomiales. Ceux qui produisent de BLSE sont *essentiellement Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli, Proteus mirabilis...* La tendance à la diffusion clonale des EBLSE et de leurs plasmides de résistance est bien démontrée. Les EBLSE sont très souvent résistantes aussi aux

aminosides, en particulier à la tobramycine et l'amikacine, et aux fluoroquinolones (**Vincent Jarlier, 2004**).

c. Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV)

Les entérocoques représentent 5 à 8% des bactéries responsables d'infection nosocomiale. Les ERV, le plus souvent de l'espèce *E. faecium*, sont encore rarement isolés en France. Ils représentent environ 1% des souches d'entérocoques isolées à l'hôpital et il y a environ 1% de porteurs d'ERV dans la population générale (**Saadaoui, 2008 ; B. Khiev et B. Veber., 2010**)

d. Acinetobacter baumannii multirésistant (résistant à la ticarcilline) (ABR)

Les *A. baumannii* représentent 2 à 4% des bactéries responsables d'infection nosocomiales. Les ABR jouent un rôle important dans les infections nosocomiales dans certains secteurs hospitaliers (unité de soins intensifs) et sont souvent à l'origine de bouffées épidémiques dans lesquelles est impliquée la forte contamination de l'environnement des patients porteurs. Certaines souches épidémiques résistantes à l'imipénème conduisent à des impasses thérapeutiques (**Saadaoui, 2008**).

e. Pseudomonas aeruginosa multirésistant (PAR)

Les souches de *P. aeruginosa* résistantes aux β -lactamines (ticarcilline, ceftazidime ou imipénème), ont tendance à être résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones. Les *P. aeruginosa* représentent 10 à 11% des bactéries responsables d'infection nosocomiales. Dans les hôpitaux concernés, ces souches doivent faire l'objet d'une stratégie spécifique, notamment une politique de prescription raisonnée des antibiotiques pour éviter leur émergence, et des mesures de contrôle de l'environnement pour éviter leur diffusion qui se produit par petites épidémies (**Janin, 2018**).

5.2.2 Les BMR communautaires

Le profil bactériologique des méningites communautaires varie selon les régions, selon l'âge et en fonction de l'introduction ou non du vaccin anti-Hib et causées par trois agents pathogènes (*H. influenzae*, *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*.) Dans la méningite du sujet âgé, *S. pneumoniae* est la principale bactérie incriminée. Les méningites communautaires du grand enfant et l'adulte est nettement dominé par les deux germes : *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*, le principal problème posé par ces deux bactéries est la résistance acquise aux pénicillines (**Mezghani Maalej et al., 2006**).

Naturellement sensible à de nombreux antibiotiques, le pneumocoque a acquis au cours des cinq dernières décennies de nombreuses résistances : sulfamides, tétracyclines, érythromycine, pénicilline et chloramphénicol. La résistance du pneumocoque aux β -lactamines

est liée à une modification des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) (Znazen et Al., 2010).

La tuberculose multirésistante (TB-MR) constitue un défi majeur pour l’OMS. La TB-MR reste toujours une affection de l’adulte jeune avec un impact socioéconomique. La prise en charge correcte de la tuberculose à bacille pharmaco-sensible constitue le principal moyen de prévention de la TB-MR (Habibi et Al., 2017).

La présence d’une résistance à un médicament antituberculeux est dite primaire si le germe provient d’un cas qui n’a jamais reçu de traitement antituberculeux auparavant, elle est dite acquise dans le cas contraire. En cas de doute sur un traitement préalable, une résistance nouvellement découverte est définie comme initiale. –Une tuberculose est dite multirésistante si l’antibiogramme montre une résistance au minimum à la rifampicine et à l’isoniazide (Geneviève et Al., 2003).

6. Résistance bactérienne à l’argent *

Les ions d’argent possèdent de fortes propriétés antimicrobiennes et ils n’ont été présent aucun risque pour la santé humaine ou dans l’environnement, Il a été démontré que l’argent possède des propriétés qui ont conduit à une utilisation intensive de produits en contenant, ce qui peut inciter les bactéries à lui résister (Mijenendockx et al., 2013).

Une souche de *Salmonella typhimurium* apparié de manière séquentielle chez trois patients dans une unité de brûlure, cet organisme était responsable de la colonisation et de l’infection envahissante chez ces patients dont les surfaces de brûlures recevaient un traitement topique avec une solution de nitrate d’argent 0,5% (AGNO₃). L’antibiotique et le schéma de sensibilité des ions métalliques de cette souche de *S typhimurium* est unique et dérangement : résistant au nitrate d’argent, chlorure mercurique, ampicilline, chloramphénicol, tétracycline, streptomycine, et sulfonamides, le mécanisme a ce jour a été codé sur PMG101 de *Salmonella enterica serovar Typhimurium* (GailLarkin Mchugh et Al., 1975).

Duràn et al, 2016dit que Grave et ses collègues ont été test é la bactérie E. coli et trouvé qu’après plus de 200 générations d’exposition aux nanoparticules, l’analyse du génome ont montré qu’après 100 générations, les changements associés à l’argent résistance aux nanoparticules ont été observées, par 200 générations trois mutations sont apparues à haute fréquence dans l’argent stocks résistants aux nanoparticules.

7. La synergie AgNPs antibiotique

Zou et d’autres groupes ont déjà constaté que le 2-phényl-1,2 benzisoselenazol-3 (2H) - One (EBSELEN) est un composé effectif contre les agents pathogènes à gram-positif (y compris la mycobactérie de tuberculose de MDR) par ciblage de la thiorédoxine (TRX). En

outre, l'ajout d'argent a agi en synergie avec EBSELEN dans le traitement des infections causées par des agents pathogènes à gram-négatif MDR, l'ajout d'argent a agi en synergie avec l'ebselelen dans le traitement des infections causées par des pathogènes à Gram négatif multirésistants, dont cinq pathogènes à Gram négatif cliniquement les plus difficiles à traiter bactéries : *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ils ont appuyés le degré de synergie à 1h et 4h entre AG + et 4 antibiotiques (gentamicine, kanamycine, généticine et tétracycline) dans des combinaisons et les résultats ont montré que les antibiotiques Ag+ et 4 avaient effectivement des effets antibactériens synergiques contre E. coli (Zou et Al., 2018).

Partie 2

PARTIE EXPERIMENTALE

2.1 Matériel et Méthodes

Depuis quelques années, des chercheurs à travers le monde étudient la possibilité d'utiliser plutôt des organismes vivants comme bio-réacteurs pour synthétiser des NPs, par exemple des plantes ou des microorganismes. Cette façon de fabriquer des NPs deviendrait alors une biosynthèse verte (**Bonnet et al., 2013**).

Ce travail s'articulait sur la synthèse verte en utilisant différents procédés biologiques en vue de comparer effet antibactérien des nanoparticules d'argent synthétisés

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université 08 mai 1945 de Guelma.

1. Matériel utilisé

1.1 Matériel chimique

La première solution portant la référence 0.01g Cl7ml, 0.252 N, 1000 mg/l, a été fabriquée par la compagnie Schlumberger (Mi-SWACO) spécialisée dans le secteur de pétrole et d'énergie.

La deuxième 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.

Les deux solutions sont disponibles au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université 08 mai 1945 de Guelma.



Figure 8 : 1er solution de AgNO_3

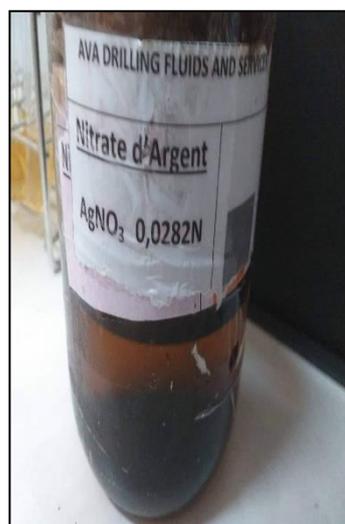


figure 9 : 2eme solution de AgNO_3

[Source : Prise personnel, 2022]

1.2. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans le présent travail, comporte les glands de chêne récoltés de la forêt de HOUARA de la région de Guegba wilaya de Guelma.



Figure 10 : Forêt de HOUARA.

[Source : Prise personnel,2022]

Les souches bactériennes utilisées sont des espèces Gram négatives et Gram positives, pathogènes et multirésistantes obtenues de l'hôpital Ibn Zohr, laboratoire du Dr Chaibderaine et laboratoire du Dr Khelifa sont conservées dans le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers à l'université 8 mai 1945 Guelma. Les caractéristiques de lespèces pathogènes utilisées sont représentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Souches cliniques pathogènes étudiées.

