



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Synthèse de l'argent colloïdal par procédé biologique : caractérisation et applications pharmacologiques

Présenté par : BETTAHER sabrina & DEMERDJI hayet

Devant le Jury :

Mme CHELGHOUM H.	Maître de Conférences	Université Blida 1	Présidente
Mme LOUNACI L.	Maître de Conférences	Université Blida 1	Examinatrice
Mme CHEMAT Z.	Professeur	Université Blida 1	Promotrice
M. BOUKHATEM M.N.	Professeur	Université Blida 1	co-Promoteur

Session 2020 / 2021

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant d'avoir nous donner le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail.

Nos remerciements vont également, à Mme Chelghoum d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.

Nous sommes également reconnaissants de Mme Lounici d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier notre généreuse promotrice Mme Chemat pour leurs conseils judicieux, et leur soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire: Merci.

Nos remerciements à notre Co-promoteur Mr Boukhatem pour son soutien.

Nous tenons à remercier Madame Moumen pour nous soutenir et nous aider pendant toute la durée de stage.

Enfin, nous remercions tous les enseignants qui ont contribué à notre Formation.

Merci à tous ceux et celles qui nous aidés et encouragés de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné avec un profond amour

- ❖ *À la meilleure maman du monde, pour son amour, son encouragement et sa confiance.*
- ❖ *À mon Père, mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et m'a dirigé.*
- ❖ *À mon cher frère **WALID**, pour l'encouragement*
- ❖ *À ma meilleure amie de l'enfance **SARA** pour le soutien, l'encouragement, l'énergie positive*
- ❖ *À mes amies fidèles **YASMINE, RADIA, FATIMA ZOHRA** qui m'a toujours soutenu.*
- ❖ *À mon binôme généreuse **SABRINA** pour sa patience et pour son grand cœur*
- ❖ *À tous mes collègues de la promotion de biotechnologie et pathologie moléculaire 2021*
- ❖ *A tous ceux qui me sont chers et j'ai omis de les citer dans ces dédicaces.*

Merci d'être toujours là pour moi

-Hayet

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

- ❖ *Ma chère maman **KHEIRA** : la personne la plus chère à mon cœur, que Dieu la guérisse et la protège pour moi, elle a été et est toujours un soutien pour moi depuis le premier pas que j'ai fait.*
- ❖ *A mon cher père : **TAIBOUNI** que Dieu te protège et te garde.*
- ❖ *A mes sœurs **FATIMA** (tonton) et **SAMIA** et leurs enfants : **DIKRA LINA, ISAAK, SOUJOURD ET SANED.***
- ❖ *A mes chers frères : **REDHOUANE, HASSAN** et **MOUSSA** et mon cher oncle **RABEH***
- ❖ *Et je n'oublierai jamais mon binôme : **HAYET**, qui a travaillé dur pour que ce travail soit parfait (Merci Hayet)*
- ❖ *A mes chers amis : **SAMIRA** (le lapin) et **ILHAM** (celle avec le plus haut record d'absences), **FADOUA, LAMIA, MERIEM, HAKIMA ET KHOULA** Merci beaucoup pour le temps que j'ai passé avec vous.*

Je voudrais aussi me remercier car j'ai cru en moi et j'ai obtenu ce que je voulais.

الحمد لله حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه

-Sabrina

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction1

Chapitre I : Rappel BIBLIOGRAPHIQUE

I.	Généralité	4
	1. Description de la nanotechnologie.....	4
	2. Description des nanoparticules (NP).....	4
	2.1 Origine des nanoparticules.....	5
II.	L'argent colloïdal	5
	1.1. La molécule d'argent	5
	1.2. Les colloïdes	6
	1.3. La stabilité colloïdale	6
	1.4. L'argent colloïdal	6
	1.5. Nanoparticules d'argent	6
	2. Propriétés des nanoparticules	7

1) Propriétés optique.....	7
2) Propriétés structurale.....	7
3) Propriétés électromagnétique :.....	7
3. Approches de synthèse des nanoparticules.....	8
3.1. Approche "top down".....	8
3.2. Approche "Bottom -up".....	9
3.3. Méthode de synthèse verte des nanoparticules.....	9
4. Les facteurs influencent sur la formation des AgNPs	11
4.1. La température.....	11
4.2. Le pH.....	12
4.3. Le temps	12
4.4. La concentration d'extrait végétal.....	12
5. Les activités biologiques des nanoparticules d'argent.....	13
5.1. Activité antimicrobienne	13
5.2. Activité anti-oxydante	14
5.2.1. Stress oxydatif	14
5.3. Activité antiviral.....	15
5.4. Activité antifongique	15
5.5. Activité anticancéreuse.	16
6. Les bienfaits d'argent colloïdal	17
7. Effets toxiques des nanoparticules d'argent	17
7.1. Mécanisme de toxicité des nanoparticules d'argent.....	18
8. Les applications des nanoparticules d'argent	19

9. Monographie du plante étudié : <i>Origanum vulgare L</i>	21
9.1. Description botanique d’ <i>Origanum vulgare L</i>	21
9.2. Classification botanique d’ <i>Origanum vulgare L</i>	21
9.3. La dénomination vernaculaire d'Origan.....	22

Chapitre II : Materiel et méthodes

1. Objectif.....	24
2. Lieu de stage.....	24
3. Matériels	24
3.1. Matériel chimique.....	24
3.2. Matériel biologique.....	25
4. Mode opératoire	27
1) Préparation d'extrait aqueux de plante.....	27
2) Biosynthèse des nanoparticules d'argent.....	27
3) Caractérisation.....	27
4) Evaluation d'activité antimicrobienne.....	28
5) Contrôle de qualité microbienne de la crème dermique.....	31

Chapitre III : Résultats et discussion

1. changement de couleur de la solution... ..	37
2. Caractérisation.....	37
3. Activité antimicrobienne.....	39

4. Contrôle de qualité microbienne de la crème dermique <i>in vitro</i>	41
5. Discussion.....	44
V. Conclusion générale	50
Références bibliographiques.....	53

Liste des figures

Figure 01 : Échelle nanométrique.....	4
Figure 02 : L'argent.....	5
Figure 03 : Approche Top-Down ou Descendante.....	8
Figure 04 : Approche Bottom-up ou ascendante.....	9
Figure 05 : Récapitulation de différentes sources de biosynthèse des AgNPs.....	11
Figure06 : Effet de la température sur la biosynthèse des AgNPs.....	12
Figure 07 : Mécanisme d'action des AgNPs dans la cellule bactérienne.....	14
Figure 08 : Mécanisme antivirale des nanoparticules d'argent.....	15
Figure 09 : Mécanisme de cytotoxicité des AgNPs dans la cellule cancéreuse.....	16
Figure10 : Voies d'exposition aux nanoparticules, les organes affectés et les maladies associées.....	18
Figure 11: Mécanisme de cytoxicité des nanoparticules d'argent à l'intérieur d'une cellule...	19
Figure 12: Applications des nanoparticules d'argent.....	20
Figure 13 : Photographie d'Origan.....	21
Figure 14 : <i>Origanumvulgare L</i>	21
Figure 15 : Photographie de la solution de nitrate d'argent.....	25
Figure 16: Ensemencement de la suspension sur la gare à l'aide d'écouvillon	29
Figure 17 : Application de disque d'antibiotique sur la gélose	30
Figure 18 : Règle graduée en millimètre (Vernier Caliper).....	31
Figure 19 : Préparation des dilutions 1/10.....	33
Figure 20: Ensemencement en profondeur.....	33
Figure 21 : Dépôt de 4 gouttes de la solution sur le milieu de culture.....	34
Figure 22: Méthodologie d'évaluation de la qualité microbiologique de la formulation dermo-cosmétique semi-solide préparée	35
Figure 23: Mélange à t= 0	37
Figure 24 : Mélange après 20min.....	37
Figure 25 : Spectre UV-vis des nanoparticules d'argent synthétisé à partir d'extrait d'OV-AgNPs.....	38
Figure 26: Diagramme de distributions en taille de la solution d'argent colloïdal obtenu par DLS.....	38

Figure 27 : Potentiel zêta de la solution d'argent colloïdal.....	39
Figure 28 : Résultats d'antibiogramme de la solution d'argent colloïdal sur le milieu MH et Sabouraud. (a) <i>B. subtilis</i> , (b) <i>C. albicans</i> , (c) <i>E-coli</i> , (d) <i>P. aeruginosa</i> , (e) <i>A. brasiliensis</i> , (f) <i>S. aureus</i>	41
Figure 29 : Crème dermique à base d'extrait aqueux d'OV-AgNPs.....	41
Figure 30 : Résultats des dilutions	42
Figure 31 : Absence de <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Figure 32 : Résultats de test de contrôle de qualité microbienne dans le milieu TGEA et Cetrimide avec les 3 dilutions.....	42
Figure 33: Méthode de réduction.....	45
Figure 34 : Mécanisme d'action des AgNPs dans la cellule bactérienne.....	46

Liste des tableaux

Tableau 01: Les différentes méthodes de synthèse verte des NPs d'argent à partir des extraits aqueux des plantes.....	10
Tableau 02 : Les souches bactériennes et mycéliennes utilisées dans le screening antibactérien et antifongique <i>in vitro</i>	25
Tableau 03 : Screening antibactérien de la solution d'argent colloïdal <i>in vitro</i>	40
Tableau 04 : Screening antibactérien de la solution d'argent colloïdal <i>in vitro</i>	40
Tableau 05 : Résultats de la crème dermo-cosmétique.....	42
Tableau 06 : La comparaison entre les résultats de la biosynthèse d'Ag NPs.....	47

La liste d'abréviation

Ag : Argent

AgNPs : Nanoparticules d'argent

AgNO₃ : Nitrate d'argent

ATCC : American Type Culture Collection

Au : Or

DLS : Diffusion dynamique de la lumière

MH: Muller Hinton

MIT: Massachusetts Institute of Technology

MNP : Nanoparticules métalliques

NO : Monoxyde d'azote

NP : Nanoparticules

OGA : oxytétracycline gélose agar

OV: Origanum vulgare L

Pd: Plomb

Pt : platine

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

SOD : Superoxyde dismutase

SRP : Résonance plasmonique de surface

STM: Scanning Tunneling Microscope

TGEA: Gélose Tryptone Glucose Extract

UV : ultra-violet

Résumé

L'argent colloïdal ou la suspension de nanoparticule d'argent est considéré comme un sujet d'actualité. Les extraits de plantes servent d'agents réducteurs et sont donc couramment utilisés pour la génération de nanoparticules d'argent. La synthèse verte des AgNPs est une technique verte, écologique et rentable qui offre une alternative nouvelle et potentielle aux NPs synthétisées chimiquement, diminuant l'utilisation de produits chimiques dangereux et toxiques et protégeant l'environnement. Des AgNPs ont été biosynthétisés à partir d'extraits aqueux de feuilles d'*O. vulgare L* dans des conditions de lumière et de température 60°C. *L'Origanum vulgare L* est un sous-arbrisseau vivace de 30 à 80 cm de hauteur à tiges dressées, portes des feuilles opposées, assez petites, généralement ovales avec une pointe émoussée, fortement aromatique. C'est une herbe très commune distribuée en Europe, en Afrique du Nord, en Amérique et en Asie. Caractérisée par plusieurs propriétés ; sédatives, expectorantes, carminatives...etc, son dénomination vernaculaire en anglais est oregano, et en arabe c'est zaatar. Les AgNPs produite ont été caractérisées par UV-vis, DLS et potentiel zêta. Les activités antibactériennes des AgNPs ont été déterminées selon des méthodes appropriées. Les résultats ont révélés que l'énergie des photons était nécessaire pour réduire Ag^+ en Ag^0 . Ils ont indiqué que les extraits d'*O. vulgare L*-AgNPs présentait une bonne activité antibactérienne contre les souches à Gram négative ont montrés une sensibilité plus élevée aux AgNPs par rapport aux souches à Gram positif. Ainsi, les AgNPs synthétisées par l'extrait d'*Origanum* peuvent être recommandées comme agents antibactériens efficaces alternatifs, mais leur activité dépendait des espèces et des souches bactériennes. La formule galénique à base d'*Origanum vulgare L*-AgNPs a été testé par contrôle de qualité microbienne pour vérifier la capacité de répondre aux exigences microbiologiques. Les résultats obtenus ont révélé que la crème dermique est conforme.

Mot clés : Argent colloïdal, suspension de nanoparticule d'argent, AgNPs, synthèse verte, la biosynthèse, *Origanum vulgare L*- AgNPs

Abstract

Colloidal silver or silver nanoparticle suspension is considered a hot topic. Plant extracts serve as reducing agents and are therefore commonly used for the generation of silver nanoparticles. Green synthesis of AgNPs is an environmentally friendly and cost-effective technique that offers a new and potential alternative to chemically synthesized NPs, decreasing the use of dangerous and toxic and protected chemicals. AgNPs have been biosynthesized from aqueous extracts of *O. vulgare* L under light and temperature conditions 60 ° C. *Origanum vulgare* L is a perennial sub-shrub 30 to 80 cm tall with erect stems, with opposite leaves, quite small, usually oval with a rounded tip, strongly aromatic. It is a very common herb distributed in Europe, North Africa, America and Asia. Characterized by several properties; sedatives, expectorants, carminatives.

The AgNPs produced were characterized by UV-vis, DLS and zeta potential. The antibacterial activities of AgNPs were determined according to suitable methods. The results revealed that photon energy was needed to reduce Ag^+ to Ag^0 . They indicated that the extracts of *O. vulgare* L-AgNPs exhibited good antibacterial activity against Gram negative strains showed higher sensitivity to AgNPs compared to Gram positive strains. This, AgNPs synthesized by Origanum extract can be recommended as effective alternative antibacterial agents, but their activity depended on bacterial species and strains. The Galenic formulation based on *Origanum vulgare* L-AgNPs has been tested by microbial quality control to verify the ability to respond to microbiological requirements. The results obtained revealed that the dermal cream is compliant.

Keywords: Colloidal silver, silver nanoparticle suspension, AgNPs, green synthesis, biosynthesis, *Origanum vulgare* L- AgNPs.

ملخص

تعتبر معلقات الفضة الغروية أو الجسيمات النانوية الفضية موضوع العصر. تعمل المستخلصات النباتية كعوامل اختزال ولذلك فهي تستخدم بشكل شائع لتوليد جزيئات الفضة النانوية. يعتبر التوليف الأخضر لجزيئات الفضة النانوية تقنية صديقة للبيئة وفعالة من حيث التكلفة توفر بديلا جديدا ومحتملا للجزيئات المصنعة كيميائيا مما يقلل من استخدام المواد الكيميائية الخطرة والسامة. تم تصنيع جزيئات الفضة النانوية حيويًا من المستخلصات المائية لنبات الزعتر في ظل ظروف الضوء الزعتر هو شجيرة معمرة طولها 30-80 سم ذات سيقان منتصبية وأوراق متقابلة ودرجة الحرارة 60 درجة مئوية. صغيرة عادة ما تكون بيضاوية مع طرف غير حاد ذو رائحة قوية. هو عشبة شائعة جدا خصوصا في أوروبا، وشمال افريقيا، أمريكا واسيا. تتميز بعدة خصائص مهدئة، طاردة للبلغم، وطاردة للغازات...

تم توصيف الجزيئات المصنعة عن طريق تقنية الاشعة فوق البنفسجية المرئية، انتشار الضوء الديناميكي وكذا تقنية زيتا تم دراسة الأنشطة المضادة للبكتيريا لجزيئات الفضة المصنعة وفقا للطرق المناسبة. أظهرت النتائج أن طاقة الفوتون ضرورية لتحويل هذه الجزيئات كما اشارت الى ان مستخلصات الفضة الغروية لنبات الزعتر أظهرت نشاطا جيدا مضادا للبكتيريا (حيث ان البكتيريا ذات الغرام السالب أظهرت حساسية اعلى لجزيئات الفضة الرغوية مقارنة بالبكتيريا موجبة الغرام). وبالتالي يمكن التوصية باستخدام الفضة الرغوية المستخلصة من نبات الزعتر كعوامل بديلة فعالة ضد الجراثيم، لكن نشاطها يعتمد على الأنواع والسلالات البكتيرية. تم اختبار تركيبة الكريم المصنع من جزيئات الفضة الغروية لنبات الزعتر بواسطة مراقبة الجودة الميكروبية للتحقق من القدرة على الاستجابة للمتطلبات الميكروبيولوجية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الكريم الجلدي متوافق.

الكلمات المفتاحية: الفضة الغروية، الجسيمات النانوية الفضية المعلقة، التوليف الأخضر، التصنيع الحيوي، نبات الزعتر- جزيئات الفضة النانوية.

Introduction

Introduction

De nos jours, l'apparition de la nanoscience et la nanotechnologie représente l'un des développements les plus prometteurs des sciences de la matière (**Metiaz et Boudiba,2020**), elles s'intéressent à la conception, la caractérisation, la production et l'application de matériaux et de produits obtenus par un contrôle de la structure, de la forme et de la taille à l'échelle nanométrique de dimension qui varie entre 1 à 100 nm. Ces nanoparticules présentent une large classe de matériaux qui possèdent des nouvelles propriétés physico-chimique plus avantageuses et uniques (**Ramsden,2005**), ces nanomatériaux sont formés naturellement ainsi que par des processus artificiels (**Sharma et al.,2015**).

Actuellement, les nanoparticules métalliques connaissent un regain d'intérêt, avec un retour en force, sous forme de nanoparticules comme l'argent colloïdal (**Bouhalal,2018**). La synthèse de nanomatériaux peut impliquer diverses voies, notamment des approches physiques, chimiques et biologiques.

De nombreux efforts ont été consacrés à la biosynthèse des matériaux inorganiques, en particulier des NPs métalliques à l'aide de micro-organisme telles que « les bactéries, les champignons, les levures », des extraits aqueux des plantes (l'ail, lavande, l'ortie, citron, origan ...etc). Les NP d'argent synthétisées par la chimie verte offrent une alternative nouvelle et potentielle aux nanoparticules synthétisé chimiquement (**Roy et al., 2019**) ceci conduit généralement à la formation des NPs cristallines avec une variété des formes et des tailles. Ces caractéristiques dépendantes des paramètres du processus tels que la nature d'extrait végétal, pH, la température et le temps de réaction (**Metiaz et Boudiba, 2020**), de nos jours, les nanoparticules métalliques ont des utilisations variées pour différentes applications médicales (textiles médicaux,...etc), pharmaceutiques (des crèmes, gels, complément alimentaires...etc) et agricoles (pesticides) (**Castillo-Henriquez et al.,2020**), grâce à leurs propriétés physiques et optiques discrètes et une fonctionnalité biochimique adaptée par des AgNPs de taille et de forme variée (**Lee et Jun,2019**).