Gram	Germes	Prélèvement	Laboratoire
G(-)	<i>Klebsiella</i> sp	Urine	Dr Khelifa
G(-)	<i>E. coli</i>	Urine	Dr Chaibderaine
G(-)	<i>Klebsiella</i>	Urine	Dr Chaibderaine
G(+)	<i>Staph</i> sp	Pus	Dr Chaibderaine
G(-)	<i>E. coli</i>	Urine	Ibn Zohr

2. Méthodes d'études

2.1. Préparation de l'Amande de glands de chêne vert

L'essai d'obtention de la poudre d'adsorbant à partir de l'amande de gland de chêne vert se fait selon l'organigramme présenté dans la figure.

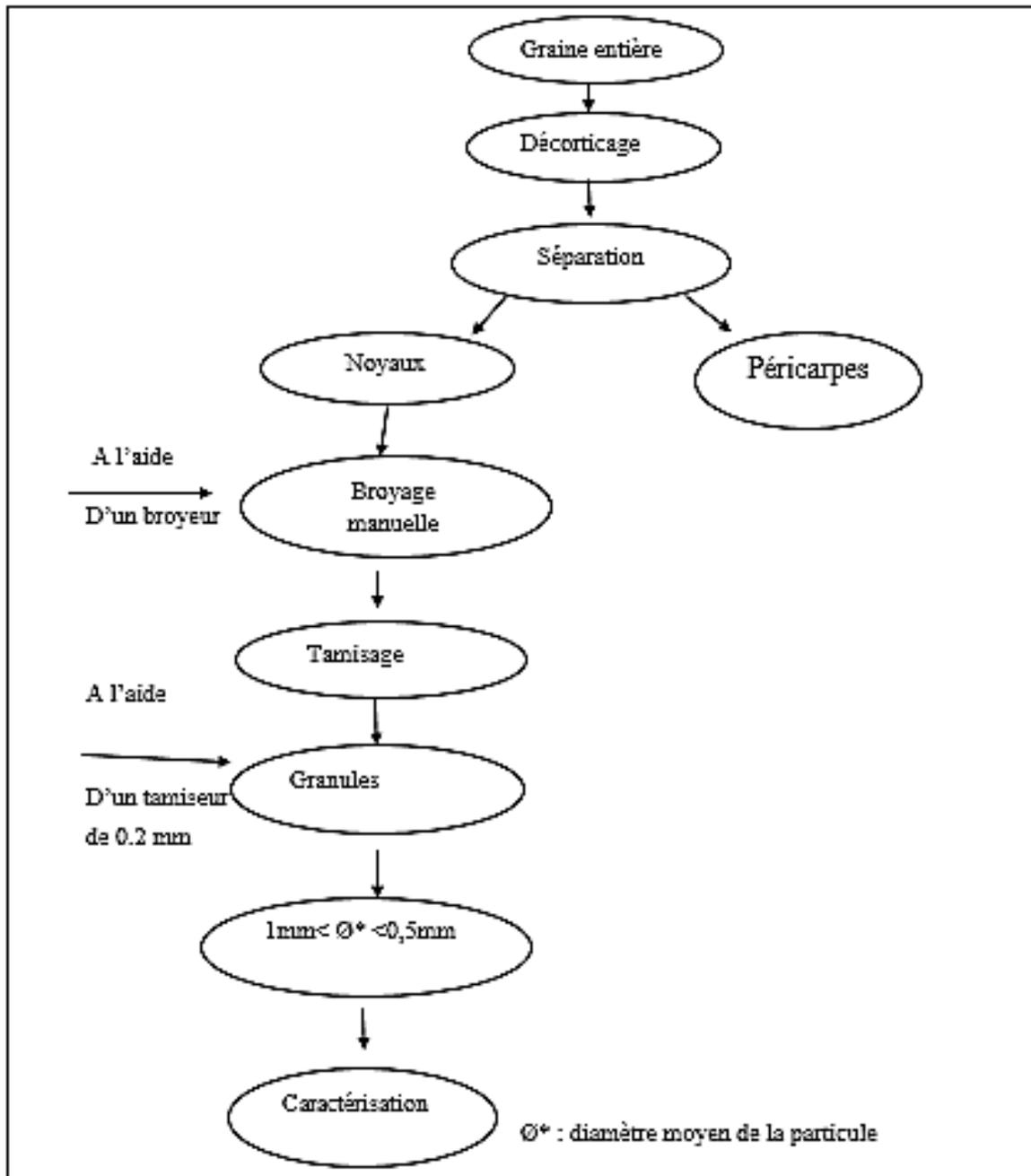


Figure 11 : Préparation d'adsorbant à partir de l'amande de glands de chêne vert afin d'obtenir l'adsorbant approprié.

Les graines des glands de chêne subissent :

- ✓ **Un décortiquage** : qui sert à séparer les deux parties de la graine, le Péricarpe et le noyau
- ✓ **Un broyage** : L'Amande de glands de chêne vert et broyer à l'aide d'un broyeur
- ✓ **Un tamisage** : par l'utilisation d'un tamiseur de 0.2 millimètre. La poudre récupérée dans des boites pour l'utilisation.



Figure 12 : Présente le décortiquage, le broyage, le tamisage des glands de chêne.

[Source : Prise personnel,2022]

2.2. Préparation des extraits biologiques des glands de chêne

➤ **Extrait hydroalcoolique**

Une masse de 1g de poudre de chêne a été mélangé avec 50ml d'éthanol à 70% est maintenue sous agitation continue pendant 24 heures. Le mélange a été centrifugé à 5000 tr/min pendant 30 min. L'extrait phénolique a été récupéré et conserve à froid (+4C°) jusqu'à son utilisation (Alili et Salhi., 2019).



Figure 13 : technique de macération.



Figure 14 : L'extrait après centrifugation.

[Source : Prise personnel,2022]

➤ **Par fusion**

Deux cuilières de poudre de gland de chêne (30g) mélanger avec 250ml d'eau de robinet sur une plaque chauffante pendant 30min puis on a procédé à une filtration jusqu'à obtention d'un extrait claire.



Figure 15 : le mélange sur la plaque chauffante .

Figure 16 : La filtration.

Figure 17 : L'extrait après filtration.

[Source : Prise personnel,2022]

➤ **Par soxhlet**

On a mis 28g de poudre de glands de chêne dans l'appareil avec 100ml d'eau distillée aux bouts de 2h on a pu récupérer notre extrait clair.



Figure 18 : l'appareil de soxhlet

[Source : Prise personnel,2022]

3. Synthèse biologique des nanoparticules d'argent

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

3.1 Réduction des ions d'argent présent dans la solution d'AgNO₃

Pour réduire les ions Ag⁺ présents dans la solution de nitrate d'argent, une quantité égale d'extrait a été ajoutée goutte à goutte à l'obscurité en utilisant la chambre noire, de sorte que la concentration finale de la solution reste la moitié.

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 (AgNO₃) dans chacun des quatre tubes qui restent.

Ensuite, on additionne les 5 ml de chaque extrait goutte à goutte aux tubes de (AgNO₃) qui correspondent à l'aide d'une ampoule dans une chambre noir.

Puis, le mélange réactionnel a été incubé à température ambiante dont la formation d'AgNPs a été détectée visuellement par changement progressif de la couleur du mélange. La même démarche est utilisée pour tous les extraits avec une concentration de AgNO₃ défferante.

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 (**Kaushik et al., 2014 ;2015**).

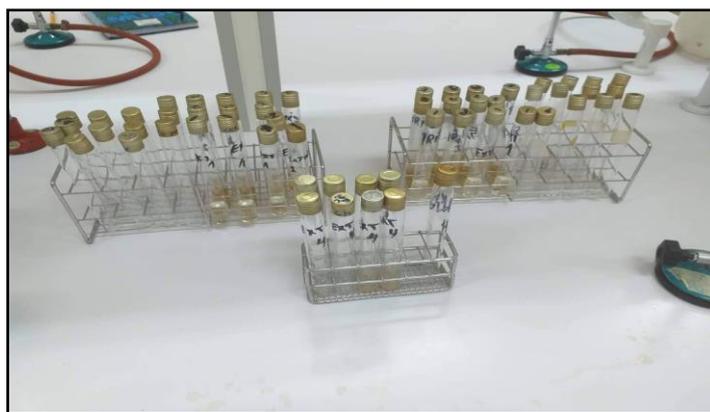


Figure 19 : Préparation des huit tubes pour la réduction des ions d'argent.

[Source : Prise personnel,2022]

3.2. Caractérisation des AgNPs

La bio-réduction des ions Ag⁺ pures a été suivie et contrôlée par absorption àUV-visible, en scannant l'extrait brut avant l'addition des nanoparticules et après changement de couleur à des temps différents t=0h et t=24h du mélange réactionnel dans la plage de longueurs d'onde de 200 à 800 nm, avec une cuvette de quartz de longueur de trajet de 1 cm (Dipankar et Murugan, 2012; Elangovan *et al.*, 2015; Melisa *et al.*, 2016; Soshnikova *et al.*, 2017;Muthuraman *et al.*, 2018).

4. Etude bactériologique

Objectif est de déterminer s'il y a un effet inhibiteur des AgNPs biosynthétisés ou cet effet est due à la présence d'une solution ou produit implique dans la synthèse. Ainsi, une diffusion sur gélose MH a été réaliser en utilisant les souches *E. coli*, *Staphylocoque* sp, *Klebsiella*, toutes en suivant le même principe que celui d'antibiogramme.

Après ensemencement de la gélose, des disques de papier Whatman stériles ont été appliqués à l'aide d'une pince. Ensuite les disques sont imbibés séparément de 50µl de chacune des solutions suivantes : AgNO₃, AgNPs, Alcool et eau distillée comme contrôle négatif.

4.1 Repiquages des souches bactériennes

Pour chacune des souches obtenues, un repiquage a été réalisé à partir du milieu de conservation puis incubé pendant 24 heures à 37°C.

Après 24 heures d'incubation, les différentes souches ont été ensemencée sur gélose nutritive et des milieux spécifiques de culture, par la méthode des stries, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et pure des souches bactériennes à étudier servant à préparer d'éventuel inoculum bactérien. Les milieux spécifiques utilisés à cet effet sont :

- Gélose Mac conkey : pour l'isolement des souches *E.coli*.
- Gélose Hektoen : pour les souches *Klebsiella*.
- Gélose Chapman : pour la souche *Staphylococcus*.

4.2 Antibiogramme

Les antibiotiques utilisés sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Liste des antibiotiques utilisés et leur charge.

Antibiotiques utilisés	Code	Charge des disques
Amoxicilline	AMX	30µg
Gentamicine	GEN	10µg
Pénicilline	P	10µg

4.2.1 Principe

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton.

Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits (**Bonnet et al., 2013**).

4.2.2 Préparation de l'inoculum bactérienne

À partir d'une culture fraîche de 18 à 24 heures, quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine puis immerger dans de l'eau physiologique stérile à 0.9% jusqu'à l'obtention d'une charge bactérienne de l'ordre de 0,5 Mc Farland ($\approx 1 \times 10^8$ CFU/mL), équivalente à une densité optique de 0.08 à 0.1, lue à 625 nm contenant environ 10^8 bactéries par ml. L'ensemencement a été effectué dans les 15 minutes qui ont suivi la préparation de l'inoculum [1].

4.2.3 Ensemencement

Le milieu Mueller-Hinton est fondu dans un bain-marie et ramené en surfusion puis coulé dans des boîtes de pétri. Après solidification, la surface de la gélose est ensemencée par des stries serrées, à l'aide d'un écouvillon stérile légèrement imbibé de suspension bactérienne. Cette opération est répétée 3-4 fois en tournant la boîte à 60°C (trois directions) (**Bull, 1993 ; Clin, 1996**).

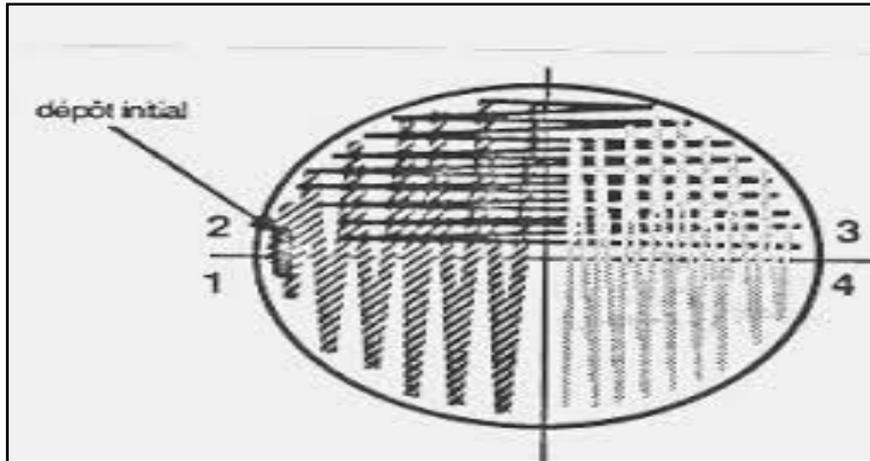


Figure 20 : Ensemencement selon la technique des 4 séries de stries.

4.2.4 Application des disques d'antibiotique

Les disques d'antibiotiques, choisis explicitement en fonction de la nature du germe, ont été déposés sur la gélose MH ensemencé, à l'aide d'une pince stérile. Ensuite les boîtes ont été incubées dans l'étuve à 37o C pendant 24 heures.

La lecture des résultats se fait par la mesure (en mm), à l'aide d'une règle, le diamètre d'inhibition caractérisé par une zone dépourvue de croissance bactérienne autour du disque [1].



Figure 21 : Application des disques d'antibiotique sur la gélose MH.

5. Etudes de l'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent biosynthétise

L'effet antibactérien des AgNPs a été évalué selon la méthode de diffusion sur gélose

- Nanoparticules d'argent biosynthétisés.
- L'association Antibiotique-Nanoparticules d'argent biosynthétiser.
- L'association Antibiotique-Nitrate d'argent
- L'association Antibiotique-extrait.
- Les trois types extraits.
- Alcool.
- Antibiotique.

5.1 Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier Wattman. A l'aide d'un emporte-pièce, le papier wattman a été découpé en des disques de 6 mm de diamètre. Par la suite, ces disques sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave à 120 °C pendant 20 minutes.



Figure 22 : Disque de 6 mm de diamètre

[Source : Prise personnel, 2022]

5.2 Association antibiotique-nanoparticules d'argent

Cette méthode, appliquée dans plusieurs études (Birla *et al.*, 2008 ; Singh *et al.*, 2013 ; Naqvi *et al.*, 2013) présente une grande similitude avec la précédente. L'objectif visé était

d'évaluer la capacité des AgNPs à amplifier l'efficacité des antibiotiques vis-à-vis des souches testées.

Pour cette étape, toutes les souches ont été testées avec trois antibiotiques : L'Amoxicilline (AMX), la Gentamicine (GEN) et la Pénicilline(P)

5.2.1 Méthode

Après avoirensemencé l'inoculum bactérienne de chacune des souches sur différentes boites contenant la gélose MH, des disques de papier wattman y ont été déposés puis imbibés de 0.05 ml (50µl) de AgNPs. En guise de contrôle, chaque disque a été déposé en double sur la gélose. Le second, n'ayant pas été imbibé de nanoparticules, servait de contrôle négatif pour une éventuelle évaluation de l'accroissement de la zone d'inhibition induit par l'effet des nanoparticules. Puis les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Le même principe est utilisé pour association des antibiotiques avec le nitrate d'argent.

5.3 Evaluation de l'accroissement de la zone d'inhibition :

Après 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibition, générées par les antibiotiques seul ainsi que les associations Antibiotique-AgNPs, l'association Antibiotique-Nitrate d'argent et l'association Antibiotique-extrait, ont été mesurés.

L'accroissement du diamètre d'inhibition liée à l'effet combinatoire des antibiotiques et nanoparticules d'argent a été évalué selon la formule : $(b^2 - a^2) / a^2$ où « a » représente le diamètre de la zone d'inhibition générée par l'antibiotique seul (A) et « b » représente celui généré par le disque d'antibiotique imbibé de AgNPs (B) (Birla et al., 2008).

2.2 Résultats et Discussion

Résultats et Discussion :

1. L'obtention des extraits

1.1 Mélange 1 (extrait hydroalcoolique +AgNO₃)

La couleur de la solution change de façon distincte du clair vers le gris clair, après 24 heures de l'ajout de l'extrait de glande de chêne à base d'alcool surgit la formation des AgNPs.



Mélange 1 : à t= 0h



Mélange 1 :après 24h

Figure 23 : Image représentant le virage de couleur du mélange 1.

[Source : Prise personnel,2022].

1.2 Mélange 2 (extrait par fusion +AgNO₃)

Après l'ajout de la fusion de glande de chêne au AgNO₃, la couleur de la solution vire du jaune clair vers le marron foncé après 24h indiquant la réduction des cations d'argent et la formations d'AgNPs dans la solution.



Mélange 2 : à t=0h



Mélange 2 : après 24h

Figure 24 : Image représentant le virage de couleur du mélange 2.

[Source : Prise personnel,2022].

1.3 Mélange 3 (extrait par SOXHLET +AgNO₃)

Nous avons additionné de l'extrait clair au nitrate d'argent, après 24h nous observons un changement de couleur vers le brun clair qui résulte probablement de la formation de nanoparticules.



Mélange 3 : à t= 0h



Mélange 3 : après 24h

Figure 25 : Image représentant le virage de couleur du mélange 3.