Dans ce contexte, a donc pour objectif de synthétiser une solution d'argent colloïdal à partir d'extrait d'Origan ensuite, faire une caractérisation de ces NPs par UV visible, DLS et potentiel zêta. À la fin faire une formulation d'une préparation pharmaceutique.

Ce mémoire se décompose en trois chapitres, dont Le premier chapitre qui présente une étude bibliographique sur : description de la nanotechnologie, description des nanoparticules,

Introduction

L'origine de nanoparticule, les colloïdes, l'argent colloïdal, les nanoparticules d'argent, propriétés de NP d'argent, les approches de synthèse des nanoparticules, les facteurs influencent sur la formation des AgNPs, les activités biologiques d'argent colloïdal, les bienfaits d'argent colloïdal, effets toxiques, mécanisme de toxicité, les applications de nanoparticule, les techniques de caractérisation.

Le deuxième chapitre présentera l'approche que nous avons développée pour synthétiser des nanoparticules d'argent de tailles et de cristallinité contrôlées. Elle repose la synthèse verte des nanoparticules à partir d'extrait aqueux d'Origan, ainsi que les évaluations antimicrobienne et antifongique de solution d'argent colloïdal préparée, puis l'utilisation de diverses techniques instrumentales utilisées pour la caractérisation de suspensions de nanoparticules métalliques. Après la préparation pharmaceutique à partir d'un argent colloïdal.

Le troisième chapitre présente les résultats obtenus au cours de ce travail avec une discussion en fonction de différents paramètres expérimentaux intervenants dans la synthèse et les conclusions marquantes.

Enfin, nous concluons sur les principaux résultats significatifs marquants au cours de ce travail de mémoire et nous proposons des perspectives mises en relief afin de résumer l'originalité et l'intérêt du travail effectué.

Synthèse
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité :

1. Description de la nanotechnologie :

Nanotechnologie est un domaine scientifique émergent qui implique l'ingénierie de particules nanométriques de divers matériaux (Khare *et al.*, 2014). Il traite l'étude de structure extrêmement minuscules de 1 à 100 nm (Figure 01) (Rajoriya, 2017). La petite taille, l'adaptabilité de la surface, la solubilité améliorée et la multifonctionnalité des nanoparticules ouvrent de nombreuses nouvelles voies de recherche pour les biologistes. L'utilisation de la nanotechnologie peut être classée par application, dans laquelle les nanocomposants améliorent les performances dans des domaines très différents (Mazzola, 2003). Telles que les services biomédicaux, les cosmétiques, la délivrance de gène de médicaments, Les soins de santé (Rajoriya, 2017), donc la nanotechnologie est considérée comme un domaine de la science qui combine la biologie, la chimie et la physique (Manukumar *et al.*, 2020).

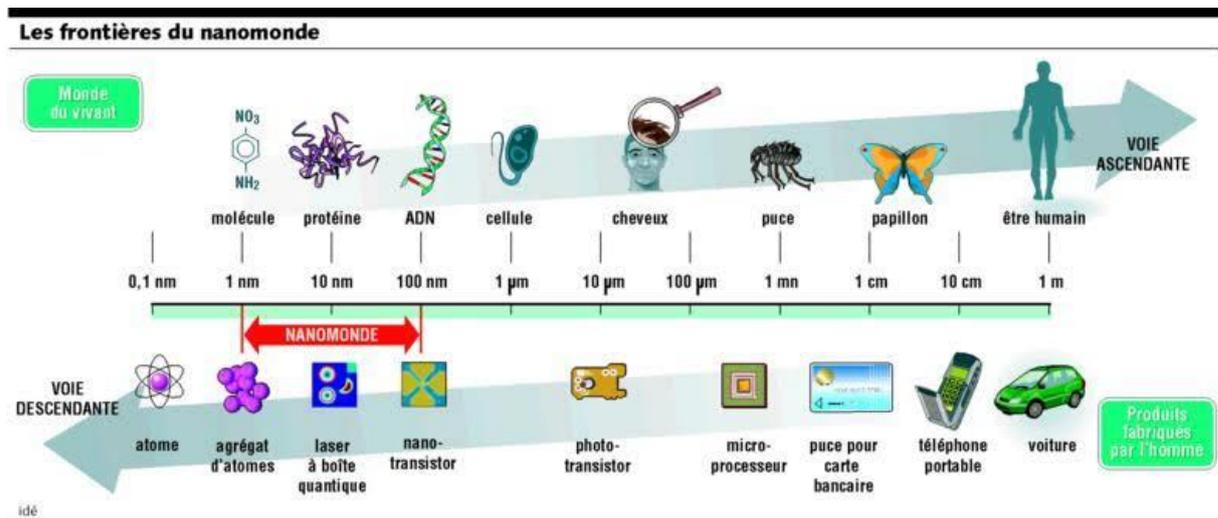


Figure 01 : Échelle nanométrique (Jtremoulet, 2018).

2. Description des nanoparticules (NP) :

Une nanoparticule (nano-objet) est définie comme étant une particule dont au moins une direction de l'espace a une dimension inférieure à 100 nm, la particularité des nanoparticules réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constituent se trouve en surface, cela confère à la nanoparticule une surface d'échanges très importante résultant dans les propriétés physiques et chimiques particulières (Lanone *et al.*, 2010). De nos jours, les NP fabriqués à partir de métaux nobles, en particulier Ag, Au, Pd et Pt sont les plus efficacement étudiés (Rajoriya, 2017).

2.1. Origine des nanoparticules :

- **Les nanoparticules naturelles :** Présentes dans l'environnement, sont produites par les intempéries (Heiligtag et al., 2013), les éruptions volcaniques (Heiligtag et al., 2013), les incendies, sel de mer, les virus, les poussières végétales (Mérat-Tagnard et al., 2008).
- **Les nanoparticules accidentelles :** qui sont formées involontairement au cours des activités humaines telle que les feux de bois (Boczkowski et Lanone, 2010).
- **Les nanoparticules artificielles :** produites par l'homme de façon non intentionnelle (les particules ultra fines de la pollution, émission diesel, les fumées de soudures, etc.) (Boczkowski et Lanone, 2010).

II. L'argent colloïdal :

1.1. Molécule d'argent :

L'argent ou argent métal est un élément chimique de symbole Ag et de numéro atomique 47, la masse atomique : 107,87g/mol (Yann, 2018), le point de fusion de l'argent est de 961,8°C (1763,2°F) et son point d'ébullition est d'environ 2162 (3924°F), sa densité est 10,49g/cm³ (Learning Chemistry, 2020). L'argent fait partie des métaux dits précieux. En raison de sa rareté relative, de sa ductilité, sa résistance à l'oxydation atmosphérique (Britannica, 2020), de sa malléabilité à température ambiante, il est apprécié à l'état solide pour son éclat blanc gris brillant (voir figure 02). Ce métal possède une excellente conductivité électrique et thermique, ce qui explique son usage dans des applications électroniques, électriques : connections des interrupteurs, disjoncteurs, etc. et pour la décoration : paillettes rajoutées à des vernis pour faire scintiller des objets décoratifs (bricoleurdudimanche, 2006).

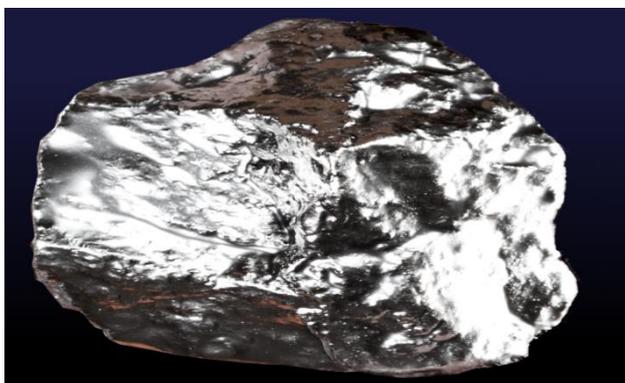


Figure 02 : L'argent (Anthony, 2017)

1.2. Les colloïdes :

Le terme « colloïde » a été employé pour la 1^{ère} fois par Thomas Grahm en 1861. Il désigne une substance composée des particules ultra fines (les nanoparticules) suspendues dans un milieu différent. Ces particules peuvent être gazeuses, liquides ou solides. Le milieu peut lui aussi être gazeux, liquide ou solide. Les colloïdes ont de nombreuses formes : des particules liquides ou solides suspendues dans un milieu liquide constituent une émulsion (lait, latex, huile dans de l'eau...) ; des particules liquides suspendues dans un milieu gazeux forment un brouillard ; des particules solides en suspension dans un milieu gazeux forment une fumée. Pour pouvoir être utilisés par l'organisme, les nutriments doivent passer de l'état cristallin à l'état colloïdal (**Goldman, 2004**). La taille de ces particules colloïdales est comprise entre 1nm-1µm est une taille intermédiaire entre la taille des ions et petites molécules et celles des Particules macroscopiques (**Harmand, 1996**). Un vrai colloïde est très stable et a une durée de vie de plusieurs années (**Bouhlal, 2018**).

1.3. La stabilité colloïdale :

La stabilité des particules colloïdales dépend à des interactions de ces particules avec la solution par des interactions électrostatiques (**El Badawy et al., 2012**), (par ionisation entraînant l'apparition d'une charge de surface de particule (**Ballottin et al., 2016**)). Celles-ci se repoussent mutuellement et demeurent ainsi dispersées, et d'autre solutions ont besoin d'un agent stabilisant (gélatine, amidon, etc.) (**Goldman, 2004**).

1.4. L'argent colloïdal :

L'argent colloïdal est un type de colloïde consistant en minuscules particules d'argent chargées électriquement et en suspension dans l'eau déminéralisée, du fait de leur charge se repoussant mutuellement. La plupart des solutions dites « argent colloïdal » sont composés à la fois d'ions d'argent et des particules d'argent colloïdales (**Perros, 2011**), c'est-à-dire en suspension dans une solution aqueuse (**Dasinieres, 2019**). L'argent colloïdal ne se dissout pas dans l'eau, mais diffuse uniformément dans la solution (**Bouhlal, 2018**).

1.5. Nanoparticules d'argent :

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) représentent l'une des catégories de nanomatériaux les plus explorées pour les biomatériaux et les biotechnologies nouvelles et améliorés avec une utilisation impressionnant dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique, la thérapie anti

infectieuse, soin de plaies, etc. L'intérêt particulier des AgNPs dans les applications biomédicales repose principalement sur leurs propriétés antimicrobiennes excellentes et étendues, leurs résistances anti-pathogène et leurs efficacités impressionnantes contre les micro-organismes multi-résistants (**Gherassimov et al., 2020**). L'argent sous forme colloïdale (suspensions de nanoparticules d'argent) était capable d'initier certaines enzymes et guérir certaines pathologies telles des inflammations, problèmes de peau, ou infection bactérienne. Toutefois, certaines personnes promettent un grand avenir à l'argent colloïdal, qui serait plus efficace que les antibiotiques actuels (**Piard et al., 2016**).

2. Propriétés des nanoparticules d'argent :

1) Propriétés optique :

Les nanoparticules sont dans le régime de taille où la fraction de lumière qui est diffusée ou absorbée peut varier considérablement en fonction du diamètre des particules. Leur forte interaction avec la lumière se produit parce que les électrons de conduction sur la surface métallique subissent une oscillation collective lorsqu'ils sont excités par la lumière à des longueurs d'onde spécifiques, Cette oscillation est connue sous le nom de résonance plasmonique de surface (SPR) (**Nanocomposix, 2016**).

2) Propriétés structurelle :

La grande surface spécifique des nanoparticules est une propriété importante liée à la réactivité, la solubilité, la performance de frittage, etc. et est également liée au transfert de masse et de chaleur entre les particules et leur environnement. En outre, la structure cristalline des particules peut changer avec la taille des particules dans la gamme nanométrique dans de nombreux cas. Ceci est attribué à la force de compression exercée sur les particules en raison de la tension superficielle de la particule elle-même. La taille critique des particules de la structure cristalline et l'effet de la taille diffèrent avec les matériaux (**Guerricha, 2018**).

3) Propriétés électromagnétique :

Les propriétés électromagnétiques des nanoparticules sont définies par les atomes et les molécules des matériaux ou, plus précisément, par la manière dont leurs électrons interagissent avec les ondes électromagnétiques (**Elseiver, 2018**). En ce qui concerne la propriété magnétique, les fines particules ferromagnétiques ont une seule structure de domaine magnétique car elles deviennent très petites, de l'ordre de moins de 1 μm environ, et présentent une propriété super-paramagnétique lorsqu'elles sont plus fines. La propriété magnétique des nanoparticules peut également être désavantageuse dans certaines

situations. Par exemple, les matériaux ferroélectriques inférieurs à 10 nm peuvent changer leur direction de magnétisation en utilisant l'énergie thermique à température ambiante.

(Kate, 2004).

3. Approches de synthèse des nanoparticules :

Depuis une vingtaine d'années, les procédés de fabrication des nanoparticules d'argent se sont multipliés. Il existe aujourd'hui de nombreuses voies de synthèses biologiques, physiques et chimiques permettant d'obtenir des nanoparticules adaptées aux besoins de l'utilisateur. Par exemple, pour des applications en biologie, les réactifs toxiques pour le corps humain sont évités car ils sont susceptibles de rester à la surface des nanoparticules en fin de synthèse. Pour l'électronique, les synthèses sans ou avec peu de molécules organiques sont privilégiées afin de conserver la conductivité du matériau. Et enfin pour la plasmonique, les synthèses permettant de contrôler précisément la morphologie des nanoparticules sont les plus intéressantes (Pourcin, 2018). Les différentes approches de synthèse des NPs sont :

3.1. Approche « Top-down » ou Descendante :

La méthode "top-down ou Descendante" est une approche physique qui consiste, à partir d'un matériau macroscopique, à fabriquer des objets de taille nanométrique. Un exemple de méthode courante est la lithographie par faisceau (électrons, rayon X ou laser). Cela consiste à illuminer un objet constitué d'un matériau, sur lequel un masque, résistant au faisceau a été déposé. Après divers traitements, une nanostructure est obtenue telle que des nanoparticules. Cela permet d'obtenir des substrats dont la surface est contrôlée et reproductible. Cependant, la lithographie est limitée par la distance inter-objet où il est très difficile de la réduire à des distances de quelques nanomètres. De plus cette technique est onéreuse, en particulier en lithographie haute résolution (Chapus, 2018).

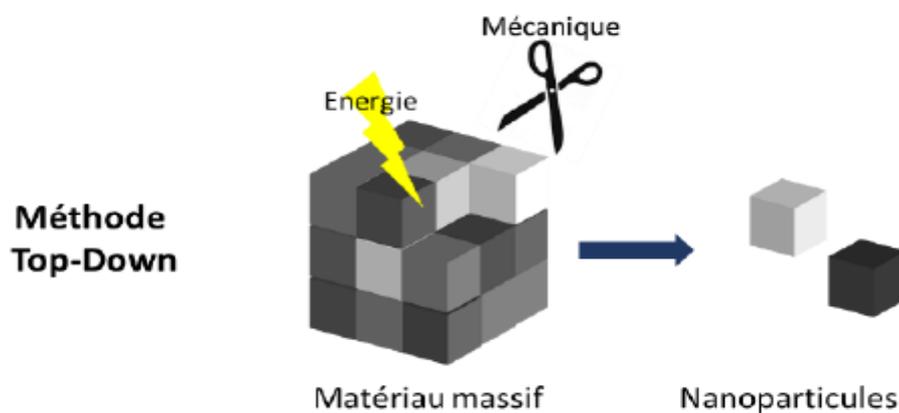


Figure 03 : Approche Top-Down ou Descendante (Pourcin,2018).

3.2. Approche « Bottom-up - ou Ascendante » :

La méthode ascendante est une approche chimique. Les conditions expérimentales sont très variées (température, le temps de la réaction, quantité des réactifs), permettant d'obtenir une vaste gamme de formes et de tailles des NPs (Chapus, 2018). Ces nanoparticules sont construites à partir de précurseurs métalliques tels que des sels d'argent, sous l'action d'un réducteur produit par voie chimique ou non chimique (température, irradiation...), les ions d'argent présents dans ces précurseurs sont réduits à l'état métallique puis, par de multiples collisions, des agrégats apparaissent et grossissent jusqu'à former des nanoparticules. (Pourcin,2018).

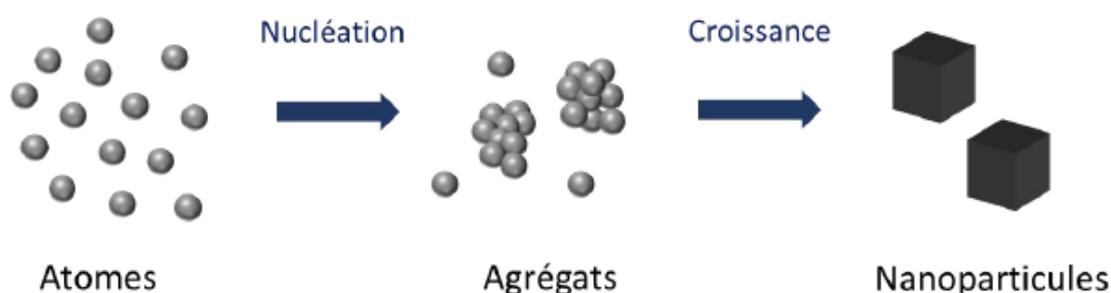
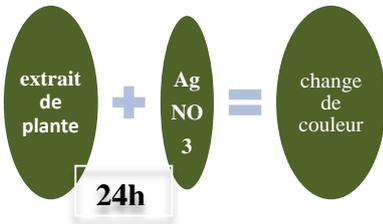


Figure 04 : Approche « Bottom-up ou ascendante » (Pourcin, 2018).

3.3. Méthode de synthèse verte des nanoparticules :

Pour surmonter les lacunes des méthodes chimiques, les méthodes biologiques sont apparues comme des options viables. Récemment, la synthèse de nanoparticules à médiation biologique s'est avérée être des approches simples, rentables, fiables et respectueuses de l'environnement et une grande attention a été accordée à la production à haut rendement d'AgNPs de taille définie à l'aide de diverses sources biologiques, notamment des bactéries, des champignons et des plantes (Zhang et al., 2016). Le tableau 01 résume les différentes méthodes de synthèse verte des NPs d'argent à partir des extraits aqueux des plantes et les champignons.

Tableau 01: Les différentes méthodes de synthèse verte des NPs d'argent à partir des extraits aqueux des plantes et champignons.

Biosynthèse des NPs	Condition optiques	Caractérisation	Rendement	Référence
Eucalyptus globulus + AgNO ₃	-plante fraîche -haute température (90°C) -micro-ondes à 2450MHZ pendant 30 sec -sans agitation	Le pic d'absorbance dans la longueur d'onde 428 nm	Activité antimicrobienne et antifongique	(Ali et al., 2015).
Citrus limons + AgNO ₃	-Plante sèche (poudre) -Température (80°C) -Agitation	Le pic d'absorbance dans la longueur d'onde 430 - 440 nm	Activité antimicrobienne et antifongique	Dhinek et al.,(2017).
Petroselinum crispum (persil) + AgNO ₃	-Feuilles fraîches -Température ambiante -Centrifugation -Synthèse à froid : 	Le pic d'absorbance dans la longueur d'onde 460 nm	Activité antimicrobienne et antifongique	(Roy et al., 2015).
Adansonia digitata + AgNO ₃	-Température ambiante -Un bain d'ultrason	Le pic d'absorbance dans la longueur d'onde 425- 448 nm	Activité antimicrobienne et antifongique	(Njue et al., 2020).

	-Agitation			
Champignons <i>(Fusarium oxysporum et Spp)</i> + AgNO ₃	-Ultra centrifugation -Filtration -Enzyme nitrate réductase -Température ambiante	Le pic d'absorbance dans la longueur d'onde 420 nm	Activité antimycotique	(Guilger et Renata, 2019)

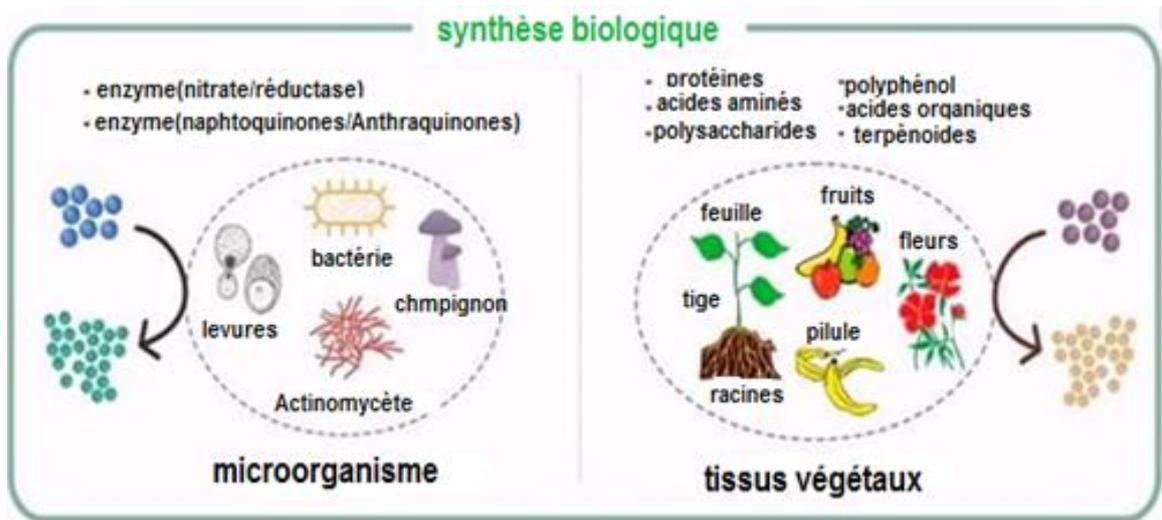


Figure 05 : Récapitulation de différentes sources de biosynthèse des nanoparticules d'argent (Jeyaraj et al.,2019).

4. Les facteurs influencent sur la formation des AgNPs :

Il existe nombreux facteurs qui influencent sur la synthèse ; la caractérisation et l'application des nanoparticules. Parmi les facteurs dominants qui affectent la biosynthèse des NPs les suivants :

4.1. La température :

La température affecte la taille et la forme des NP biosynthétiques ainsi que la vitesse de formation (El-Seedi et al., 2019) Il existe une relation directe entre la température et la taille des AgNPs formés c'est-à-dire, plus la température est élevée plus il y'aura la formation des

AgNPs de grand de taille, et plus la température plus basse il y'aura la formation des AgNPs de petite taille (Voir figure 06) (Patra et Baek, 2014).

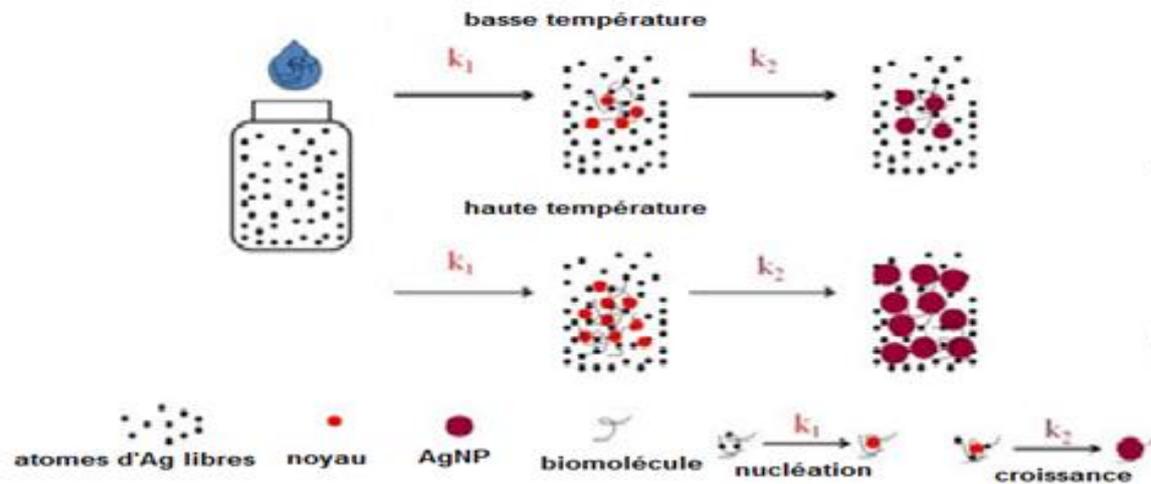


Figure 06 : Effet de température sur la biosynthèse des AgNPs (Hongyu et al.,2020).

4.2. Le pH :

Le pH c'est un facteur physique qui influence directement sur la distribution, (Prasad,2014) la formation des nanoparticules, et sur la taille et la texture de NP synthétisés. Et pour contrôler la taille des nanoparticules il faut modifier le pH du milieu de la solution (El-Seedi et al.,2019).

4.3. Le temps :

Le temps est parmi les facteurs dominants qui ont une affection sur la qualité (Patra et Baek,2014), et la stabilité nanoparticule synthétisé (Bouhlal,2018). Au cour de l'incubation il y'aura la modification des caractéristiques des NPs, également le nombre et la morphologie des NPs dans une suspension peuvent changer avec le temps ((El-Seedi et al.,2019), pendant un stockage prolongé il y'aura une production de nombreuse manière telle que : l'agrégation des particules, les particules peuvent rétrécie où croître (Hongyu et al.,2020).

4.4. La concentration d'extrait végétal :

La concentration de la matière végétale et les ions d'argent jouent un rôle crucial dans la taille et la dispersion des nanoparticules (Chauvel ,2018).

5. Les activités biologiques des nanoparticules d'argent :

5.1. Activité antimicrobienne :

L'argent est classé comme un acide doux et les cellules sont principalement composés de bases molles comme le phosphore et le soufre. L'action des AgNPs sur la cellule se traduit par la formation d'une réaction conduisant éventuellement à la mort cellulaire (Chauvel, 2018). L'action antimicrobienne des MNP est liée au mécanisme en les étapes suivantes :

a. Contacte directe avec la membrane cellulaire :

Les nanoparticules d'argent ciblent la membrane bactérienne et l'échappement des métaux (Bhardwaj et al., 2020) dépendent de leur taille. Les AgNPs avec une plus petite taille ont une plus grande activité, ceci étant dû à une surface de contact augmentée (Kasithevar et al., 2017). La charge positive des AgNPs permet d'attirer vers la surface cellulaire qui est chargée négativement (Dan, 2020). Les AgNPs peuvent également agir comme support pour transporter Ag^+ plus efficacement vers la cellule bactérienne (Voir la figure 07) (Boumaraf et al., 2020).

b. Déstabilisation de la membrane cellulaire, modification de sa perméabilité et libération d'ion métallique :

Après l'adhésion, les nanoparticules métalliques (MNP) de plus petite taille pénètrent directement dans la cellule (Dan, 2020), par la formation d'un trou de forme asymétrique et conduisant à une dissipation de la force motrice des protons (Bhardwaj et al., 2020), tandis que les gros NP sont retenus à l'extérieur de la surface de la cellule (Dan, 2020). Les NPs continuent à libérer les ions d'argent (Ag^+) (Boumaraf et al., 2020). Ce qui provoque une réduction de pH du milieu extérieur et l'augmentation de la concentration des Ag^+ à l'intérieur qui favorise la perméabilité d'entrée des NP de plus grande taille dans la cellule. À l'intérieur de la cellule, les Ag^+ affecte l'intégrité de la membrane cellulaire, Par leur attachement à des composés clés de la membrane cellulaire (Prasad, 2019) et il interagit avec des enzymes intracellulaires (Dan, 2020) (les ribosomes qui empêchent la synthèse des protéines (Boumaraf et al., 2020), perturber le processus métabolique et inhibe les principales fonctions des cellules bactériennes comme la respiration (Prasad, 2019), entraînant un dysfonctionnement puis la mort cellulaire (Dan, 2020).

c. Production d'espèces réactives à oxygène (ROS) et de radicaux libres :

Certain NP induisent une activité antibactérienne en général un stress oxydatif par affectant les fonctions bactériennes (Prasad, 2019) et lorsque les enzymes sont bloqués, leurs cycles

respiratoire l'est aussi, et des radicaux libres se forment (radicaux hydroxyles $[OH\cdot]$ et les anions superoxyde $[O^{2-}]$) (Tarannum et Gautam, 2019) ce qui aggrave encore (Boumaraf et al., 2020). Des dommages au niveau d'ADN, destruction des protéines, activation de l'apoptose qui finalisé par une mort cellulaire (Dan, 2020).

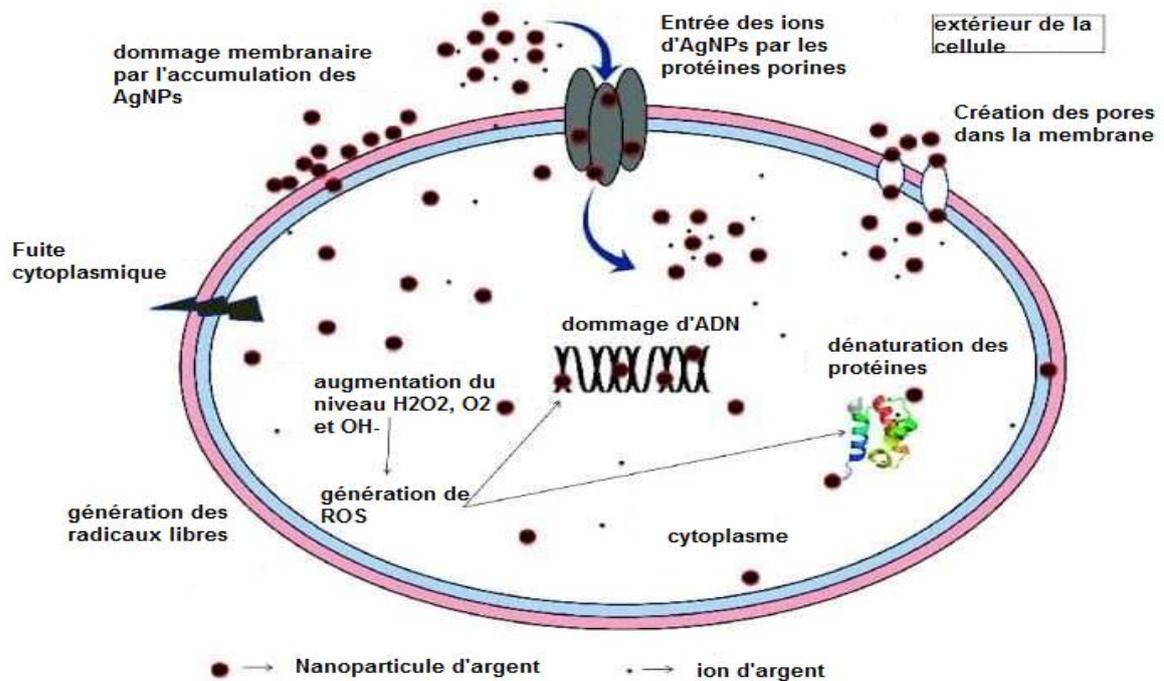


Figure 07 : Mécanisme d'action des AgNPs dans la cellule bactérienne (Arya et al., 2019).

5.2. Activité antioxydante :

5.2.1. Stress oxydatif :

C'est le déséquilibre de balance entre les antioxydants de défense cellulaire et les oxydants, ce phénomène se produit lorsque les substances oxydantes sont excessivement formées ou accumulées et que le mécanisme de défense est échoué (Bedlovičová et al., 2020). Il existe des recherches qui découvrents récemment d'après des expériences que les nanoparticules ont des capacités à transformés rapidement l'oxygène en substance moins réactives, ainsi qu'elles ont des propriétés proches de celles du superoxyde dismutase (SOD). Cette enzyme lutte contre les radicaux libres en catalysant la transformation d'ions superoxyde en H_2O_2 et O^{2-} Un autre intérêt de ces NPs est qu'elles convertissent des superoxydes sans affecter les molécules d'oxyde nitrique (ou monoxyde d'azote NO). Ce dernier est un radical libre qui interagit avec l'ion superoxyde pour donner le peroxydinitrite, composé extrêmement réactif et toxique. Ces

nanoparticules sont donc particulièrement intéressantes pour lutter contre des maladies qui impliquent des radicaux libres : traitement des lésions cérébrales traumatiques, des AVC, des blessures aiguës d'organes ou de tissus. Ils peuvent aussi être employés dans le cadre de procédures médicales comme la greffe d'organe. En effet, à chaque fois qu'un tissu subit un stress important, des superoxydes peuvent se former (Ray, 2015).

5.3. Activité antiviral :

Des études récentes ont identifié les propriétés antivirales à large spectre des AgNPs contre les agents pathogènes respiratoires tels qu'adénovirus, virus de la grippe. Les AgNPs y parviennent en se fixant aux glycoprotéines virales et inhibant la multiplication virale et bloquant l'entrée dans la cellule hôte (Figure 08) (Morris et al., 2019).

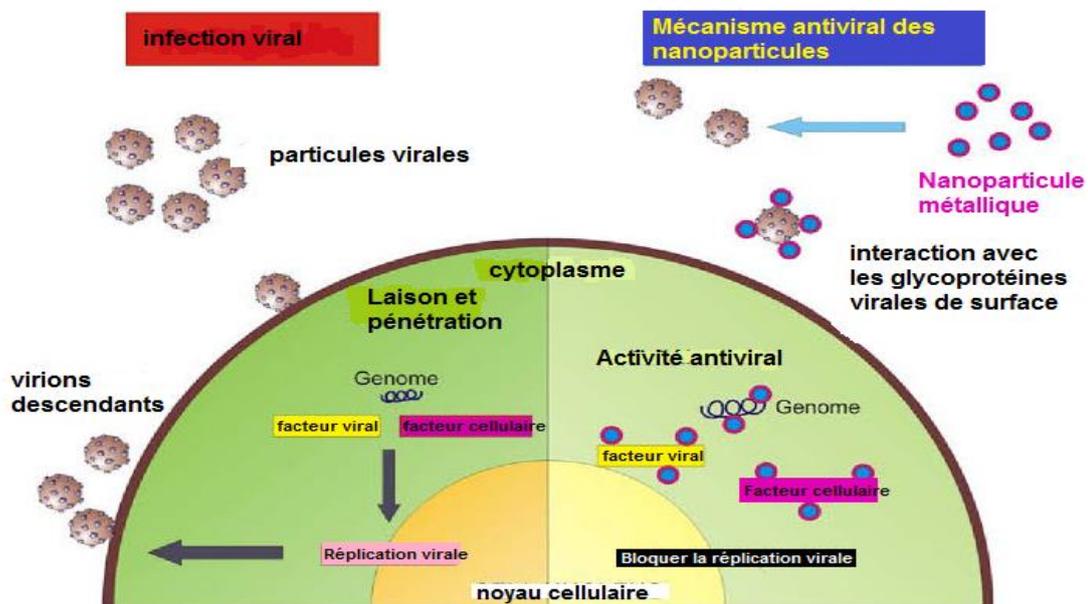


Figure 08 : Mécanisme antiviral des nanoparticules d'argent (Li et al., 2021)

5.4. Activité antifongique :

Les AgNPs ont une activité antifongique puissante contre *Candida albicans* (Kelkawi et al., 2017), *Bipolaris Sorokiniana*, *Mangnaporthe grisea* (Jo et al., 2009), *Trichophyton Mentagrophytes* (Kim et al., 2008). L'activité antifongique des AgNPs pourrait être exercée en perturbant la structure de la membrane cellulaire et en inhibant le processus normal de bourgeonnement en raison de la destruction de l'intégrité membranaire (Tran et Lee, 2013).