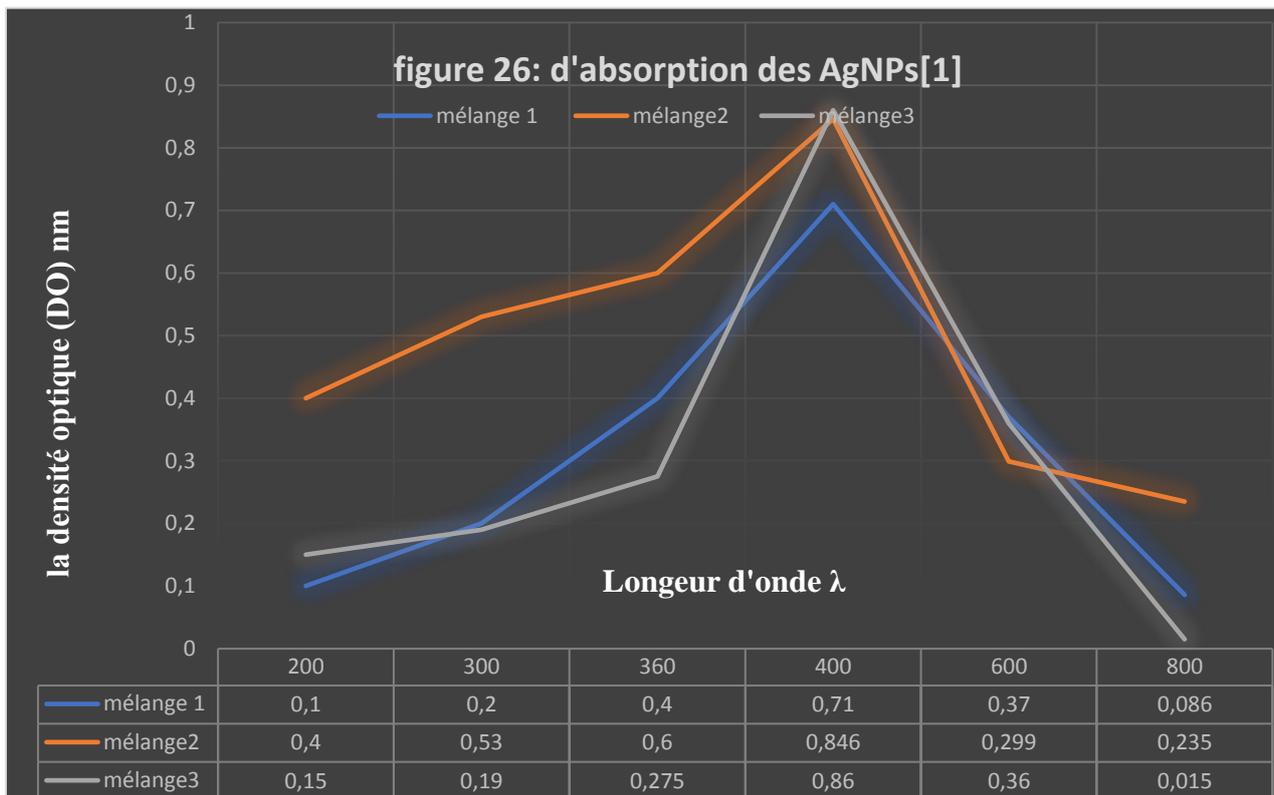
[Source : Prise personnel, 2022].

L'observation visuelle ne permet pas de confirmer la formation de nanoparticules, alors nous avons fait appel à des techniques plus spécifiques que nous allons voir.

2 Caractérisation par UV-visible

Les résultats de l'absorption des UV visible par les nanoparticules bio synthétisés à partir de la première solution de AgNO₃ et les trois extraits, sont représentés par la courbe N°.

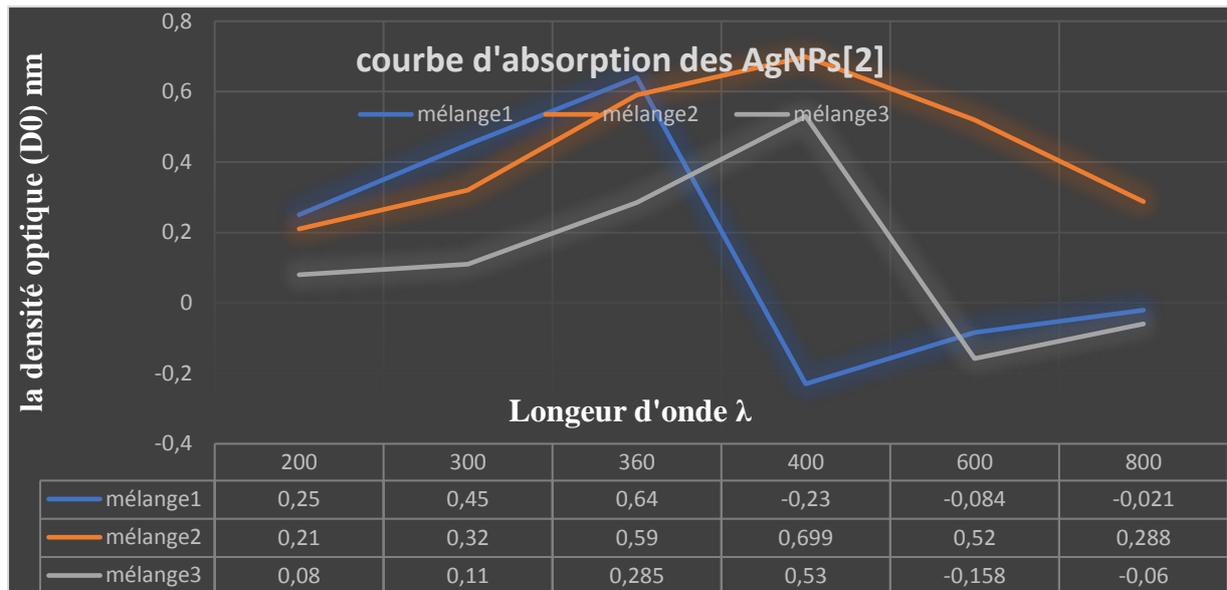
Pour les valeurs supérieures à 1 nous avons réalisé des dilutions (pour l'extrait N°3 nous avons fait une dilution au facteur 1/4).



Extrait 1 : extrait hydroalcoolique : Extrait 2 : extrait par fusion
; Extrait 3 : extrait par soxhlet.

Les résultats de l'absorption des UV visible par les nanoparticules bio synthétisés à partir de la deuxième solution de AgNO_3 et les trois extraits sont représentés par la courbe N°.

Pour les valeurs supérieures à 1 nous avons réalisé des dilutions (l'extrait N°2 nous avons fait une dilution de 1/10 et pour l'extrait N°3 une dilution au facteur 1/5).



La formation de nanoparticules d'argent peut être contrôlée à la fois par un changement visible de couleur et quantitativement par mesure des spectres UV-Vis.

Le mélange 1 nous observons un changement de couleur après 24h du clair vers le gris clair, le mélange 2 du jaune clair vers le marron foncé et le mélange 3 du clair vers le brun clair.

Une absorption maximale est observée à $\lambda = 400$ nm et $\lambda = 360$ nm. Lorsque ce maximum se situe entre 400 et 450 nm, les nanoparticules sont de géométrie sphérique ou proche d'une sphère (**Lanone, et Boczkowski, 2010**).

Sur la base de la théorie de Mie, des petites nanoparticules d'Ag isotopiques de forme sphérique donnent une seule bande symétrique d'absorption SPR dans la gamme des longueurs d'onde comprises entre 350 et 500 nm avec un pic centré à environ 410 nm (**Ider, 2017**).

Pour la concentration de AgNO_3 (0.252 N) nous observons une absorption maximum de AgNPs qui varie entre 0,71 et 0,86 à $\lambda=400$ nm.

Par contre pour une concentration de AgNO_3 (0.0280N) nous observons une absorption maximale des AgNPs qui varie entre (0,53 et 0,69) du mélange 2 et 3, par contre l'absorption maximale du mélange 1 est égale à 0,64 pour $\lambda=360$ nm.

Deux concentrations représentatives d' AgNO_3 (0.252N, 0.028N) ont été choisies pour étudier leur influence sur la formation des nanoparticules d'argent. Les figures (26 et 27) montrent les spectres d'absorption UV-Vis obtenus. On peut clairement observer que plus la concentration d' AgNO_3 est élevée, plus le pic d'absorption devient plus intense. Ceci reflète le fait que la réduction des ions argent aux atomes d'argent a augmenté et a entraîné une augmentation dans la concentration de nanoparticules d'argent formées en solution. Ces résultats concordent bien avec les résultats de Ider en 2017 et ceux de Yousfi et Mattalah en 2021.

Le tableau 5 présente les valeurs d'absorption des extraits et des AgNO₃ où nous avons observé une absorption maximum de AgNPs.

Tableau 5 : Les valeurs d'absorption des extraits et des AgNO₃

	Extrait1	Extrait 2	Extrait2 1/10	Extrait 3	Extrait 3 ¼	Extrait 3 1/5	AgNO ₃ [1]	AgNO ₃ [2]
$\lambda = 400\text{nm}$	0.131	0.40	0.189	0.35	0.208	0.120	0.174	0.063
$\lambda = 360\text{nm}$	0.145	-	-	-	-	-	-	0.048

Nous observons que les pics d'absorption des trois mélanges ainsi que les pics d'absorption des solutions de nitrate d'argent sont inférieurs aux pics d'absorption des nanoparticules biosynthétisées.

3. Antibiogramme

Après 24 heures d'incubation de la culture bactérienne en présence des ATBs soigneusement sélectionnées selon les souches, des zones d'inhibition caractéristiques de l'effet de ces ATBs sont apparues. La mesure du diamètre de ces zones nous donne les résultats consignés dans les tableaux 6, 7 et 8. Selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM), nous avons pu classer les bactéries dans l'une de ces catégories suivantes : Sensible- Résistante –Intermédiaire (Joffin et Leyral, 2003).

Tableau 6 : Antibiogramme de la souche *Staphylococcus sp*

<i>Staphylococcus sp</i>			
ATB	Diamètre d'inhibition	Diamètre critique	Interprétation
Oxa	6	10_13	R
Pén	6	28_29	R
Ami	18	14_17	S
Gen	6	12_15	R
Ery	6	13_23	R
Tét	20	14_19	S
Tri + Sul	6	12_16	R
Cip	6	14_18	R

Van	S	S	S
Acide Fucidique	R	R	R

(R) : Resistance ; (S) : Sensible ;(I) : Intermédiaire.

Tableau 7 : Antibiogramme de souche *Escherichia coli*. (1)

<i>Escherichia coli</i>			
ATB	Diamètre d'inhibition	Diamètre critique	Interprétation
Amp	6	14_18	R
Céfa	6	18_23	R
Céfo	6	22_26	R
Imi	20	14_18	S
Gen	6	12_15	R
Ami	17	13_17	S
Sulf + Tri	6	10_16	R
Cip	22	15_21	S
Col	S	S	S

Tableau 8 : Antibiogramme de souche *Escherichia coli*. (2)

ATB	Diamètre d'inhibition	Interprétation
Amx	6	R
Atm 30	6	R
Cf	6	R
Caz 30	6	R
Amc	6	R
Col10	12	S
Cz30	16	S
Lvx	30	S
Ipm10	22	S
Nal 30	21	S
Km 30	18	S

Tableau 9 : Antibiogramme de souche *Klebsiella sp(1)*

<i>Klebsiella sp</i>			
ATB	Diamètre	Diamètre critique	Interprétation

	d'inhibition		
AMP	6	14_18	R
CéFA	18	18_23	I
CéFO	27	22_26	S
IMI	20	14_18	S
GEN	16	12_15	S
AMI	17	13_17	S
SUL+ TRI	6	10_16	R
CIP	22	15_21	S
COL	S	S	S

Tableau 10 : Antibiogramme de souche *Klebsiella* (2)

<i>Klebsiella</i>		
ATB	Diamètre d'inhibition	Interprétation
* Augmentin	10	I
* Ampicilline	6	R
Sulfamides(Bactrim)		
*Trim+Sulf	6	R
Cephalosporines		
*Cefazoline1G (cefacidal)	6	R
*Cefuroxime 2G (Zinnat)	6	R
*Cephalexine 1G (Keforl)	15	S
*Cefoxitime 2G	14	I
*Cefotaxime 3G (claforan)	20	S
*Cefixime 3G (Oroken)	15	S
*Ceftriaxone	16	S
Aminosides		
*Gentamycine	16	S
Quinolones		
*AcNalidixique	6	R
Carbapenemes		

*Imipénème	36	S
Fluoroquinolones		
*Ciprofloxacine	6	R
Polymixines		
*Colistine	10	I

La souche pathogène de *Staphylococcus sp est* multi résistante à sept des dix antibiotiques testés à l'exception de l'amikacine, la tétracycline et la vancomycine.

La souche *E.colie* st multi résistante à cinq des neufs antibiotiques testés à l'exception de l'imipénème, l'amikacine , la ciprofloxacine et la colistine.

La deuxième souche *E.coli* est multi résistante à cinq des onze antibiotiques testés à l'exception de la kanamycine, cefazoline, lévofloxacine, imipénème, nalidixicacid et la colistine.

La première souche *klebsiella sp* est multi sensible à six antibiotiques testés à l'exception de l'ampicilline et la sulfaméthoxazol + triméthoprime par contre elle est intermédiaire à la céfazoline.

La deuxième souche de *klebsiella* est multi résistante à six antibiotiques testés à l'exception de la cephalexine, lacefotaxime 3G (claforan), lacefixime 3G (oroken), ceftriaxone et la gentamycine.

On remarque que la plupart des souches étudiées sont résistantes aux antibiotiques les plus fréquemment utilisés.

5. Etude de l'activé antimicrobienne :

5.1'activité antibactérienne des nanoparticules d'argent

La diffusion sur gélose de différents composants impliqués dans la synthèse des AgNPs montre, après 18 à 24 h d'incubation, une croissance bactérienne autour du disque imbibé d'eau distillée. En outre, des zones d'inhibition ont été observées autour des disques contenant le nitrate d'argent, l'alcool et les nanoparticules d'argent (Fig.28).

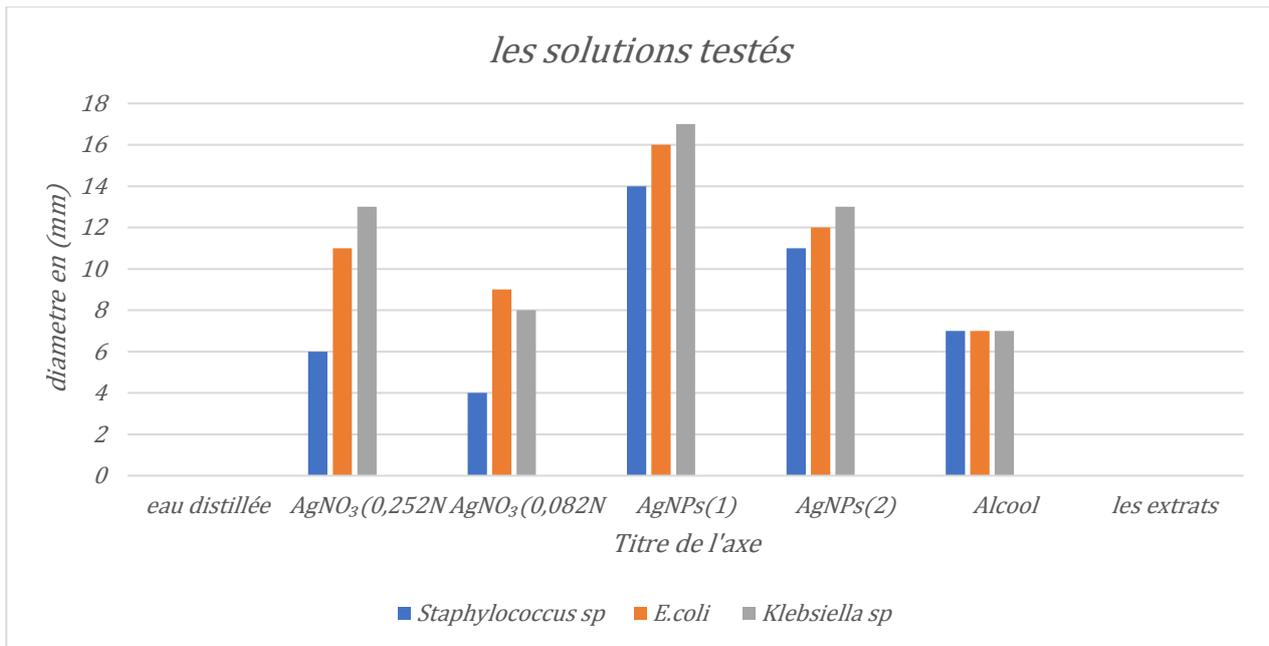


Figure 28 : Histogramme illustrant l'effet caractéristique des nanoparticules d'argent

La figure N°28 montre une différence de l'effet antibactérien de chacune des substances impliquées dans la synthèse des nanoparticules d'argent. Nous observons que les disques imbibés d'eau distillée et des extraits ne donnent aucune zone d'inhibition de la croissance bactérienne. Par contre une zone d'inhibition d'un diamètre de 6,11 et 13mm selon les souches est observée autour du disque contenant la solution d'AgNO₃ (0.252N) et une zone de 4,11 et 12 mm de diamètre autour des disques contenant la solution d'AgNO₃ (0.0282N). Cette zone d'inhibition est encore plus grande (12,16 et 17 mm de diamètre) autour des disques contenant la solution des AgNPs (A) et de 12,13 et 14 de diamètre autour des disques contenant la solution des AgNPs (B). Une zone de 7 mm autour du disque contenant l'alcool est observé pour toutes les souches testées.