5.5. Activité anti cancéreuse :

Des chercheurs de Singapour proposent une approche originale pour détruire les cellules cancéreuses et leur idée se base sur l'utilisation des nanoparticules (Kern,2001). En effet ces nanostructures permettent d'envisager de nouveaux espoirs thérapeutiques (vu long,2013) Les AgNPs peuvent être considérés comme un outil prometteur dans la prévention contre divers types de cellules cancéreuses, comme le carcinome hépatocellulaire, le cancer du poumon et du sein, et le carcinome cervical en raison de leur meilleure pénétration, leur propriétés anti-antigéniques et antiprolifératives et la facilité de leur suivi dans le corps (Tarannum et Gautam, 2019). Beaucoup d'études suggèrent que l'activité anti tumorale de l'argent colloïdale sur les cellules cancéreuses passe par la formation de ROS à l'intérieur de la cellule. L'augmentation de la formation de super oxyde et de peroxyde d'hydrogène affecte aussi la transduction du signal déclenchant l'apoptose (Kasithevar et al.,2017). Ainsi que, la propriété antiproliférative médiée par les AgNPs dans les cellules cancéreuses est due à leur capacité à endommager l'ADN, à casser le chromosome, à produire une instabilité génomique et à perturber l'homéostasie du calcium (Ca^{2+}) qui induit l'apoptose et provoque une instabilité du cytosquelette. La lésion cytosquelettique bloque le cycle et la division cellulaire, favorisant l'activité antiproliférative des cellules cancéreuses (Lee et Jun, 2019).

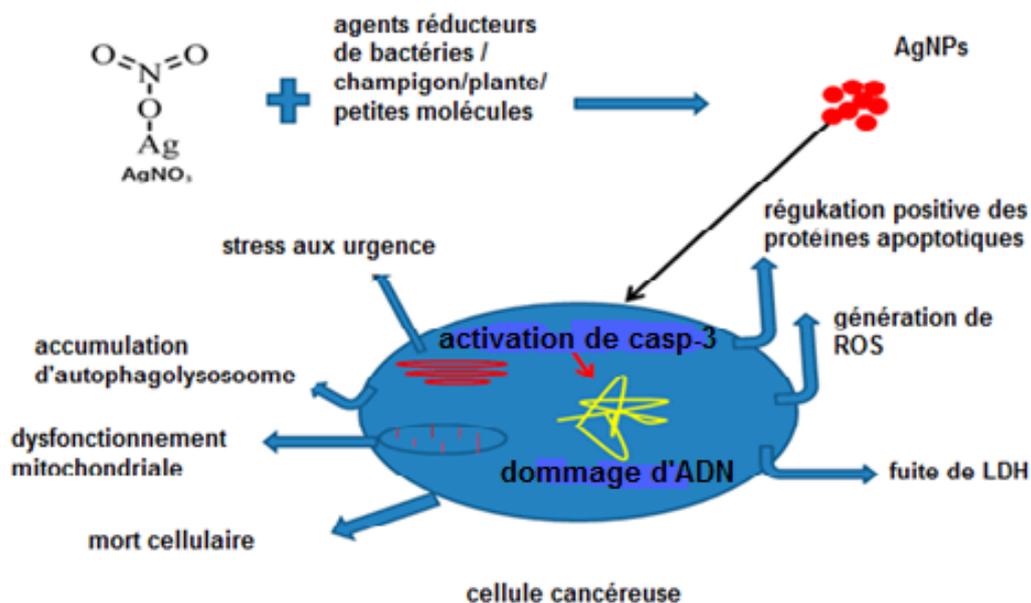


Figure 09 : Mécanisme de cytotoxicité des AgNPs dans la cellule Cancéreuse (Zhang et al., 2016).

6. Les bienfaits d'argent colloïdal :

Les utilisations médicales et non médicales d'argent colloïdal sont en augmentations, il est souvent considéré comme alternative aux antibiotiques en raison de :

- Propriétés antibactériennes, un remède miracle dans toute sorte d'indication telle que : le psoriasis, la malaria, l'acné, etc (**Dasiniere, 2019**).
- Stimuler le système immunitaire et aider le corps à se guérir (**Dasiniere, 2019**).
- Aide à la cicatrisation des plaies cutanées, lorsque les nanoparticules d'argent incorporé dans des pansements ou des bandages (**Dasiniere, 2019**),
- Améliorer les troubles cutanés et prévenir ou traiter les maladies comme : la grippe, la pneumonie, l'herpès, les infections oculaires, le cancer, le SIDA (**Dasiniere, 2019**).

7. Effets toxiques des nanoparticules d'argent :

L'argent a des effets potentiellement toxiques sur la santé humaine et il peut entrer dans le corps humain par divers portails comme l'ingestion, l'inhalation de poussières ou fumées contenant de l'argent, contact avec la peau et acupuncture aiguilles et par l'application de crèmes anti-brûlures (**Panyala et al., 2008**). De nombreux effets indésirables ont été signalés en raison d'une exposition chronique à des ions d'argent libres comme une décoloration permanente bleuâtre-gris de la peau (argyrie) et les yeux (argyrose). Les nanoparticules d'argent présentent aussi un risque sur le système reproducteur masculin (les nanoparticules traversent la barrière des testicules sanguins et se déposent dans les testicules, il existe un potentiel d'effets indésirables sur les spermatozoïdes) (**Guilger-Casagrande, 2019**) et entraîne aussi l'atrésie ovarienne chez la femme exposée aux nanoparticules d'argent (**Chauvel, 2018**). La toxicité orale de l'AgNPs chez le rat a été testée dans une étude *in vitro* qui a montré que le foie était l'organe cible du nanosilver. Les études histopathologies ont montré qu'il y avait une incidence plus élevée d'hyperplasie des voies biliaires, avec ou sans nécrose, fibrose et pigmentation chez les animaux étudiés (**Selim et al., 2017**).

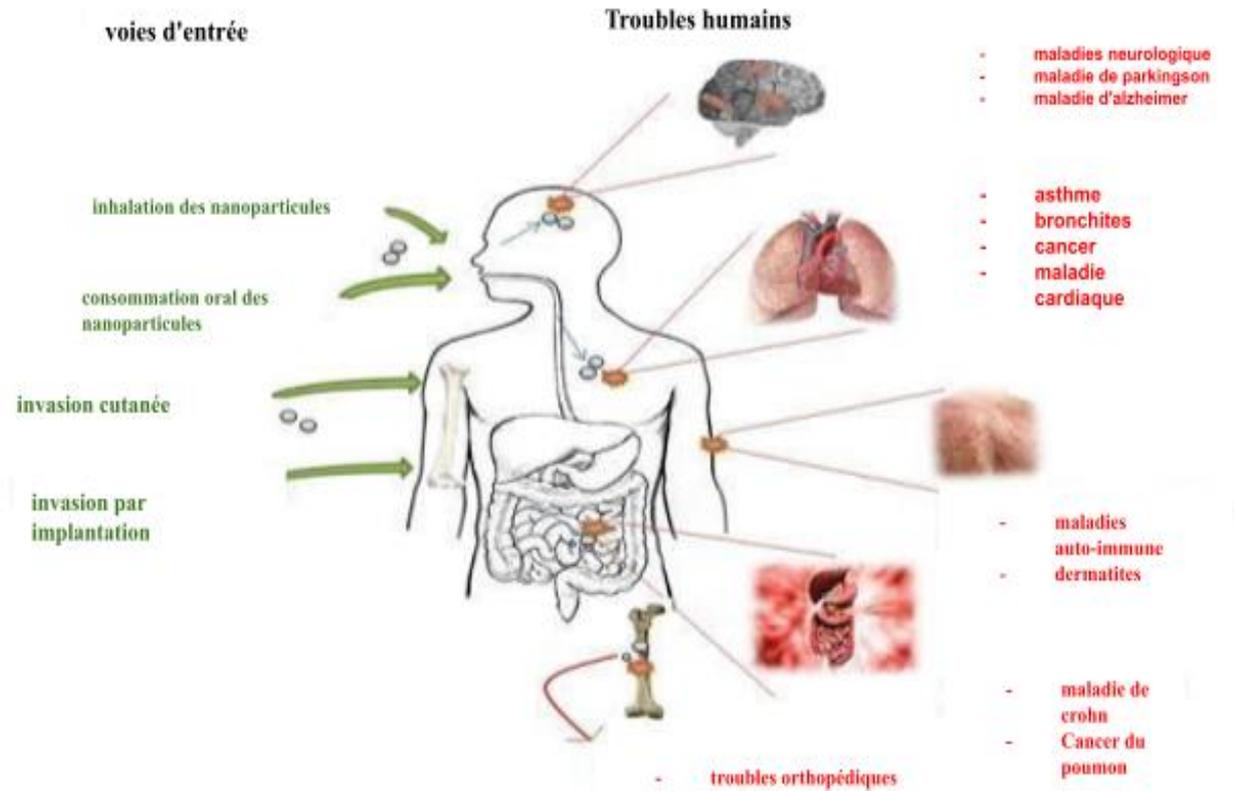


Figure 10 : Les voies d'exposition aux nanoparticules, les organes affectés et les maladies associées (Manickam et al.,2017).

7.1. Mécanisme de toxicité des nanoparticules d'argent :

La toxicité du nano-argent est étroitement liée à sa transformation dans les milieux biologiques et environnementaux, y compris l'oxydation de surface, la libération d'ions argent et l'interaction avec les macromolécules biologiques (ADN, protéines, glycoprotéines...etc) (Mcshan et al.,2014). La toxicité des nanoparticules est résumée en quatre étapes (Voir la figure 11) :

1. Les AgNPs peuvent interagir avec les protéines membranaires et activer les voies de signalisation conduisant à une inhibition de la prolifération cellulaire (Mcshan et al.,2014).
2. La pénétration des nanoparticules d'argent à l'intérieur de la cellule par endocytose provoque un dysfonctionnement mitochondrial (perturbation de la chaîne respiratoire) (Mcshan et al.,2014).
3. Les nanoparticules d'argent peuvent participer à la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Ces molécules sont d'une grande réactivité biologique et peuvent

endommager les parois des cellules ce qui peut induire des réactions d'inflammation, voire de fibrose toxique (Kurtz-chalot, 2014).

4. L'interaction des nanoparticules d'argent à l'ADN conduit également à l'arrêt du cycle cellulaire induisant ainsi l'apoptose. (Jeyaraj et al.,2019).

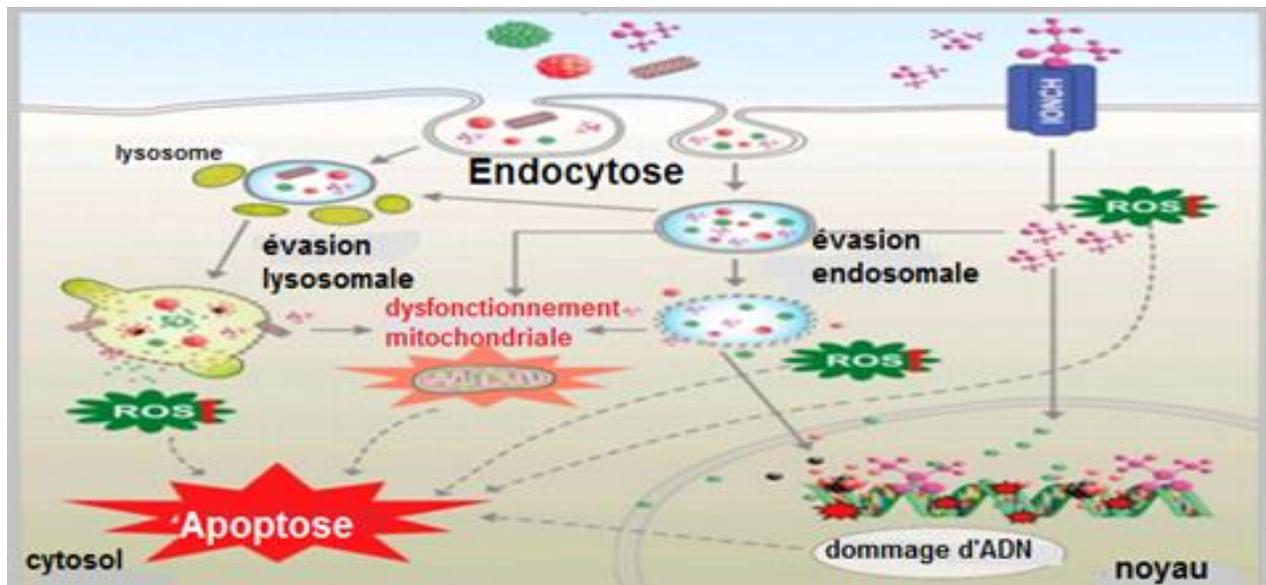


Figure 11 : Mécanisme de toxicité des nanoparticules d'argent à l'intérieur d'une cellule (Jeyaraj et al.,2019).

8. Les applications des nanoparticules d'argent :

De nos jours, l'incorporation des AgNPs dans divers domaines grâce à leurs propriétés particulières (Badri, 2018).

- 1) **Textile** : l'industrie de textile a été encouragée à utiliser des AgNPs dans divers tissus textiles (Zhang et al., 2009). Les tissus traités à l'argent ont été présentés une réduction bactérienne de 99,01% de staphylococcus aureus et de 99,26% de E-coli avec une réduction antimicrobienne de plus de 98,77% (Mishra,2015).
- 2) **Agriculture** : l'utilisation bénéfique des nanoparticules d'argent dans le domaine agroécosystème pour la gestion des maladies des plantes (savary,2015), augmenter la production végétale, la nutrition des plantes, les AgNPs peuvent être livrés avec des pesticides aux cultures pour améliorer la production des cultures en agriculture (Badri, 2018).
- 3) **Cosmétologie** : les AgNPs sont connues pour monter une activité antimicrobienne et anti-inflammatoire, qui peut être utilisée, par exemple, dans le traitement d'acné et

des pellicules, ainsi que dans le processus de cicatrisation des plaies ou des brûlures. Ils peuvent être également un composant actif de produits appliqués sur les muqueuses, tels que les produits d'hygiène bucco-dentaire et dentaire (Kapuścińska, 2016).

4) **Environnement et écologie** : Diminution des émissions de dioxyde de carbone, production d'eau ultra pure à partir d'eau de mer, pesticides et fertilisants plus efficaces et moins dommageables, analyseurs chimiques spécifiques (Metiaz et Boudiba, 2020).

5) **Domaine médical** : les nanoparticules d'argent sont introduites dans :

Les textiles médicaux tel que les champs opératoires, les draps chirurgicaux, ainsi que ces nanoparticules métalliques trouvés en mélange avec le caoutchouc des semelles de chaussures orthopédiques pour éliminer les germes et permettent de maintenir l'hygiène ; ils ont présent dans les pansements pour le traitement des brûlures pour inhiber la prolifération de germe, améliore la cicatrisation, ainsi que dans les pansements pour les plaies sèches. Elles revêtent aussi les cathéters, les valves cardiovasculaires, etc. (Kapuścińska, 2016). Ainsi que dans la médecine l'application de ces NPs comme : un marqueur biologique fluorescent, administration de médicament, diagnostic des pathologies, génie tissulaire, amélioration du contraste IRM (Salata, 2004).



Figure 12 : Applications de nanoparticule d'argent (Zhang et al.,2009).

9. Monographie du plant étudiée : *Origanum vulgare L*

9.1. Description botanique d'*Origanum vulgare L* :

L'*Origan vulgaire L* est une herbacée vivace de la classe des dicotylédones et de la famille des *Lamiaceae* qui mesure de 30 à 80 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorantes quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Bouras, 2019). L'Origan est une plante à tiges dressées, généralement poilues, quelques fois glabres. Elles portent les feuilles à bord entier ou denté généralement ovales et à pointe émoussée, est une plante originaire des montagnes du bassin méditerranéen, largement présent des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie (Mahfouf, 2018). Très commune dans les endroits secs et ensoleillés. (Bouhaddouda, 2016). Fleurit de mois de Mai à Octobre, C'est une plante hémicryptophyte. Ce sont des vivaces dont les bourgeons de renouvellement sont situés au niveau du sol. En effet, les parties aériennes meurent pendant la mauvaise saison, et la plante peut donc repartir à partir des bourgeons de renouvellement (Mahfouf, 2018).



Figure 13 : photographie d'Origan.



Figure 14 : *Origanum vulgare L* (Bernard, 2019)

9.2. Classification botanique d'*Origanum vulgare L* (Makhlouf, 2018) :

Règne	Plantea
Espèce	<i>Origanum vulgare</i>
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes

Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Origanum

9.3. La dénomination vernaculaire d'Origan (Bernaoui et al., 2018) :

Nom scientifique	<i>Origanum vulgare L</i>
Noms communs	Origan, origan commun, origan vulgaire, origan vrai
Nom français	Origan
Nom anglais	Oregano
Nom arabe	الزعتر, zaatar

Chapitre II

Matériels et méthodes

I.1. Objectif de travail :

Le présent travail de fin d'étude qui traite la synthèse biologique d'argent colloïdal à partir d'extrait aqueux de feuille d'Origan (*Origanum vulgare L*), cette méthode permet d'obtenir facilement les nanoparticules d'argent de forme cristalline et de taille relativement calibrée, ainsi que leur caractérisation par différent moyen instrumental « UV-visible, DLS et le potentiel zêta », et leur évaluation antimicrobienne et antifongique. À la fin procéder à une formulation pharmaceutique sous forme d'une crème dermique.

I.2. Lieu de stage :

Il s'agit d'une étude prospective de l'année 2021. Concernant la synthèse de la solution d'argent colloïdal est réalisée au niveau de centre de recherche de plante aromatique et médicinale à l'université de Blida par madame Moumen pendant 3 jours.

En ce qui concerne l'évaluation d'activité antimicrobienne des AgNPs qui a été effectuée au niveau de laboratoire d'hygiène - Blida de durée de 20 jours.

II. Matériel :**1- Matériel chimique :**

La solution de nitrate d'argent (AgNO_3) que nous avons utilisé de concentration 1mM dans un volume de 500 ml d'eau bidistillé, qui a été préparée selon la méthode suivante :

NB : 1mM (AgNO_3) = 169,87g/mol

- Calculer la masse de nitrate d'argent :

$$\begin{array}{l}
 \left. \begin{array}{l}
 n = \frac{m}{M} \\
 C = \frac{m}{M \times V}
 \end{array} \right\} \longrightarrow \begin{array}{l}
 m = C \times V \times M \\
 m = 0,1 \times 0,5 \times 169,87 \\
 \boxed{m = 8,49 \text{ g}}
 \end{array}
 \end{array}$$



Figure 15 : Photographie de la solution de nitrate d'argent préparée

2- Matériel biologique :

2.1- Les souches bactériennes utilisées :

Les bactéries utilisées sont des espèces Gram⁺ et Gram⁻, qui sont partagées entre des souches de références qui viennent de l'American Type Culture Collection (ATCC), obtenus à partir d'institut Pasteur et conservé dans le laboratoire d'hygiène- Blida. Ces souches ont été maintenues sur des géloses inclinées nutritives à 4°C. Le screening antimicrobien a été réalisé sur 4 souches bactériennes et concernant le screening antifongique nous avons utilisé 1 levure et 1 champignon (**voir le tableau 02**).