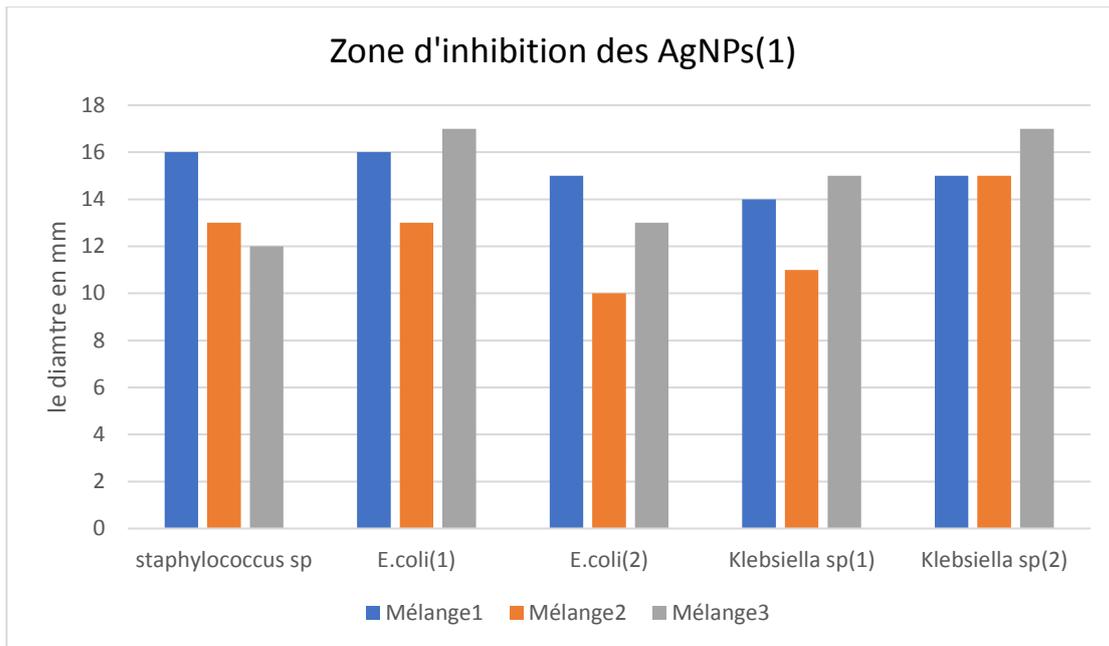


Figure 29 : Histogramme illustrant l'effet anti bactérien des AgNPs (1)

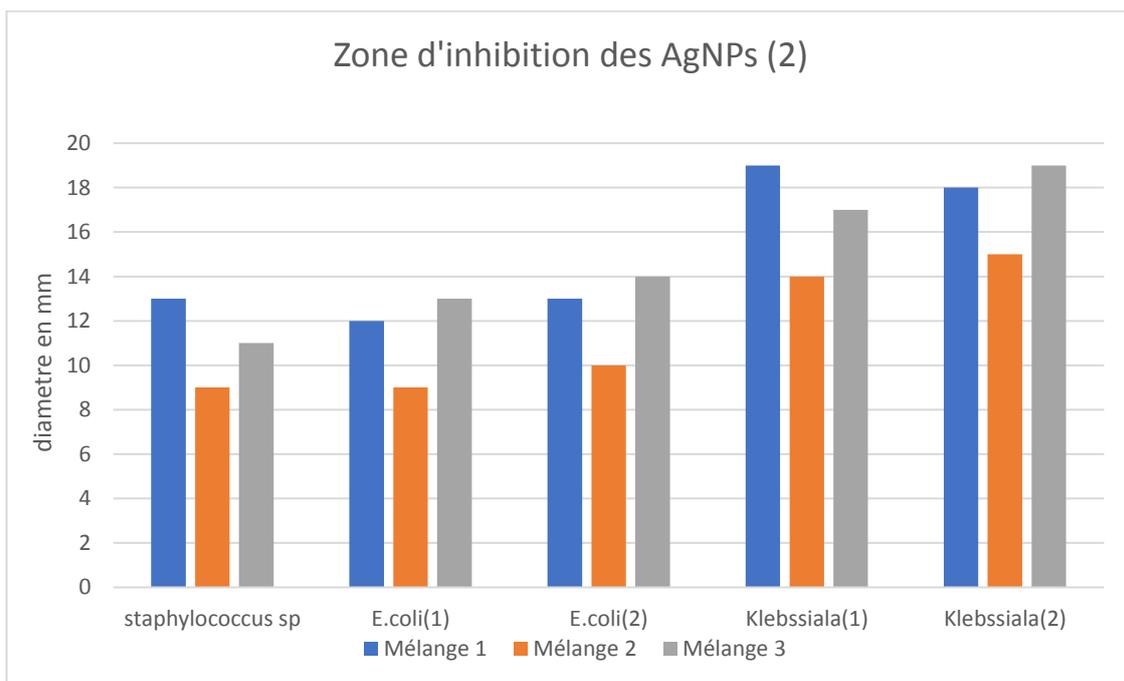


Figure 30 : Histogramme illustrant l'effet anti bactérien des AgNPs (2)

D'après les figures 29 et 30 nous constatons que plus l'extrait moins concentré plus l'effet antibactérien des nanoparticules biosynthétisées est augmenté et vice-versa.

5.2 Effet combinés de l'association ATB-AgNPs

Dans cette étude, trois antibiotiques sélectionnés ont été testés vis-à-vis des deux (2) souches cliniques. La mesure du diamètre des zones d'inhibition générées, après 24h

d'incubation, par les différents ATBs seuls ainsi que par leur association avec 50µl d'AgNPs (1) suivie d'une évaluation de l'agrandissement de ces diamètres nous donne les résultats consignés dans les tableaux 11.

Tableau 11 : Effet des antibiotiques associés aux AgNps vis-à-vis des souches cliniques

	<i>Staphylococcus sp</i>			<i>E.coli</i>		
ATB	A	B	C	A	B	C
GEN	6	19	9.02	6	16	6.11
AMX	6	23	13.69	6	18	8
P10	6	17	7.02	6	20	10.11

Note :(A) : Diamètre (en mm) de la zone d'inhibition de l'ATB.

(B) : Diamètre (en mm) de la zone d'inhibition de l'association ATB-AgNPs.

(C) : Accroissement du diamètre de la zone d'inhibition = $(B^2 - A^2) / A^2$

Les trois antibiotiques testés qui sont la gentamicine, l'amoxicilline et pénicilline G, ont montré une augmentation considérable de la zone d'inhibition lorsqu'ils sont associés aux AgNPs et ce vis-à-vis des deux souches cliniques.

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans notre travail nous avons pu démontrer que plus la concentration d'AgNO₃ est élevée, plus le pic d'absorption des nanoparticules biosynthétisées devient plus intense, et que le spectre d'absorption varie entre 350 et 500 nm avec un pic autour de 410 nm pour la nanoparticule synthétisée à partir des extraits de plantes. Ces nanoparticules sont de géométrie sphérique ou proche d'une sphère (**Lanone, et Boczkowski, 2010**). Ces résultats concordent bien avec les résultats de Ider en 2017 et ceux de Yousfi et Mattalah en 2021.

Nous constatons aussi que plus l'extrait est moins concentré plus l'effet antibactérien des nanoparticules biosynthétisées est augmenté et vice-versa.

Au terme de cette étude nous avons appliqué la solution de nanoparticules sur trois antibiotiques (amoxicilline, gentamicine et la pénicillineG) afin de déterminer leur activité synergique vis-à-vis des différentes souches bactériennes. Les résultats obtenus (Tab. 11) ont confirmé que toutes les bactéries qui étaient normalement résistantes aux trois ATBs (AMX, GEN ET P10), se sont avérées sensibles à ces antibiotiques en présence d'AgNPs avec un accroissement assez significatif de la zone d'inhibition allant de 6.11 à 13.69 (9.9 en moyenne).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Alili C., Salhi k., (2019).** Etude de la distribution des insectes en relation avec la composition des glands de chêne vert dans quelques yeuseraies de la région de Bouira. Mémoire de Master. Université Akli Mohand oulhadj-Bouira. P 73.
- **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.
- **Birla S.S., Tiwari V.V., Gade A.K., Ingle A.P., Yadav A.P., Rai M.K., (2008).** Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Lett Appl Microbiol*.
- **Boussena S., (2020).** Manuel des Travaux de Bactériologie. Institut des sciences Vétérinaires. Université des Frères Mentouri 1.
- **Bouyahya. A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- **Brun-Buisson C., (2015).** Le dépistage des porteurs de bactéries multirésistantes : chez quels patients ? *Réanimation*. 24(2), 304-314.
- **Calugaru V., Magné N., Hérault J., Bonvalot S., Le Tourneau C., Thariat J., (2015).** Nanoparticules et radiothérapie. *Bull Cancer* ; 102: 83–91.
- **Chaudhary R., Nawaz K., Komal Khan A., Hano C., Abbasi B H., Anjum S., (2020).** An Overview of the Algae-Mediated Biosynthesis of Nanoparticles and Their Biomedical Applications. 10. 1498.
- **Chauvel R., (2018).** Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculté de pharmacie université claud bernard lyon 1,105p.
- **CHAUVEL Romain., (2018).** Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thé. Doc. Phar.
- **Chuto G, Chaumet-Riffaud, le Groupe Oncologie de (SFMN). (2010).** Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire* 34,370–376.
- **Claude Ostiguy., Brigitte Roberge., Catherine Woods., Brigitte Soucy. (2010).** Les nanoparticules de synthèse Connaissances; actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST. *Études et recherches*, 2^e édition.