Tableau 02 : Les souches bactériennes et mycéliennes utilisées dans le screening antibactérien et antifongique *in vitro*.

Les souches testées	Caractères bactériologiques	Habitats	Pouvoir pathogène	Les références
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	Bactérie Gram ⁻	-Le tube digestif	Diarrhées sanglantes Douleurs abdominales Vomissement, fièvre Septicémie méningite du nourrisson.	(François, 2013)
<i>Staphylococcus aureus</i>		- Les fosses nasales et mains -La gorge	Infections cutanées (furoncles, abcès).	(Lee et al., 2018)

ATCC6538	Bactérie Gram ⁺	-Le tube digestif	Les infections ORL (angines, otites, sinusites) Intoxication alimentaire	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	Bactérie Gram ⁺	-Le sol	Intoxication alimentaire	(Bouhairi, 2017)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027	Bactérie Gram ⁻	-Le sol -L'eau et les milieux humides	Infections urinaire, Pulmonaire et cutanée, maladie mucoviscidose	(Haute autorité de santé, 2019).
<i>Candida albicans</i> ATCC1023	Levure	-Les voies génitales -Tube digestif -Appareil buccale et la peau	Fièvre, candidose Infection focale de divers organes Insuffisance rénale	(Anne , 2019)
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC16404	Moisissures	-Le sol -Les usines industrielles	Infection pulmonaire (aspergillose)	(Felix, 2020)

III- Mode opératoire :

1- Préparation de l'extrait aqueux de plante :

L'Origan (*Origanum vulgare L*) provient de la région de chréa, récolté au mois d'avril, sa systématique a été vérifiée au niveau de département d'Agronomie.

Nous avons rincé les feuilles d'origan à l'eau du robinet et à l'eau bidistiller pour la 2^{ème} fois, et séché la plante à l'air. Des extraits aqueux de feuille d'origan ont été préparé par le Protocol de (**Ruiz-Romero et al.,2018**), tout d'abord, nous avons pesé 30 g de feuille fraîche et couper en petit morceaux ensuite, en a mélangé avec 300 ml d'eau déminéralisée dans une fiole à volume de 500 ml puis, nous avons mis le mélange sur une plaque chauffante à magnétique à température 60°C pendant 30 minutes. Après le refroidissement d'échantillon en a centrifugés à 4000 tr/min pendant 20 minutes pour éliminer les impuretés. A la fin en a filtrés l'échantillon par un papier wattman N°1 pour obtenir une solution pure et claire, ensuite stocker à 4°C jusqu'à l'utilisation.

2- Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) :

Dans un erlenmeyer de 100 ml mélanger 40 ml de solution de nitrate d'argent (AgNO_3) 1mM avec 10 ml d'extrait aqueux de de feuille d'origan et maintenu à température 60°C durant 15 minutes sur une plaque chauffante. Le changement de couleur de la solution en jaune brun a indiqué la formation d'AgNPs. (**Ruiz –Romero et al., 2018**).

3- Caractérisation des NPs d'argent :

3.1 - Spectroscopie UV-visible :

Spectroscopie UV-visible est utilisé pour surveiller la formation des nanoparticules d'argent en mesurant le spectre UV-vis (**Patra et al., 2014**). Pour cela, dans une cuve en quartz nous avons mettons notre extrait aqueux d'origan + AgNO_3 et placé dans le spectrophotomètre, le balayage a été effectué à intervalles réguliers pour vérifier l'intensité de la bande de résonance plasmonique de surface dans la plage de 350 - 450 nm. L'eau a été utilisée comme un blanc. L'appareil est relié à un microordinateur. Le logiciel UV-Probe, permet l'enregistrement et la visualisation des spectres des échantillons Analysés sous forme de pic d'absorbance.

3.2- Diffusion dynamique de la lumière (DLS) :

La mesure de la diffusion dynamique de la lumière ou DLS permet de décrire le profil de distribution de taille de petites particules au sein d'une solution. La caractérisation des particules est réalisée au moyen d'une analyse des fluctuations temporelles de l'intensité diffusée par l'échantillon. Après un traitement du signal par une méthode d'autocorrélation, nous obtenons grâce au profil de la courbe une constante de temps qui caractérise la particule et nous permet de remonter à sa taille (Théo., 2018).

3.3- Mesure du potentiel zêta :

La mesure du potentiel zêta permet la détermination de la charge électrique d'une particule en suspension. Cette grandeur indique la nature des interactions entre les particules chargées et ceux des états colloïdaux (Bentaher., 2016).

4- Evaluation du pouvoir antimicrobienne :

L'efficacité anti bactérienne des AgNPs a été testée contre des cultures bactériennes de Gram positives dans notre travail nous avons utilisés (*Staphylococcus aureus ATCC 6538*, *Bacillus subtilis ATCC 6633*) et des bactéries Gram négative que nous avons utilisés comme modèle (*Escherichia coli ATCC 8739*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027*), et contre des cultures fongiques c'est à dire (*Candida albicans ATCC 10231*, *Aspergillus brasiliensis ATCC 16404*).

4.1- La méthodologie de diffusion sur disque :

Pour atteindre les objectifs de cette étude, l'extrait aqueux d'AgNPs à base des feuilles d'Origan a été évalué *in vitro*, en utilisant la méthode standard de microbiologie à savoir, technique de diffusion sur disque de papier.

➤ Préparation et standardisation d'inoculum :

Deux colonies de chaque bactérie qui ont été isolées à partir des cultures jeunes sur milieu gélosé nutritive incubé à 37°C pendant 18-24h (Benyagoub et al.,2018), sont prélevés et introduites dans un 9 ml d'eau physiologique stérile (0,9% NaCl) contenue dans un tube stérile (Voir la figure 16). (Khribche et al.,2018), qui ont une turbidité de 0,5 MC Ferland, ce qui correspond à une densité optique de 0,08-0,13 et de longueur d'onde de 620 nm (Benyagoub et al.,2018).

➤ **Ensemencement :**

L'ensemencement se fait dans les 15 minutes qui suivent la préparation d'inoculum, cette étape est réalisée par écouvillonnage et autour de la zone de stérilisation de bec benzène pour éviter les contaminations. Le milieu MH (bactérie) ou sabouraud (champignon) a été coulé dans des boîtes de pétri et laisse solidifier. Puis, un écouvillon stérile a été Prolongé dans la suspension bactérienne et en éliminant l'excès de l'inoculum en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Ensuite, on étale la surface entière de la boîte d'agar 3 fois en faisant tourner la boîte de pétri environ 60°C entre les stries pour assurer la distribution uniforme. Enfin nous avons passés la suspension sur le bord de la gélose pour éliminer tout excès d'humidité et assuré la distribution totale de la suspension bactérienne.

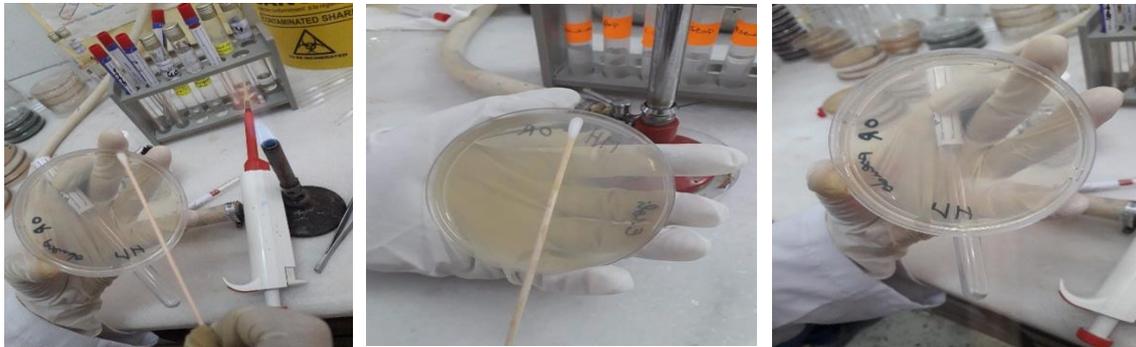


Figure 16 : Ensemencement de la suspension sur la gare à l'aide d'écouvillon.

➤ **Application des disques (Aromatogramme) :**

Pour déterminer la sensibilité des souches de références (bactéries et les mycoses) vis-à-vis la solution d'argent colloïdal a été déterminé par la méthode de l'aromatogramme. Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de 9 mm de diamètre sont déposés sur la surface de la gélose (**Kherbiche et al., 2018**). Et à l'aide d'une micropipette nous avons versé des doses croissantes (20-40 μ l) de notre solution d'argent colloïdal pure (sans dilution) sur les disques. Et par la suite dans chaque boîte de pétri nous avons ajouté comme un témoin des disques d'antibiotiques pour les bactéries, dans notre cas en a utilisé le Gentamicine et des disques anti fongiques pour les champignons et levures (Fluconazole), nous avons déposé à l'aide d'une pince stérile ces disques de référence en appuyant doucement sur chaque disque pour s'assurer de son application et pour assurer un contact uniforme avec le milieu. Chaque boîte de pétrie est ensuite fermée et incubée dans l'étuve à température adéquate.

Après l'incubation à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 3 à 5 jours à 25°C pour les champignons et les levures, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle graduée en millimètre de l'extérieur de la boîte fermée et les résultats obtenus ont été interprétés en fonction des diamètres critiques recommandés pour chaque antibiotique et antifongique (Kherbiche *et al.*, 2018).



Figure 17 : Application de disque d'antibiotique sur la gélose

➤ **Lecture des résultats :**

Les résultats sont exprimés par le diamètre des zones d'inhibition, ou par des symboles (-) ou (+) qui expriment la sensibilité ou la non sensibilité (résistance) de la souche vis à-vis de l'extrait testé (Ponce *et al.*, 2003).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- Extrêmement sensible : diamètre > 20 mm.



Figure 18 : Règle graduée en millimètre (Vernier Caliper).

5- Contrôle de qualité microbienne de la crème dermique *in vitro* :

5.1- Préparations galéniques = Crème dermique :

L'objectif assigné à cette étude sera la mise au point d'une formule topique adaptée contenant l'argent colloïdal-extrait d'une plante. La forme pharmaceutique choisie est celle d'une émulsion hydrophile largement utilisée pour le traitement local des pathologies cutanées. Le protocole de fabrication est celui d'une émulsion hydrophile classique selon le mode opératoire suivant :

- **Préparation de la phase huileuse :** déposer dans un bécher la quantité appropriée d'huile de paraffine, de la cire et/ou du beurre, et différents émulsifiants et/ou co-émulsifiants.
 - **Préparation de la phase aqueuse :** mélanger l'eau distillée, un hydratant de la peau et une base neutralisante pour régler le pH.
- Mise des deux béchers au bain-marie à 70-80 °C jusqu'à fusion complète des composés.
 - La phase aqueuse sera versée dans la phase grasse par petites fractions en mélangeant entre chaque adjonction jusqu'au refroidissement.
 - Après refroidissement et à température ambiante, l'addition de l'argent colloïdal à une concentration de 0.5% (v/w) sous une homogénéisation.

- Addition d'un conservateur de synthèse.

5.2- Composition chimique de la crème :

- **Eau distillée**
- **Huile de paraffine (Paraffinum Liquidum) :** Elle est utilisée dans les cosmétiques en tant qu'agent adoucissant et filmogène, elle est occlusive, et crée un film pour protéger la peau. On la retrouve dans de très nombreux produits comme les hydratants ou les baumes à lèvres. Elle présente un certain nombre d'avantages pour l'industrie des cosmétiques car elle est incolore et inodore, elle est bien tolérée par la peau et y pénètre peu, elle est peu coûteuse, ne s'oxyde pas et se conserve bien ; elle est très appréciée comme excipient des agents actifs des produits cosmétiques, auxquels elle permet d'être plus efficaces.
- **Beurre de karité (Butyrospermum parkii) :** Il est composé principalement de triglycérides, d'acides gras, des esters de cire et d'actifs : parmi ceux-ci, des vitamines, des esters résineux, des phytostérols, du latex. Il est utilisé dans de nombreux cosmétiques pour ses propriétés assouplissantes et adoucissantes pour l'épiderme. Il peut aussi protéger la peau et le cuir chevelu des nombreuses agressions extérieures. C'est aussi un agent de contrôle de la viscosité.
- **Diméthicone Copolyol :** c'est un émoullient (adoucit et assouplit la peau).
- **Oleth-10 (Eumulgin® O 10) :** c'est un agent émulsifiant qui favorise la formation de mélanges intimes entre des liquides non miscibles en modifiant la tension interfaciale (eau et huile).
- **Hydroxyde de sodium :** Une base pour neutraliser le pH.
- **Méthylchloroisothiazolinone (Katon CG) :** utilisé en tant que conservateur synthétique dans les produits cosmétiques. Il a été employé en substitution des parabènes dans les produits dits "sans parabènes".

5.3- Méthode de contrôle de qualité de la crème dermique :

L'objectif de ce contrôle est d'apporter les moyens de vérifier que la formulation dermo-cosmétique préparée réponde aux exigences microbiologiques spécifiées dans les monographies de la **Pharmacopée Européenne (2002)**. Les analyses à effectuer se résument en la recherche et le dénombrement des germes aérobies viables totaux et la recherche des germes spécifiés.

La méthode repose sur une série des dilutions successives (d'au moins 3) de produit réalisé au 1/10. Cette méthode consiste à :

- 1) Peser 1g de la crème dermique.
- 2) Diluer dans 9 ml d'eau physiologique dans des tubes stériles, homogénéiser bien la solution.
- 3) Prendre 1ml de la solution mère et répartie sur 3 tubes et chaque tube contient 9ml d'eau physiologique (10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}).



Figure 19 : Préparation des dilutions 1/10

Le dénombrement peut s'effectuer sur différent types de milieux :

1) Ensemencement en profondeur :

Prélever 1ml à l'aide de pipette pasteur de chaque dilution et transférer sur un milieu de culture liquéfié Gélose Tryptone Glucose Extract (TGEA), adapté à la culture des bactéries (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), puis, incuber à 37°C pendant 24h.

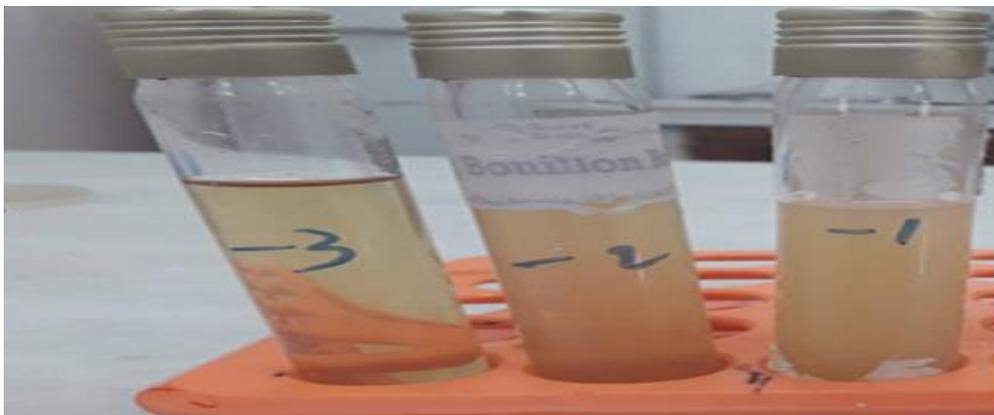


Figure 20 : Ensemencement en profondeur

2) Ensemencement en surface :

Objectif de déterminer des flores aéro-mésophiles, levures et moisissures. Pour cela, Sur un milieu solide qu'on a déjà préparé (Cetrimide, Chapman, Sabouraud), nous avons prélever 1 ml de chaque dilution à l'aide d'une pipette pasteur puis, en déposant ce volume au centre de la gélose solide ensuite, nous avons étalé à l'aide d'une pipette râteau le volume sur toute la surface de la gélose.

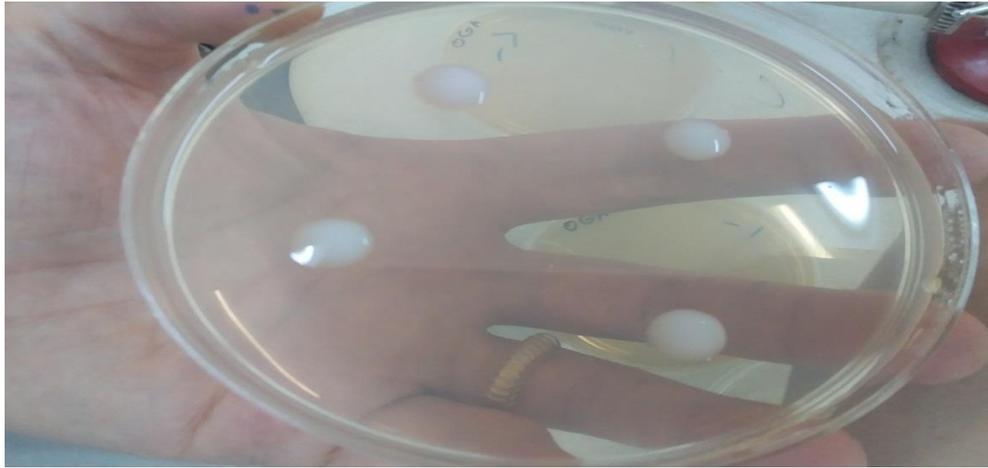


Figure 21 : Dépôt de 4 gouttes de la solution sur le milieu de culture

2.1) Ensemencement en masse :

Nous avons prélevé 1ml à l'aide d'une pipette pasteur de chaque dilution puis en a déposer ce volume goutte à goutte sur la surface d'une boîte de pétri vide et en a coulé 15ml de milieu de culture en surfusion (oxytétracycline gelose agar) puis, homogénéiser délicatement en forme huit sur paillasse. Laisser refroidir la gélose sans la bouger. Refermer les boîtes de pétri et placer dans l'étuve à 37°C pendant 24h et le milieu OGA à 25°C pendant 3-5 jours d'incubation.

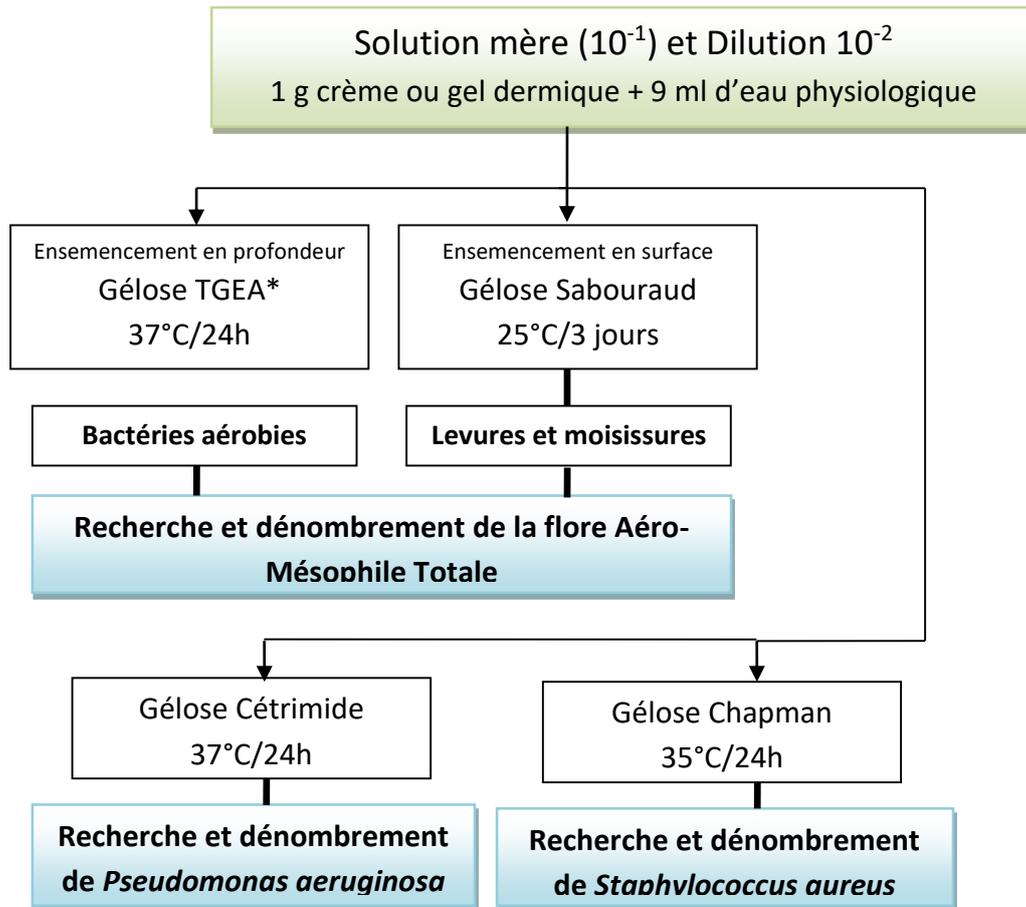


Figure 22 : Méthodologie d'évaluation de la qualité microbiologique de la formulation dermo-cosmétique semi-solide préparée (**Pharmacopée Européenne, 2002**).

CHAPITRE III

Résultats

I. Caractérisation par changement de couleur de la solution d'argent colloïdal :

Lorsque l'infusion d'*Origanum vulgare L* a été ajoutée à la solution aqueuse de nitrate d'argent, la solution est initialement restée incolore. Mais après quelques minutes, la couleur du mélange a commencé à virer au jaune foncé après 20 minutes présenté sur la **figure 23**, indiquant la réduction des cations d'argent et la formations d'AgNPs dans la solution (**Kaushik et al., 2014**).

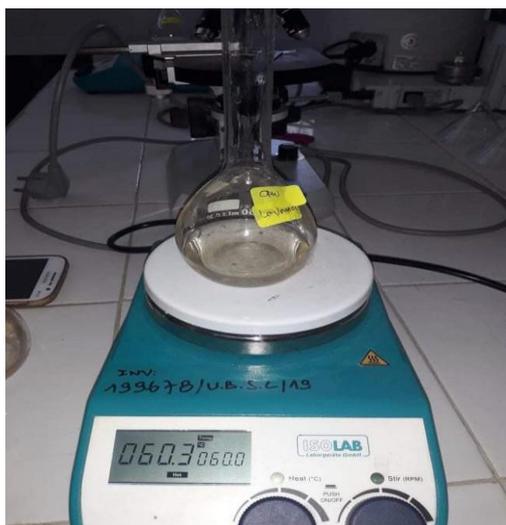


Figure 23 : Mélange à $t=0$



Figure 24 : Mélange après 20 min

II. Caractérisation :

II.1- Spectroscopie UV-visible :

La réduction des ions d'argent peut facilement être observée par le spectre UV-vis entre 300-500 nm présenté sur la figure 25. Il est clairement visible que l'absorbance optimale est obtenue à 450 nm, ce qui représente la caractéristique de la bande d'absorption des plasmons de surface (**Patra, 2014**). Cette bande est attribuée aux électrons libres des nanoparticules d'argent. Un élargissement du pic dans la plage de 350 à 450 nm est également observé indiquant que les particules sont polydispersées. (**Abbasi et al., 2014**).



Figure 25 : Spectre UV-vis des nanoparticules d'argent synthétisé à partir d'extrait d'OV-AgNPs

II.2- Diffusion dynamique de la lumière (DLS) :

La diffusion dynamique de lumière est une méthode capable de mesurer la taille des particules et des molécules en suspension dans un milieu liquide.

La **figure 26** représente la représentation graphique de la distribution granulométrique de la solution d'argent colloïdal. Nous constatons que La distribution granulométrique de l'échantillon présente une distribution de taille inférieure à 100 nm. De l'ordre de 67 nm. Ce qui confirme la bonne formation et la stabilité des nanoparticules d'argent colloïdal.

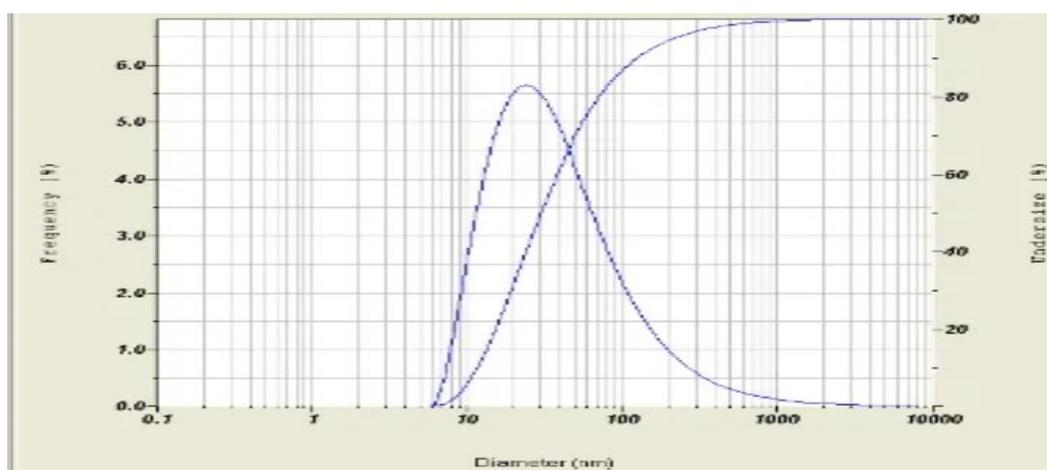


Figure 26 : Représentation graphique de la distribution granulométrique de la solution d'argent colloïdal obtenu par DLS.

II.3- Mesure du Potentiel zêta :

L'amplitude du potentiel zêta est une indication de la force répulsive présentée dans les nanoparticules et un facteur clé pour prédire la stabilité à long terme du système de dispersion colloïdale. La figure montre l'intensité en fonction du potentiel zêta et donne une valeur de -5,3 mV. Il est bien connu que le potentiel zêta dans la plage +/- 30 mV et +/- 20 mV est considéré comme idéal pour les nanoparticules stabilisés par effet stérique.

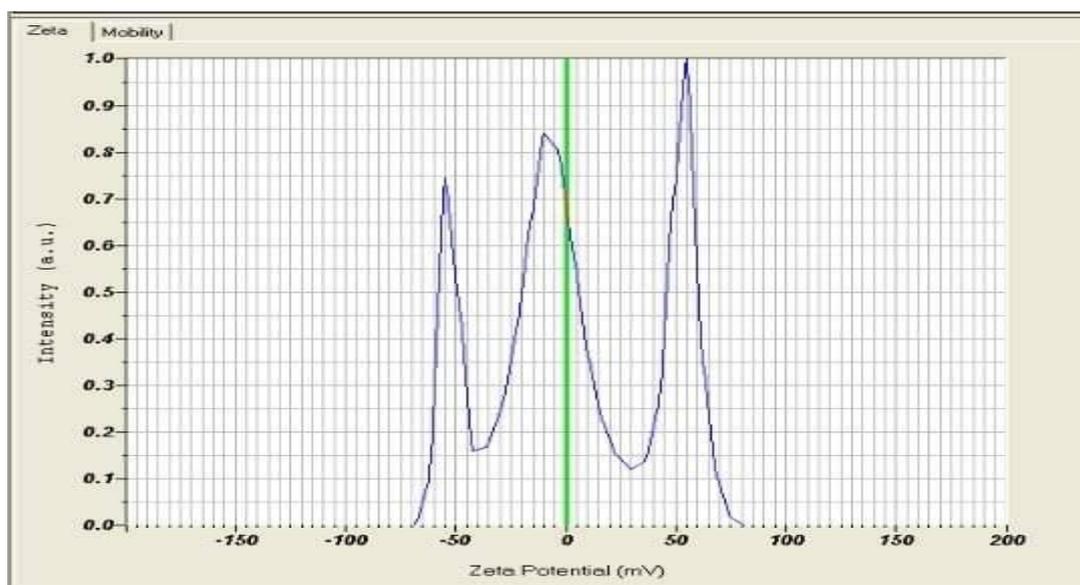


Figure 27 : Potentiel zêta de la solution d'argent colloïdal

III. Evaluation d'activité antibactérienne *in vitro* :

L'objet de ce test préliminaire est de vérifier et d'évaluer les propriétés antibactériennes d'extrait aqueux d'AgNPs *in vitro*. Après l'incubation à 37°C pendant 24 h, nous avons obtenus des zones d'inhibitions à partir des doses de 20 µl et 40 µl (voir figure 28). Les AgNPs présentaient une zone d'inhibition de 10 mm à dose 20 µl et 11mm à dose 40 µl vis-à-vis de bactérie Gram⁻ (*Escherichia coli*), contre le contrôle positif Gentamicine avec une zone d'inhibition de 18 mm et une zone d'inhibition de 0 mm à dose 20 µl et 5 mm à dose 40 µl vis-à-vis des bactéries Gram⁺, (*Staphylococcus aureus*) contre un zone d'inhibition de 20 mm du contrôle positifs Gentamicine. L'extrait aqueux d'AgNPs n'a eu aucun effet sur l'inhibition des champignons (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) après 3-5 jours d'incubation à 25°C. Les zones d'inhibitions sont indiquées dans le **tableau (3,4)** :

Tableau 03 : Screening antibactérien de la solution d'argent colloïdal *in vitro*

Antibiogramme	Aromatogramme		Antibiotique
	Quantité d'AgNPs (µl/disque)		
Souches	20	40	CN
Bactéries Gram⁺			
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	5	20
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	18
Bactéries Gram⁻			
<i>Escherichia coli</i>	10	11	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	20	18

(-) : Aucune zone d'inhibition ; CN= Gentamicine

Tableau 04 : Screening antifongique de la solution de l'argent colloïdal *in vitro*

Antifongigramme	Aromatogramme		Antifongique
	Quantité d'AgNPs (µl/disque)		
Souches	20	40	
Fluconazole			
Souches fongiques			
<i>Candida albicans</i>	-	-	18
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	-	18

(-) : Aucune zone d'inhibition

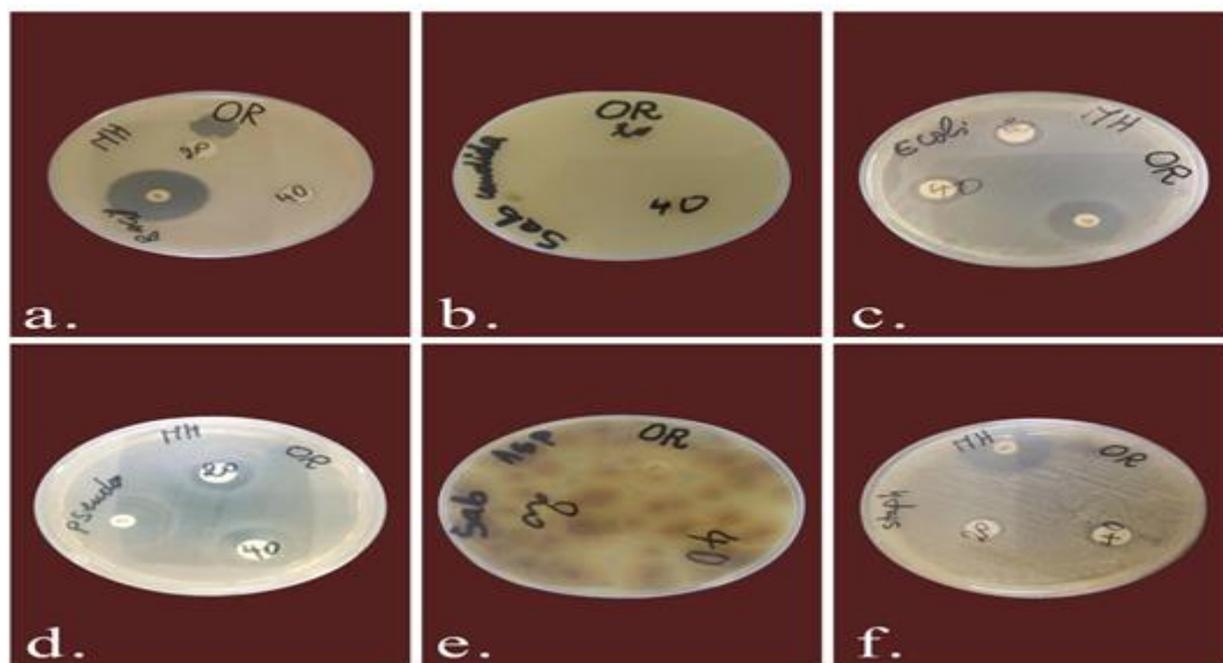


Figure 28 : Résultats d'antibiogramme de la solution d'argent colloïdal sur le milieu MH et Sabouraud. (a) *B. subtilis*, (b) *C. albicans*, (c) *E-coli*, (d) *P. aeruginosa*, (e) *A. brasiliensis*, (f) *S. aureus*.

IV. Contrôle de qualité microbienne de la crème dermique *in vitro* :

Le but de ce test est de vérifier la capacité de notre crème dermique à répondre à des exigences microbiologiques *in vitro*. Après l'incubation à 37°C pendant 24 h pour les souches bactériennes et à 25°C pendant 5 jours pour les souches fongiques. Nous avons obtenu ces résultats qui sont présentés dans le **tableau 05** :



Figure 29 : La crème dermique à base d'extrait aqueux d'OV-AgNPs.

Tableau 05 : Résultats de contrôle de qualité microbienne de la crème-dermique

Souches / Dilutions	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Bactéries aérobies	Absence	Absence	Absence
Levures et moisissures	Absence	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	Absence	Absence

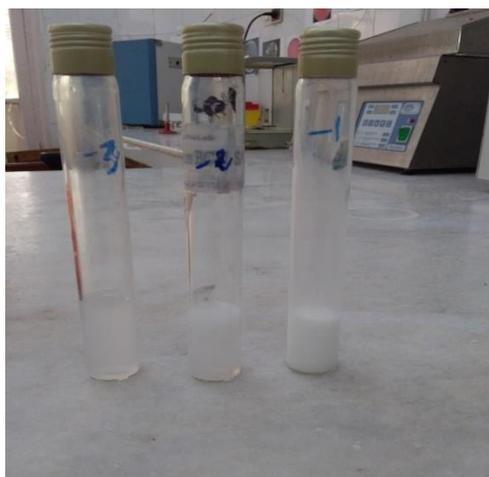


Figure 30 : Résultats de dilutions de crème



Figure 31 : Absence de *S. aureus*

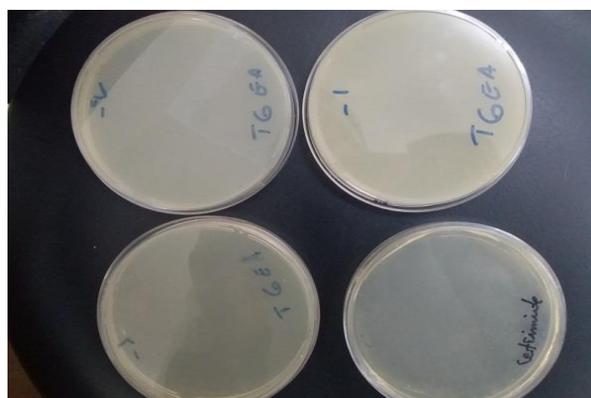


Figure 32 : Résultats dans le milieu TGEA et cetrimide avec les 3 dilutions.

Chapitre IV

Discussion

Les personnes infectées par des micro-organismes résistants aux médicaments passent généralement plus de temps à l'hôpital et nécessitent un traitement qui utilise deux ou trois antibiotiques différents et qui est moins efficace plus toxique et plus coûteux ce qui entraînent une augmentation significative de la mortalité et de la morbidité (**Humberto et al., 2010**). Par conséquent, le développement de nouvelles formules antimicrobiennes ou la modification de celles déjà disponibles afin d'améliorer leur activité antibactérienne pour la thérapie, l'asepsie ou la désinfection est un domaine de recherche hautement prioritaire (**Railean-Plugaru et al., 2016**). Depuis longtemps, l'argent a été utilisé comme agent antibactérien, antifongique et antiviral, car tout en étant très toxiques envers les micro-organismes, il est beaucoup moins toxique pour l'homme (**Li et al., 2011**).

Pour atteindre l'objectif de notre travail de recherche nous avons rapporté une synthèse simple, rapide et ecofriendly des AgNPs. En se basant sur un modèle biologique « les feuille d'Origan », mélanger avec la solution d'AgNO₃.