- **Courvalin P., Carlier C., (1981).** Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Suppl, A 57-69.
- **De Lima R., Seabra, A. B., & Durán N., (2012).** Silver nanoparticles: a brief review of cytotoxicity and genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. *Journal of applied toxicology: JAT*, 32(11), 867–879.
- **De Liz R., Leonardi L R A., Goncalves D., Denis G., (2018).** Etude des propriétés pro-inflammatoires des nanoparticules d'argent chez les neutrophiles humains. 8^e édition, Congrès Armand-Frappier.
- **Diallo Y., Kante S., (2019).** Activité antibactérienne des nanoparticules d'argent. Mémoire de Master. Université de Guelma, Algérie. P85.
- **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.
- **Dos Anjos Gomes da Silva A. L., (2017).** Étude de la toxicité des nanoparticules d'argent et d'oxyde de titane pour *Chlamydomonas reinhardtii*. (Thèse de doctorat, Université de Québec Montréal).
- **Dubey P., Matai I., Uday Kumar., Sachdev A., Bhushan B., Gopinath. (2015).** Perturbation of cellular mechanistic system by silver nanoparticle toxicity: Cytotoxic, genotoxic and epigenetic potentials. *Advances in colloid and Interface Science* 221 4-21.
- **Durán N, Durán M, de Jesus M B, Seabra, Fàvaro J W, Nakazato G, (2016).** Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 12; 789-799.
- **Elangovan K., Elumalai D., Anupriya S., et al. (2015).** Phyto mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Andrographis echinoides* 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.
- **Elechiguerra L. J., Burt J. L., Morones R. J., Bragado C. A., Gao X., Lara H., Miguel Jose Yacaman. (2005).** Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of Nanobiotechnology*. 3-6.

- **Faure S., (2010).** Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique. (Thèse de doctorat, Université Rennes 1).
- **Françoise Van Bambeke., Tulkens P., (2010).** Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse 1. Antibiotiques 2. Antifongiques. (Thèse de doctorat, Université catholique de Louvain).
- **GailLarkin Mchugh., Moellering R.C., Hopkins C.C., Swartz M.N., (1975).** SALMONELLA TYPHIMURIUM RESISTANT TO SILVER NITRATE, CHLORAMPHENICOL, AND AMPICILLIN: A New Threat in Burn Units? Volume 305, Issue 7901, 235-240
- **Gajbhiye M., Kesharwanki J., Ingle A., Gade A., Rai M., (2009).** Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 5 382–386.
- **Geneviève Nicolet., T Rochat., Zellweger J.P., (2003).** Traitement de la tuberculose. *Forum Med Suisse* 3 (22), 506-16.
- **Goutayer M., (2008).** Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques ; étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence in vivo. (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie).
- **Guilger-Casagrande M., Renata de Lima., (2019).** Synthesis of Silver Nanoparticles Mediated by Fungi: A Review. *Front Bioeng Biotechnol.* 22; 7:287.
- **Guilleux C., (2017).** Prise en charge de l'argent dissous et nanoparticulaire par des liposomes et par une chaîne trophique simple. (Thèse de doctorat, Université du Québec).
- **Habibi B., Hayoun S., Soualhi M., Benamor J., Zehraoui R., Bourkadi J.B., (2017).** Profil épidémiologique, clinique, thérapeutique et évolutif des patients atteints de tuberculose multirésistante : à propos de 110 cas. (L'expérience du service de pneumophtisiologie de l'HYM de Rabat). *Revue des Maladies Respiratoires.* Volume 34: Page A17. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2016.10.037>.
- **Hemmerlin M., (2018).** Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle: *Synechococcus elongatus* PCC 7942. (Thèse de doctorat, Université de lorraine).

- **Howe P.D., Dobson S., World Health Organization. (2002).** *Silver and silver compounds: environmental aspects*. World Health Organization.
- **Hulkoti I.N., Taranath T C., (2014).** Biosynthesis of nanoparticles using microbes—A review. *Colloids and surfaces*. 121. 474-483.
- **Hun lee S., Bong-Hyn J., (2019).** Silver nanoparticles: Synthesis and application for Nanomedicine. *Int. J. Mol. Sci.* 20 865.
- **Jarvinen H., Tenovuo J., Huovinen P., (1993).** In vitro susceptibility of Streptococcus mutans to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents Chemother.* 37(5), 1158-1159.
- **Ider Mina., (2017).** Elaboration et caractérisation des nanomatériaux à base de métaux nobles. Thés doctorat .Physique [physics]. Université du Maine, 2017. Français.115-116
- **Jonathan PIARD., ZIMMER S., Geoffroy CHUPIN., Corentin BON., Yannis CHEREF. (2016).** Synthèse et détermination de la taille de nanoprismes d'argent. Vol 110, 1339-1367
- **Kaushik R., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2015) a.** Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using potato (*Solanum tuberosum*)54 infusion. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular. Spectroscopy*; S1386-1425(15)00222 doi.org/10.1016/j.saa.2015.02.058.
- **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.
- **Khiev B., Veber B., (2010).** Patient BMR + : risques de contamination et prévention en préhospitalier et aux urgences. 52e congrès national d'anesthésie et de réanimation, rue de Germont, 76031 Rouen cedex.
- **Kim K.J., Sung W.S., Moon S.K., Choi J.S., Kim J.G., Lee D.G., (2008).** Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 1482–1484
- **Kumar S., Barth, A. 2010.** Following enzyme activity with infrared spectroscopy. *Sensors*, 10, 2626–2637. doi:10.3390/s100402626

- **Lanone S., Boczkowski J., (2010).** Applications utilisant les nanotechnologies, par secteur d'activité Questions de santé publique, Franc, pp. 1-4.
- **Lin P.C., Lin S., Wang P C., Sridhar R., (2014).** Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnol. Adv*, 32, 711–726.
- **Loumé L., (2015).** Les nanoparticules d'Argent : quels risques pour la santé ?. *Sciences Avenir*.
- **Mangin L., (2018).** Antibiotiques et résistances: enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. (Thèse de doctorat, Université Lorraine).
- **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.
- **Mezghani Maalej S., Kassis M., Mahjoubi Rhimi F., Damak J., Hammami A., (2006).** Bactériologie des méningites communautaires dans la région de Sfax, Tunisie (1993-2001). *Médecine et maladies infectieuses* 36: 105–110.
- **Mijnendonckx K., Leys N., Mahillon J., Silver S., VAN Houdt R., (2013).** Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. *BioMetals* 26, 609-621.
- **Moussa H., (2016).** Influence de l'association de quantum dots ZnO avec des ions Cu²⁺ sur leur photo toxicité. Nouveau matériaux ZnO/rGO pour la photocatalyse solaire. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine
- **Muylaert A., Mainil J.G., (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.* ; 156 : 109- 123.
- **Naqvi H.S.Z., Kiran U., Ali M.I., et al., (2013).** Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria. *Int J Nanomedicine*; 8:3187-3195.
- **Nasrollahzadeh M., Mahmoudi-Gom Y., Motahharifar N., Ghafari Gorab M., (2019).** Recent Developments in the Plant-Mediated Green Synthesis of Ag-Based Nanoparticles for Environmental and Catalytic Applications ». *The chemical record.* ; 19(12) :1-45.
- **Neely A.N., Holder I.A., (1999).** Antimicrobial resistance. *Burns*, 25, 17–24.

- **Ophélie Z., (2008).** Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. (Thèse de doctorat en Physicochimie. Université Pierre et Marie Curie- paris VI).
- **Padget M., (2016).** Antibiotic resistance among children in low-income countries - Investigating community antibiotic consumption. Human health and pathology. (Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay, France).
- **Pantidos N., Horsfall E L., (2014).** Biological Synthesis of Metallic nanoparticules by Bacteria, Fungi and Plants. *J Nanomed Nanotechnol* 5:5 2-10.
- **Patry M., (2012).** SYTHESE ET CARACTERISATION D'UN MIROIR LIQUIDE A BASE DE NANOPARTICULES D'ARGENT. M.Sc. QUEBEC.
- **Peyrot C., (2012).** Effets des nanoparticules d'argent sur les processus enzymatiques des sols. (Thèse de doctorat, Université de Montréal).
- **Prateek M., Ramateke S., Jain N.K., (2018).** Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artificial cells nanomedicine and biotechnology journal*; doi.org/10.1080/21691401.2017.1414825.
- **Punjabi K., Choudhary P., Samant L., Mukherjee S., Vaidya S., Chowdhary A., (2015).** Biosynthesis of Nanoparticles: A Review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 30(1): 219-226.
- **Rafique M., Sadaf I., Rafique S., Bilal Tahir M., (2016).** A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.*, 45:1–20.
- **Rernard C., 2(007).** Propriétés mécaniques des nanotubes de carbone en tant que nanosondes et leur fonctionnalisation par bio-nanoparticules Thè Doc. N : 3455.
- **Reyes-Estebanez M., Ortega-Morales B.O., Chan-Bacab M., Granados-Echegoyen C., Camacho-Chab J.B., Pereañez-Sacarias J.E., Gaylarde C., (2018).** Antimicrobial Engineered Nanoparticles in the Built Cultural Heritage Context and Their Ecotoxicological Impact on Animals and Plants: A Brief Review. *Heritage Science*, 6 (1). 1-11.
- **Saadaoui M., (2008).** La fréquence des bactéries multi résistante a l'hôpital Hassan ii de Settat. (These de Doctorat, Université Mohammed V).
- **Saint-Etienne., (2009).** Mécanismes de croissance in situ et propriétés optiques de nanoparticules d'argent spatialement organisées dans des films diélectriques mésostructures. Thé. Doc Sci Phy.

- **Sedira S., (2014).** Etude et synthèse des nanostructures pour application en biomédicale et environnementale: cas de nanoparticules de ZnO, Ag et couches minces de type C-TiN. Thèse de doctorat en physique. Université de Constantine1, Algérie, 112p.
- **Singh R., Wagh P., Wadhvani S., et al., (2013).** Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics. *Int J Nanomedicine*. 2013; 8:4277-4290.
- **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.
- **Sylvie C., (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel*, Vol. 42.
- **Tolaymat T.M., El Badawy., A.M., Genaidy., A., Scheckel K.G., Luxton T.P., Suidan, M. (2010).** An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticles in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of the Total Environment*, 408(5), 999-1006.
- **Tran Q. H., Nguyen V.Q., Anh-Tuan Le., (2013).** Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 4 (3), 033001.
- **Trevor T., (2016).** Détermination du destin des nanoparticules d'argent dans les eaux usées et dans les biosolides en utilisant la microscopie en champ sombre et analyse hyperspectrale. (Thèse de doctorat, Université Montréal).
- **Vanessa Janin., (2018).** Evaluation de l'antibiothérapie au Centre Hospitalier de Neufchâteau (France) et à la Polyclinique du Sud de Marrakech (Maroc). (Thèse de doctorat, Université de lorraine).
- **Veysièrè A., (2019).** La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. (Thèse de doctorat, Université de Bordeaux).

- **Vincent J., (2004).** Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : des premiers indicateurs au Réseau d’alerte d’investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, n°. 32-33, 148- 151.
- **Vithiya K., Sen S., (2011).** BIOSYNTHESIS OF NANOPARTICULES. *IJPSR*. 2011, Vol. 2(11): 2781-2785.
- **Yezhelyev MV., Gao X., Xing Y., Al-Hajj A., Nie S., O’Regan RM., (2006).** Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *Lancet Oncol*; 7:657–67.
- **Zhang X., Liu Z., Shen W., Gurunathan S., (2016).** Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.*; 17: 1534; doi :10.3390/ijms17091534.
- **Znazen A., Ayadi S., Mnif B., Zouari M., Mezghani S., Mahjoubi F., Smaoui H., Boutiba I., Kechrid A., Ben Redjeb S., Hammami A., (2010).** RESISTANCE DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE AUX ANTIBIOTIQUES EN TUNISIE : ETUDE MULTICENTRIQUE 2004 – 2006. *Revue Tunisienne d’Infectiologie - Janvier*. Vol.4: 10 – 14
- **Zou L., Wang J., Gao Y., Xiaoyuan R.E., Rottenberg M., Lu J., Holmg A., (2018).** Synergistic antibacterial activity of silver with antibiotics correlating with the upregulation of the ROS production. *SCIENTIFIC REPORTS*. 8:11131 /DOI:10.1038/s41598-018-29313.

Site d'internet :

[1] Résistance aux antibiotiques. Organisation mondiale de la santé, Consulté le (18 mai 2022). Repéré à <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>.

[2] Biosynthèse verte de nanoparticules dans différents organismes vivants. Agri réseau. Consulté le (19 mai 2022). Repéré à <https://www.agrireseau.net/nanotechnologies-bioalimentaire/documents/87579/biosynthese-verte-de-nanoparticules-dans-differents-organismes-vivants>.

[3] Antibiogramme | Protocole | Interprétation. Microbiologie clinique. Consulté à (21 mai 2022). Repéré à <https://microbiologie-clinique.com/index.html>.

Annexe

Annexe : Les installations et appareils utilisés lors des analyses.

Appareils	Modèle	Pays de fabrication	Image
Agitateur- plaque chauffante	POBEL	France	
Autoclave	SYG-DSX-2008	Corée	
Bain Marie	Memmert	Allemagne	
Chambre d'observation UV	CN-6	France	
Centrifugeuse	SIGMA 2_16KL	France	

Hotte	BioBase	France	
Spectrophotomètre	SECOMAM	France	
Soxhelt	Behr Labor_Technik	France	
Pompe de filtration	ROCKER 300C	France	

Résumé

Résumé :

La biosynthèse des nanoparticules est un processus durable, respectueux de l'environnement, sans toxines et biocompatible. Les nanoparticules peuvent être synthétisées en utilisant des extraits de plantes comme agents réducteurs et stabilisants et ceci est acceptable dans ce domaine. L'extrait de gland du chêne a été utilisé pour former des nanoparticules d'argent. Les nanoparticules d'argent synthétiques se sont avérées très efficaces pour tuer les germes comme *Escherichia coli*. L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude montre clairement que les nanoparticules d'argent ont un grand potentiel pour les activités biologiques étudiées. De ce fait, les biocomposants présents dans l'extrait végétal ont été efficaces dans la synthèse de nanoparticules qui offrent la possibilité de les incorporer dans la formulation de produits alimentaires et pharmaceutiques.

Mots clés : Argent, Gland de chêne, Nanoparticules, Biosynthèse, Activité antibactérienne.

Abstract:

Nanoparticle biosynthesis is a sustainable, environmentally friendly, toxin-free and biocompatible process. Nanoparticles can be synthesized using plant extracts as reducing and stabilizing agents and this is acceptable in the domain. The oak acorn extract was used to form silver nanoparticles. Synthetic silver nanoparticles have proven to be very effective in killing germs, for example *Escherichia coli*. All the results obtained during this study clearly show that the Silver nanoparticles have great potential for the biological activities studied. As a result, the biocomponents present in the plant extract have been effective in the synthesis of nanoparticles which offer the possibility of incorporating them into the formulation of food and pharmaceutical products.

Keywords: Silver, Oak acorn, Nanoparticles, Biosynthesis, Antibacterial activity.

المخلص:

يعتبر التخليق الحيوي للجسيمات النانوية عملية مستدامة وصديقة للبيئة وخالية من السموم ومتوافقة حيويًا. يمكن تصنيع الجسيمات النانوية باستخدام المستخلصات النباتية كعوامل اختزال واستقرار وهذا مقبول في المجال. تم استخدام مستخلص نبات البلوط لتشكيل جزيئات الفضة النانوية. أثبتت جزيئات الفضة النانوية الاصطناعية أنها فعالة جدًا في قتل الجراثيم على سبيل المثال الإشريكية القولونية. جميع النتائج التي تم الحصول عليها خلال هذه الدراسة تظهر بوضوح أن تتمتع جسيمات الفضة النانوية بإمكانيات كبيرة للأنشطة البيولوجية التي تمت دراستها. نتيجة لذلك، كانت المكونات الحيوية الموجودة في المستخلص النباتي فعالة في تخليق الجسيمات النانوية التي تتيح إمكانية دمجها في صياغة المنتجات الغذائية والصيدلانية.

الكلمات الرئيسية: الفضة، نبات البلوط، الجسيمات النانوية، التخليق الحيوي، النشاط المضاد للبكتيريا.