Tout d'abord, les résultats primaires montrent un virage de couleur vers le jaune foncé, ces observations laissent déjà penser d'où provient ces changements de couleur et pour y répondre on s'est référé à la littérature.

Dans notre étude nous avons détectés visuellement le changement de couleur de jaune claire vers le jaune brun à température 60°C, ce qui est concorde avec les résultats de **Shaik et al., (2018)** et **Hambardzumyan et al., (2020)**, dont les conditions opératoires qui diffèrent. (La température, l'obscurité). La raison pour laquelle il aura le changement de la couleur est due à la présence de carvacrol (principe actif de feuille d'Origan), dans les feuilles d'Origan qui peut jouer un rôle crucial en tant qu'agent réducteur puissant dans cette réaction, ce qui réduit les cations d'Ag présentent dans la solution de AgNO₃ lors de l'interaction et qui par conséquent la formation des AgNPs.

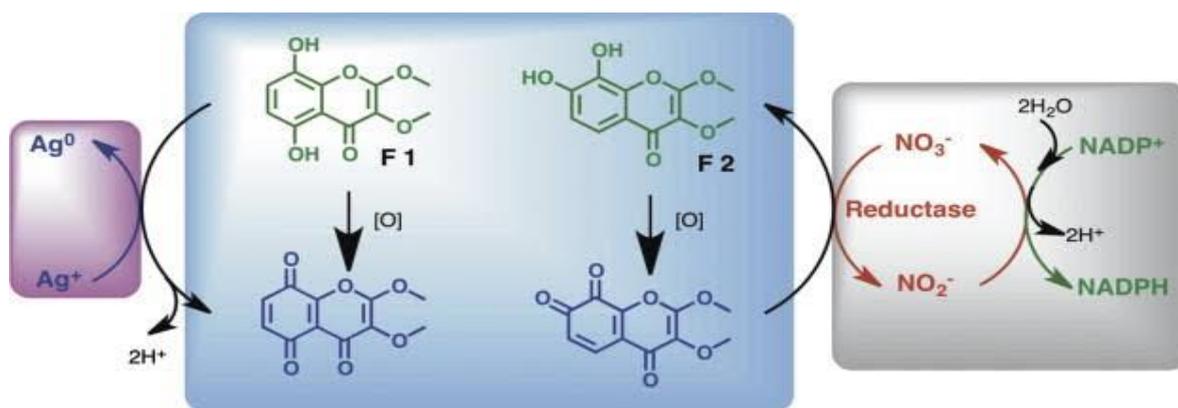


Figure 33 : Méthode de réduction (Mittal *et al.*,2014).

De plus, la cinétique des nanoparticules d'argent biosynthétisés suivi par UV-vis, ceci est clairement refléter par l'apparition d'une bande d'absorption autour de 450 nm. Notre résultat est semblable aux résultats de **Shaik *et al.*, (2018)** et les résultats de **Hambardzumyan *et al.*, (2020)**.

Les résultats d'analyse de la DLS à révéler que la taille moyenne des particules dans la solution préparée est de 67,7 nm qui indique la bonne formation ainsi que la stabilité colloïdale de la solution. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Hambardzumyan *et al.*, (2020)**.

Et concernant le potentiel zêta est un autre paramètre important pour comprendre la charge de surface et la tendance d'agrégation des nanoparticules, les données de la mesure de ce potentiel montrent un pique avec une valeur de -5,3 mV. Une solution avec une valeur d'un potentiel zêta entre +/-30 mV et +/- 20 mV est considéré stable ; donc selon notre résultat : la valeur -5,3 mV indique la stabilité de la solution (la répulsion ionique entre les particules est dominant devant les forces d'attraction de la solution). Alors les résultats obtenus sont assez proches aux résultats de **Hambardzumyan *et al.*, (2020)**.

Les résultats d'aromatogramme (**tableau 3,4**) montrent que les doses 20 μl et 40 μl ont une activité sur les bactéries Gram⁻ seulement. Les diamètres de zone d'inhibition augmentent avec l'augmentation de la dose d'extrait d'AgNPs, donc la concentration joue un rôle très important dans l'activité antibactérien de ce dernier par rapport aux bactéries. Les résultats sont en accord avec les résultats de **Shaik *et al.*, (2018)** et de **Hambardzumyan *et al.*, (2020)**.

Dans la littérature scientifique, on considère que les bactéries Gram⁻ sont plus sensibles que

les bactéries Gram⁺ vis-à-vis l'extrait d'AgNPs. L'action d'extrait sur les deux bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) a montré que cet extrait est plus actif sur les bactéries Gram⁻, on déduit que les réactions de sensibilité ou de résistance dépendent aussi de la structure de la paroi bactérienne et de la composition chimique d'extrait lui-même (Bousbia, 2011). La nature chimique de principe actif d'extrait d'origan montre une certaine affinité vis-à-vis des molécules constituant la paroi bactérienne (Chao *et al.*, 2000). Quelle que soit la bactérie utilisée, on observe des zones d'inhibition ce qui signifie qu'il y a de phénomène de diffusion de l'agent antibactérien et qui indiquant que les AgNPs présentent un effet inhibiteur de la croissance bactérienne, aussi appelé effet bactériostatique. Donc L'argent a été l'un des premiers antimicrobiens utilisés historiquement, mais notre étude montre que les NPs d'Ag peuvent être plus efficaces que l'argent (Najimu *et al.*, 2014). Maintenant on peut dire que l'activité antibactérienne plus élevée est due à la petite taille des nanoparticules d'argent. Ces AgNPs ont la capacité de pénétrer à travers de la membrane cellulaire de la bactérie et interagir avec des composés contenant du soufre, des protéines, ADN, ce qui fait que les bactéries perdent leur viabilité (perturbation membranaire), ce qui finissent par la mort cellulaire « apoptose ».

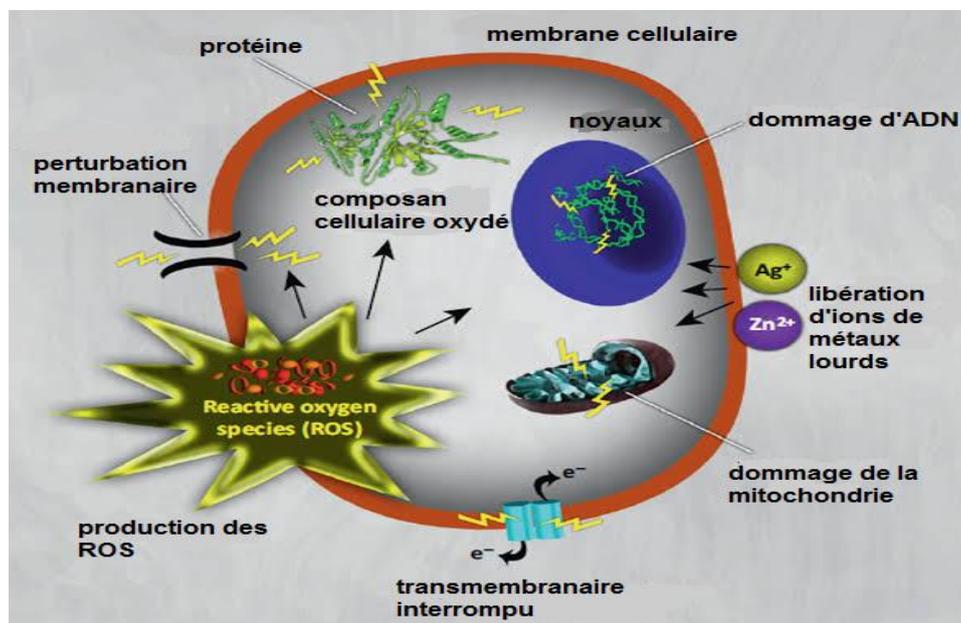


Figure 34 : Mécanisme d'action des AgNPs dans la cellule bactérienne (Sharma *et al.*, 2009)

Les résultats de l'inhibition bactérien par les nanoparticules d'argent synthétisé ont montré que :

- *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* : sont des bactéries de Gram⁻ sensible à notre solution d'argent colloïdal.
- *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* : sont des bactéries de Gram⁺ résistante à notre solution d'argent colloïdal.
- *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis* : sont des champignons résistants à notre solution d'argent colloïdal.

Tableau 06 : la comparaison entre les résultats de la biosynthèse d'Ag NPs.

Paramètre/ auteurs	Notre étude (2021)	Shaik <i>et al</i> (2018)	Harmand <i>et al</i> (2020)
Condition opératoire	Agitation T°=60°C Pendant 15 min	T°= 90°C	Agitation obscurité T°=23°C pendant 18h
La couleur	Jaune brun	Jaune brun	Jaune brun
La caractérisation	450 nm	440 nm	430 nm
Activité biologiques	-Méthode de diffusion sur disque -Les bactéries Gram ⁻ sont très sensibles par rapport aux Gram ⁺ , résistance aux champignons	- Méthode de diffusion sur disque. -P. aeruginosa (bactérie Gram négative) et S. aureus (bactérie Gram positive) sont sensibles Résistance fongicide	-Méthode de diffusion sur disque - Les bactéries Gram-sensible (E. coli) que les bactéries gram+

Dans la partie de préparation et de contrôle de qualité de la préparation galénique (crème dermo-cosmétique), nous avons trouvés que la crème dermique à répondre aux exigences microbiologiques. En a confirmé ça par les résultats de test de contrôle de qualité microbienne, notre crème dermique est totalement clair, l'absence des colonies et des troubles dans le tube dans les 3 dilutions et pas de changement de couleur, une couleur blanchâtre observé sur les tubes correspond à la solidification de la crème après l'incubation, ces

résultats sont en accord avec les normes de **la pharmacopée européenne, (2008)**. Alors, le test de contrôle de qualité microbienne a prouvé *in vitro* que la crème dermique est conforme.

Conclusion

Et

Perspectives

Conclusion

V. Conclusion générale :

Dans ce travail nous rapportons une méthode de synthèse simple, facile et n'est pas coûteuse des AgNPs qui a été réalisée en utilisant un agent réducteur vert obtenu à partir d'*O. vulgare L.* Les résultats de caractérisation obtenus à partir des analyses UV vis et la mesure de DLS avec le potentiel zêta ont révélés la présence d'extrait de plante, c'est-à-dire *O. vulgare L.* à la surface des nanoparticules, indiquant que l'extrait de plante était non seulement efficace pour réduire le sel d'argent en nanoparticules d'argent de petite taille, mais qu'il jouait également un rôle crucial dans la stabilisation des nanoparticules obtenues. Les AgNPs obtenus ont été soumis à une évaluation biologique et testés contre des souches bactériennes Gram positives et Gram négatives ainsi que des souches fongiques. Il était évident que les AgNPs présentaient des propriétés bactéricides et fongicides modérées à très bonnes, cependant, il a également été observé que l'efficacité microbicide et fongicide variait avec la quantité d'extrait végétal utilisé pour la préparation de nanoparticules. Au fur et à mesure que la concentration de l'extrait de plante augmentait, les AgNPs ont obtenu une activité microbicide et fongicide plus élevée que les AgNPs utilisant des concentrations d'amants de l'extrait de plante. Les Ag NPs (c'est-à-dire OV-Ag) présentaient la plus forte activité contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (souches Gram⁻) parmi les différentes souches bactériennes testées. Et une résistance avérée contre les souches fongiques testées. A la fin nous avons testés notre formulation galénique représentée par une crème-dermique à base d'extrait d'*Origanum vulgare L.*, a des tests de contrôle de qualité microbienne. Les résultats obtenus ont révélé que cette formule a des capacités de répondre aux exigences microbiologiques. Tous ces résultats démontrent que le bio-ingrédient présent dans l'extrait de la plante était efficace pour la synthèse des AgNPs avec une efficacité biologique qui offre la possibilité de l'incorporer dans des produits alimentaires et pharmaceutiques.

Nous souhaitons de compléter cette étude, il serait préférable de réaliser des travaux approfondis pour :

- ✓ Compléter l'évaluation de l'effet antimicrobien d'argent colloïdal en intéresse à d'autres flores d'altération.
- ✓ Elargir l'application de cet extrait de aqueux d'argent sur d'autre matrice médical.
- ✓ Les AgNPs utilisées comme un médicament potentiel appliqué seul ou en combinaison avec un médicament conventionnel et pour la détection de possibles cible parmi les différentes cellules cancéreuses.

Conclusion

Enfin on peut conclure que les extraits aqueux de plante + AgNO₃, ont un avenir prometteur dans le secteur de santé, il présente ainsi une alternative intéressante aux produits chimiques de synthèse, coûteux et nocifs.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. **Abbasi, M., Saeed, F., & Rafique, U. (2014, juin).** Préparation de nanoparticules d'argent à partir de sources synthétiques et naturelles : modèle de remédiation pour les HAP. Dans *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol 60(1), p (012061). Editions IOP.
2. **Ali, K., Ahmed, B., Dwivedi, S., Saquib, Q., Al-Khedhairi, AA et Musarrat, J. (2015).** Synthèse verte accélérée par micro-ondes de nanoparticules d'argent stables avec un extrait de feuille d'Eucalyptus globulus et leur activité antibactérienne et antibiofilm sur des isolats cliniques. *PloS un*, 10 (7), e0131178.
3. **Andrieux-Ledier, A. (2012).** Elaboration de nanoparticules d'argent par réduction de sels métallo-organiques : contrôle de taille, stabilité, organisation et propriétés physiques (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
4. **Anne christine Della Valle.** Qu'est-ce qu'un Candida albicans ? [En ligne]._ (Mise à jour le 09/04/2019).
5. **Anthony Alberti (2017).** L'argent va-t-il prendre son indépendance par rapport à l'or ?
Arya, G., Sharma, N., Mankamna, R., & Nimesh, S. (2019). Nanoparticules d'argent antimicrobiennes : l'avenir des nanomatériaux. Dans *Microbial Nanobionics* (pp. 89-119). Springer.
6. **Badri Yossra.** Industrie des Nanoparticules dans le domaine de la santé. [en ligne]. Ingénierie de santé. Lille : faculté ingénierie et management de la santé, 2018. 65P. Format PDF.
7. **Ballottin, D., Fulaz, S., Souza, ML, Corio, P., Rodrigues, AG, Souza, AO, ... et Tasic, L. (2016).** Élucider l'implication des protéines dans la stabilisation des nanoparticules d'argent biogéniques. *Lettres de recherche à l'échelle nanométrique*, 11 (1), 1-9.
8. **Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., et Salayová, A. (2020).** Un bref aperçu de la détermination de l'activité antioxydant des nanoparticules d'argent. *Molécules*, 25 (14), 3191.
9. **Bentaher, Yasine.2016.** Caractérisation physico-chimique des argiles marocaines : application à l'adsorption de l'arsenic et des colorants cationiques en solution aqueuse [en ligne]. Chimie. Université de Nice-Sophia Antipolis.170 pages
Benyagoub, Elhassan, Nabbou, Nouria, Razni, Dalila, & Moghtet, Snoussi (2018). Activité antibactérienne d'*Anastatica hierochuntical* L. contre certaines souches bactériennes responsables d'infections uro-génitales féminines. *Asiatique J. Pharma. Clinical Res*, 11 (7), 222-227.

Références Bibliographiques

10. **Bernaoui, Y., & Louetri, K. (2018).** Caractérisation phytochimique du Genre *Origanum* et leur bioactivités. 66pages. **Berrached, Sihem. Souheyla B. (2020).** Elaboration et application des nanoparticules d'argent. Chimie moléculaire. Université Belhadj Bouchaib Ain-temouchent. 73p.
11. **Bhardwaj, K., Dhanjal, DS, Sharma, A., Nepovimova, E., Kalia, A., Thakur, S., et Kuča, K. (2020).** Nanoparticules métalliques dérivées de conifères : synthèse verte et applications biologiques. *Journal international des sciences moléculaires*, 21 (23), 9028.
12. **Boczkowski, J., & Lanone, S. (2010).** Nanoparticules : une prévention est-elle possible ? *Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 214-216.
13. **Bouhaddouda Nabila.2016.** Activités antioxydantes et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. [en ligne] .*Biochimie appliqué*. Université BADJI MOKHTAR–Annaba, 131page.
14. **Bouhairi Soraya. (2017).** *Bacillus Subtillis* : caractérisation et applications. [Thèse de doctorat en pharmacie], Rabat : faculté de médecine et de pharmacie. 134P.
15. **Bouhlal, Rime. (2018).** L'argent colloïdal, un antibiotique promoteur ? Thèse de doctorat en pharmacie. Rabat : faculté de médecine et pharmacie. N°11, 222p.
16. **Boumaref, R., Souaad K., Khadîdja S.** Biosynthèse des nanoparticules d'argent et applications. *Biologie moléculaire et cellulaire*. Guelma. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Universi.(2020).62p
17. **Bouras, Nouria., Hachemi, Aicha. (2019).** Etude préliminaire des activités biologiques (insecticide et antifongique) des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus sp.* et *Origanum sp.* [en ligne]. *Biotechnologie et Valorisation des Plantes*. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.46page.
18. **Bousbia N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de Produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse Doctorale. Chimie. Université D'Avignon et des pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach-Algérie.
19. **Bricoleurdudimanche. (05/12/2006).** L'argent. Disponible sur:
<https://www.bricoleurdudimanche.com/>
20. **Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2020, May 13).** Silver. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/silver>
21. **Castillo-Henríquez, L., Alfaro-Aguilar, K., Ugalde-Álvarez, J., Vega-Fernández, L., Montes d'Oca-Vásquez, G., & Vega-Baudrit, J. R. (2020).** Green Synthesis of

Références Bibliographiques

- Gold and Silver Nanoparticles from Plant Extracts and Their Possible Applications as Antimicrobial Agents in the Agricultural Area. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 10(9), 1763.
- 22. Chao S.C, Young D.G. et Oberg G.J. (2000).** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. *Journal of Essential oil Research*, 12,639- 649.
- 23. Chapus Lionel. (2018).** Organisation de nanoparticules de métaux nobles : application à la spectroscopie Raman exaltée de surface et à l'électrochimie. (Thèse de doctorat en chimie), Ecole doctorale de chimie physique et chimie analytique de Paris Centre (ED 388). Paris. 191 p.
- 24. Chauvel, RM. (2018).** Application des nanoparticules d'argent en thérapeutique. Thèse de doctorat en pharmacie. Lyon1 : institut des sciences pharmaceutiques et biologiques, 105 page, N°120.
- 25. Cherif, F., Chebbi, A., & Brahimi,F.E.(2018).** Biosynthèse de nanoparticules à base d'extrait de plantes et la caractérisation de leurs activités biologiques.
- 26. Dan, V., Goia.** Mécanisme d'action sur l'argent colloïdal, **2020.**
- 27. Dasinieres, L. (2019).** Argent colloïdal : bienfaits et utilisation.
- 28. Dhinek. A, Vanitha. S. (2017).** Synthesis and characterization of silver nanoparticle from Citrus Limon Leaves and its antibacterial activity, 7(3).
DOI: 10.21275/ART20192391.
- 29. El Badawy, AM, Scheckel, KG, Suidan, M., Tolaymat, T. (2012).** L'impact du mécanisme de stabilisation sur la cinétique d'agrégation des nanoparticules d'argent. *Science de l'environnement total*, 429, 325-331.
- 30. El-Seedi, H. R., El-Shabasy, R. M., Khalifa, S. A., Saeed, A., Shah, A., Shah, R., & Guo, W. (2019).** Metal nanoparticles fabricated by green chemistry using natural extracts: biosynthesis, mechanisms, and applications. *RSC advances*, 9(42), 24539-24559.
- 31. Elsevier.** Systèmes tridimensionnels et nanostructures [**en ligne**]. (1997, Mise à jour **05/2018**)
- 32. Felix Montero-Julian.** Aspergillus Brasiliensis : How it contaminates humans. [**en ligne**].
- 33. François-Xavier Weill. (2013).** Escherichia Coli anthérohémostatique (ECEH). [**en ligne**]. (Mise à jour le **3/06/2021**).87P.

Références Bibliographiques

34. **Gherassimov, O., Puiu, RA, Bîrcă, AC, Burdușel, AC, et Grumezescu, AM (2020).** Une revue mise à jour sur les nanoparticules d'argent en biomédecine. *Nanomatériaux*, 10 (11), 2318.
35. **Goldman, F.** « Une arme secrète contre la maladie ». Édition : Latus d'Or. Paris. **2004.**
36. **Guerricha, Maroua, Selmane Sassia.** La synthèse verte des nanoparticules métallique de cuivre CuO par l'extrait Moringa [**en ligne**]. Génie chimique. El oued. Université echahid hamma lakhdar El oued faculté de la technologie.2018.50p.
37. **Guilger-Casagrande,M., De Lima, R.** Synthesis of Silver Nanoparticles Mediated by Fungi.Frontière en bio-ingénierie et biotechnologie .[**en ligne**].**2019.** 16P.
38. **Hambardzumyan, S., Sahakyan, N., Petrosyan, M., Nasim, M. J., Jacob, C., & Trchounian, A. (2020).** Origanum vulgare L. extract-mediated synthesis of silver nanoparticles, their characterization and antibacterial activities. *AMB Express*, 10(1), 1-11.
39. **Hamida, RS, Abdelmeguid, NE, Ali, MA, Bin-Meferij, MM, & Khalil, MI (2020).** Synthèse de nanoparticules d'argent à l'aide d'une nouvelle cyanobactérie *Desertifilum Sp.* Extrait : leurs effets antibactériens et cytotoxiques. *Revue internationale de nanomédecine*, 15, 49.
40. **Haute autorité de santé.** Antibiothérapie des infections à entérobactéries et à *pseudomonas aeruginosa* chez l'adulte : place des carbapénèmes et de leurs alternatives.Saint-Denis La Plaine : HAS, **2019.**
41. **Heiligtag, FJ et Niederberger, M. (2013).** Le monde fascinant de la recherche sur les nanoparticules. *Materials Today*, 16 (7-8), 262-271.
42. **Hongyu Liu, Huan Zhang, Jie Wang, Junfu Wei,** Effet de la température sur la taille de la nanoparticule d'argent bio synthétisée : aperçu approfondi de l'analyse cinétique microscopique, *Journal arabe de chimie*, 13(1), (**2020**), Pages 1011 à 1019, ISSN 1878-5352,
43. **Humberto H., Nilda N., Ayala D., et al., (2016).** Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*, 26 :615–621.doi.10.1007/s11274-009-0211-3.
44. **Jeyaraj M, Gurunathan S, Qasim M, Kang M-H, Kim J-H.** A Comprehensive Review on the Synthesis, Characterization, and Biomedical Application of Platinum Nanoparticles [**en ligne**]. *Nanomaterial 's.* (**2019**); 9(12):1719. 9.
45. **John killen, JR, MD, NCCIH,** silver colloidal. [**En ligne**].(**Consulté le 3 juillet 2021**).

Références Bibliographiques

46. **Jo, YK, Kim, BH et Jung, G. (2009).** Activité antifongique des ions d'argent et des nanoparticules sur les champignons phytopathogènes. *Maladie des plantes*, 93 (10), 1037-1043.
47. **Jtremoulet. (2018).** Les nanoparticules. L'université d'Avignon et du pays de Vaucluse. (Consulté le 22/04/2021)
48. **Kapuścińska, A., & Nowak, I. (2016).** Silver nanoparticles as a challenge for modern cosmetology and pharmacology. In *Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics* (pp. 395-417). William Andrew Publishing.
49. **Kasithevar, M., Saravanan, M., Prakash, P., Kumar, H., Ovais, M., Barabadi, H., et Shinwari, ZK (2017).** Synthèse verte de nanoparticules d'argent à l'aide d'extrait de feuille d'Alysicarpus monilifer et de son activité antibactérienne contre les isolats de SARM et CoNS chez les patients VIH. *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*, 2 (2), 131-141.
50. **Kate, Bass.** News medical life science [en ligne]. (2004).
51. **Kathryn Watson. (2019).** What Is Colloidal Silver? [en ligne]. (Mise à jour le 18/09/2019).
52. **Kaushik R., Sarkar C.K., Ghosh C.K., (2014).** Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using parsley (*Petroselinum crispum*) leaf extract: spectral analysis of the particles and antibacterial study. *Appl nanosci*.doi.org/10. 1007/s13204-014-0393-3.
53. **Kelkawi, AHA, Abbasi Kajani, A., et Bordbar, AK (2017).** Synthèse verte de nanoparticules d'argent à l'aide de *Mentha pulegium* et étude de leur activité antibactérienne, antifongique et anticancéreuse. *Nanobiotechnology IET*, 11 (4), 370-376.
54. **Keerawelle B., Chamara A. (2019).** Green Sunthesis of Silver Nanoparticlvs via Medicinal Plant Extracts and Their Antibacterial Activities. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 8 (7)100-111; 2277– 7105).
55. **Kern, J.** Futura santé. [en ligne]. (2001 mise à jour le 19/03/2021).
56. **Khare K., Williams, K. Gokulan. (2014).** Nanotechnology. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)*.893-900 pages.
57. **Khan, I., Saeed, KH., Khan, I. (2019),** Nanoparticules: propriétés, applications et toxicités, *Journal arabe de chimie*, Volume 12, numéro 7, Pages 908-931,ISSN 1878-5352, <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
58. **Khribch, J., Nassik, S., EL houadfi, M., Zrira, S., & Oukessou, M. (2018).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches

Références Bibliographiques

- d'Escherichia coli d'origine aviaire. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6(3), 300-307.
59. **Kim, KJ, Sung, WS, Moon, SK, Choi, JS, Kim, JG et Lee, DG (2008)**. Effet antifongique des nanoparticules d'argent sur les dermatophytes. *Journal de microbiologie et biotechnologie*, 18 (8), 1482-1484.
60. **Kurtz-chalot Andréa**. Internalisation cellulaire et effets biologiques de nanoparticules fluorescentes de silice : influence de la taille et de la fonctionnalisation de surface [en ligne]. Génie des procédés. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne.2014.190p. **Lanone, S., & Boczkowski, J. (2010)**. Les sources de nanoparticules. *Revue française d'allergologie*, 50(3), 211-213.
61. **Learning chemistry. (2020)**. Silver. [En ligne].
62. **Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018)**. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18033.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
63. **Lee, S. H., & Jun, B. H. (2019)**. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 865.
<https://doi.org/10.3390/ijms20040865>
64. **Li W., Xiao-Bao X., Qing-Shan S., (2011)**. Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus. *J Biometals.* ; 24 :135–141 DOI 10.1007/s10534-010-9381-6.
65. **Li, R., Cui, L., Chen, M., & Huang, Y. (2021)**. Nanomaterials for Airborne Virus Inactivation: A short review. *Aerosol Science and Engineering*, 5(1), 1-11.
66. **Mahfouf, N. (2018)**. Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Botanique. Université Chadli Benjedid El Tarf (Algérie).161 pages.
67. **Manickam, V., Velusamy, RK, Lochana, R., Rajendran, B., & Ramasamy, T. (2017)**. Génotoxicité des nanomatériaux dans les aliments. Dans *Nanoscience in Food and Agriculture 4* (pp. 141-180). Springer, Cham.
68. **Manukumar, HM, Yashwanth, B., Umesha, S., et Rao, JV (2020)**. Mécanisme biocide des nanoparticules d'argent chargées de thym synthétisé vert (GTAgNP) contre le Staphylococcus aureus 090 résistant à la méthicilline résistant à la méthicilline (MRSA090) dans un environnement homéostatique. *Arabian Journal of Chemistry*, 13 (1), 1179-1197.

Références Bibliographiques

69. Marie Céline Ray. (2015). Des nanoparticules antioxydantes à injecter en urgence, (consulté le 18/02/2015).
70. Mazzola, L. (2003). Commercialisation de la nanotechnologie. *Biotechnologie de la nature*, 21 (10), 1137-1143.
71. Mcshan, Danielle. Ray, Paresh. Yu, Hongtao. Molecular Toxicity Mechanism of Nanosilver. *Journal of Food and drug analysis*[en ligne]. (2014). (22.p 116-127). Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.01>
72. Metiaz, H.M., & Boudiba, A. (2020). Synthèse, caractérisation des nanoparticules d'argent à base d'extrait des feuilles de plantes et évaluations de leur activité antioxydant et antimicrobienne, Ghardaïa, mémoire de master en génie chimique, génie de procédés, ,83p.
73. Mérat-Tagnard, F., Poivey-Bellagamba, A., & Michiels, F. (2008). Nanoparticules : un enjeu pour la prévention. *Documents pour le Médecin du Travail*, 399-411.
74. Mishra, S., & Singh, H. B. (2015). Biosynthesized silver nanoparticles as a nanoweapon against phytopathogens: exploring their scope and potential in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(3), 1097-1107.
75. Mittal, AK, Bhaumik, j., Kumar, S. et Banerjee, UC. (2014). Biosynthèse de nanoparticules d'argent : elucidation du mécanisme prospectif et du potentiel thérapeutique. *Journal of colloid and interface science*,415, 39-47.
76. Morris, D., Ansar, M., Speshock, J., Ivanciuc, T., Qu, Y., Casola, A., et Garofalo, RP (2019). Activité antivirale et immunomodulatrice des nanoparticules d'argent dans une infection expérimentale par le RSV. *Virus*, 11 (8), 732.
77. Muhammad Rafique, Iqra Sadaf, M. Shahid Rafique & M. Bilal Tahir (2017). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45:7, 1272-1291, DOI: 10.1080/21691401.2016.1241792
78. Nanocomposix-université.nanocomposix [en ligne]. (2016).
79. N., Garti, R., Lutz. (2004). Emulsions : Structure Stability and Interactions.
80. Njue, WM, Kithokoi, JK, Mburu, J., Mwangi, H., & Swaleh, S. (2020). Synthèse sonochimique verte de nanoparticules d'argent à l'aide d'extrait de feuilles d'Adansonia Digitata et évaluation de leur potentiel antibactérien. *Journal européen de recherche en chimie avancée*, 1 (2).

Références Bibliographiques

81. Panyala, N., Pena-Mendze, E., Havel, J., (2008). Silver or silver nanoparticles: A hazardous threat to the environment and human health? *Journal of Applied Biomedicine*. [En ligne].
82. Patra, JK et Baek, KH. (2014). Nanobiotechnologie verte : facteurs affectant les techniques de synthèse et de caractérisation. *Journal of Nanomaterials*.
83. Perros, J. L'argent colloïdal un remède en or ! Guy Trédaniel 19, rue Saint-Séverin 75005 Paris, (2011), 160P.
84. Piard, J., Zimmer, S., Chupin, G., Bon, C., Cheref, Y., & Cazayus-claverie, E, (2016). Synthèse et détermination de la taille de nanoprismes d'argent.
85. Pharmacopée européenne. (2002). 4ème édition, conseil de l'Europe, strasbourg, France.
86. Pharmacopée européenne. (2008). 6ème édition, conseil de l'Europe, strasbourg, France.
87. Ponce A.G., Fritz R., Del valle C.E., Roura S.I. (2003). Antimicrobial Activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaftund -Technologie*, 36, 679–684.
88. Pourcin Florent. (2018). Synthèse de nanoparticules de forme, taille et dispersion contrôlées pour l'élaboration de couches composites aux propriétés optiques modulables. (Thèse de doctorat en chimie), Marseille, Ecole doctorale des sciences chimiques-ED 250- 205p.
89. Prasad, R. (2014). Synthèse de nanoparticules d'argent dans les plantes photosynthétiques. *Journal of Nanoparticules*.
90. Prasad, R. Antimicrobial silver nanoparticle: future of Nanomaterials. In: *Microbial Nanobionics*, [En ligne]. 1st. India: springer Nature Switzerland AG, (2019), p 290.
91. Rajoriya, P. (2017). *Synthèse verte de nanoparticules d'argent, leur caractérisation et leur potentiel antimicrobien* (Thèse de doctorat, Département de génie moléculaire et cellulaire, Jacob Institute of Biotechnology & Bioengineering, Sam Higginbottom University of Agriculture, Technology & Sciences Allahabad-211007, UP (Inde) 2017).
92. Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., Rafinska, K., Wypij, M., Kupczyk, W., Dahm, H., ... & Buszewski, B. (2016). Propriétés antimicrobiennes des nanoparticules d'argent biosynthétisées étudiées par cytométrie en flux et techniques associées. *Electrophorèse*, 37 (5-6), 752-761.

Références Bibliographiques

- 93. Ramsden Jeremy J**, what is nanotechnology? *Nanotechnology Perceptions* 1, 3–17, 2005.
- 94. Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., & Yilmaz, M. D. (2019)**. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC advances*, 9(5), 2673-2702.
- 95. Roy, K., Sarkar, CK et Ghosh, CK (2015)**. Synthèse à médiation végétale de nanoparticules d'argent à l'aide d'extrait de feuille de persil (*Petroselinum crispum*) : analyse spectrale des particules et étude antibactérienne. *Nanosciences appliquées*, 5 (8), 945-951.
- 96. Ruiz-Romero, P., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., & Mendez-Trujillo, V. (2018)**. Antifungal effects of silver phytonanoparticles from *Yucca shinerifera* against strawberry soil-borne pathogens: *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. *Mycobiology*, 46(1), 47-51.
- 97. Sagar Aryal**. Muller-Hinton Agar (MHA) - Composition, Principale, Uses, Preparation and Colony Morphology. [En ligne]. (Consulté le 03/06/2021).
- 98. Sagar Aryal**. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)-Composition, Principale, Uses, Preparation and Colony Morphology. [En ligne]. (Mise à jour le 19/08/2019).
- 99. Selim, H.M., Mohamed, D.S., Eskander, H.M.G. (2017)**. Silver Nanoparticles: Synthesis, Medical Application, and Toxicity Effects. *Int. J. Nanotech. Allied. Sci.*, 1(1): 45-53.
- 100. Sharma, VK, Filip, J., Zboril, R. et Varma, RS. (2015)**. Nanoparticules inorganiques naturelles – formation, devenir et toxicité dans l'environnement. *Chemical Society Reviews*, 44 (23), 8410-8423.
- 101. Sharma,VK,Yngard,RA et Lin,Y.(2009)**. Nanoparticules d'argent : synthèse verte et leurs activités antimicrobiennes. *Avancées dans la science des colloïdes et des interfaces*,145 (1-2),83-96.
- 102. Shaik, M. R., Khan, M., Kuniyil, M., Al-Warthan, A., Alkathlan, H. Z., Siddiqui, M. R. H., & Adil, S. F. (2018)**. Plant-extract-assisted green synthesis of silver nanoparticles using *Origanum vulgare* L. extract and their microbicidal activities. *Sustainability*, 10(4), 913.
- 103. Savary, B.** Nano Argents : de la production à l'utilisation, quels sont les risques ? - Hygiène et sécurité du travail. N°238. Mars 2015.

Références Bibliographiques

104. **Talie,MD,Wani,AH,Ahmad,Nusrat,Bhat,MY et War,JM. (2020).**Green synthesis of silver Nanoparticles (AgNPs) using *Helvella leucopus pers* and their antimycotic activity against fungi causing fungal rot of Apple.*Asian J.pharm.Clin.Res*, 13(4), 161-165.
105. **Tarannum, N., et Gautam, YK. (2019).** Synthèse verte facile et application des nanoparticules d'argent : un état de lieux : *RSC avance*, 9(60) ,34926-34948.
106. **Théo, travers. (2018).** Réalisation d'un montage de diffusion dynamique de la lumière [**en ligne**]. *Physique signal et imagerie*. Université d'ANGERS.49 pages.
107. **Tourbin Mallorie. (2006).** Caractérisation et comportement de suspensions concentrées de nanoparticules sous écoulement : Application aux processus d'agrégation et de rupture. *Génie de procédés et de l'environnement*. Institut National Polytechnique de Toulouse.294 page.
108. **Tran, QH, & Le, AT (2013).** Nanoparticules d'argent : synthèse, propriétés, toxicologie, applications et perspectives. *Avancées en sciences naturelles : nanosciences et nanotechnologies*, 4 (3), 033001.
109. **Vu long Tran**, le Blog d'actualités scientifiques écrit par des étudiants [**en ligne**]. (Février 2013).
110. **Yann., (2018).** Quelle sont les caractéristiques d'argent métalliques ?
- 111.**Zhang, F., Wu, X., Chen, Y. et Lin, H. (2009).** Application de nanoparticules d'argent sur un tissu de coton comme finition textile antibactérienne. *Fibers and Polymers*, 10 (4), 496-501.
112. **Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016).** Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.