

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie fondamentale et appliquée

THEME

**Evaluation in vitro des activités antibactériennes et antifongiques
des nanoparticules d'argent générées par l'extrait de
*Streptomyces sp.***

Présenté par :

Soutenu publiquement le : 22/06/2023

- SENOUCI Wahiba
- TEMMIR Oum Elkhir

Devant le jury composé de :

Mr. CHAIBI Rachid	Pr (Université Amar Télidji, Laghouat)	Président
Mr. KRANTAR Kamel	MAA (Université Amar Télidji, Laghouat)	Examineur
Mr. GACEM Mohamed Amine	MCB (Université Amar Télidji, Laghouat)	Rapporteur
Mr. BOUDJEMAA Baderddine	(Université Amar Télidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Année universitaire: 2022/2023

Remercîments

*Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier tout d'abord et en premier lieu **ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force, le courage et la patience de bien mener ce travail.*

*Notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur **Mr. GACEM Mohamed Amine** de nous avoir encadré et d'accepter de diriger ce travail, pour ses conseils et ses précieuses orientations.*

*Nous adressons également nos sincères remerciements à Monsieur **BOUDJEMAA Badreddine** pour son aide et ses conseils lors de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury **Mr. CHAIBI Rachid** et **Mr. KRANTAR Kamel** d'avoir accepté d'examiner ce travail*

*Un grand merci à **SENOUCI Larbi** pour sa gentillesse et son aide lors de la réalisation de ce travail.*

Nous remercions À tous nos professeurs qui n'ont ménagé aucun effort pour nous transmettre leur savoir faire Durant notre cursus universitaire.

Nous remercions également l'ensemble du personnel ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Notre remerciements vont enfin à tous ceux qui ont aide et contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Dédicace

D'un profond amour et d'une immense gratitude nous dédions ce mémoire

A nos chers parents Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement.

A nos frères.

A toutes nos familles.

A tous nos amis.

On vous aime du fond du cœur. Que dieu vous guide vers le chemin de la paix et du bonheur.

TABLE DE MATIERES

	Pages
Liste des abréviations	i
Liste des figures	iii
Liste des photos	v
Liste des tableaux	vi
Résumé	vii
Abstract	viii
ملخص	ix
Introduction	1
PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Les nanoparticules	3
I.1. Généralité sur la nanotechnologie	3
I.2. Les différents types de nanostructures	4
I.3. Les nanoparticules à base métalliques	4
I.4. Synthèse des nanoparticules	5
I.4.1. Synthèse chimique des nanoparticules d'argent	5
I.4.2. Synthèse verte des nanoparticules d'argent	6
a. Synthèse les AgNPs par les bactéries	6
b. Synthèse les AgNPs par les champignons	6
c. Synthèse les AgNPs par les plants	7
I.5. Facteur affectant la synthèse des nanoparticules d'argent	7
I.5.1. Température	7

I.5.2. pH	8
I.5.3. Concentration d'AgNO₃	8
I.6. Activité biologique	8
I.6.1. Activité antibactérienne	8
I.6.2. Activité antifongique	9
I.6.3. Activité antioxydant	10
I.6.4. Activité cancéreuse	10
I.6.5. Activité viral	11
I.7. Application des nanoparticules d'argent en agro-alimentaire	12
I.7.1. Application des nanoparticules d'argent dans la conservation des aliments	12
I.7.2. Applications des nanoparticules d'argent dans la phytoprotections des cultures agricoles et la fertilisation des sols	13
I.8. Toxicité des nanoparticules d'argent	14
I.8.1. Toxicité pour les poissons	14
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	
II. Matériel et méthode	15
II.1. Matériel biologique	15
II.1.1. Souches microbiennes	15
II.2. Isolement et purification des moisissures	16
II.3. Identification des genres fongiques par la technique de micro-culture	17
II.4. Biosynthèse verte des nanoparticules d'argent (AgNPs)	18
II.5. Détermination les activités biologiques des AgNPs	21
II.5.1. Détermination de l'activité antifongique des AgNPs	21

II.5.2. Détermination de l'activité antibactérienne des AgNPs	22
II.6. Caractérisations des AgNPs biogéniques formées	24
II.6.1. Caractérisation spectroscopique des AgNPs biosynthétisées par UV-Visible	24
II.6.2. Caractérisation spectroscopique des AgNPs bio synthétisées par Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	24
II.6.3. Analyse des AgNPs biosynthétisées par diffraction des rayons X (DRX)	25
II.6.4. Détermination du potentiel zêta	25
II.6.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)	26

RESULTATS ET DISCUSSIONS

III. Résultats et Discussions	27
III.1. Observation microscopique des moisissures par la méthode de micro-culture	27
III.2. Résultats des activités biologiques des AgNPs par la méthode de puits	28
III.2.1. Activité fongique	28
III.2.2. Activité bactérienne	29
III.3. Caractérisation des AgNPs biogéniques	31
III.3.1. Caractérisation physicochimique des AgNPs biogéniques	31
III.3.2. Analyse spectroscopique UV-Vis des nanoparticules d'argent	32
III.3.3. Analyse FTIR	34
III.3.4. Analyse de diffraction des rayons X	35
III.3.5. Charge de surface des AgNPs mesurée par le potentiel Zeta	36
III.3.6. Microscopie électronique à balayage	37

Conclusion général et perspectives

Références bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

AND	Acide désoxyribonucléique
AFM	Microscope à force atomique
AgNO₃	Nitrate d'argent
AgNPs	Nanoparticules d'argent
ATP	Adénosine triphosphate
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Bax	Bcl-2 associated X protein
Bcl-2	B-cell CLL/Lymphoma 2
DNase	Deoxyribonuclease
DO	Densité optique
DPPH	Diphénylpicrylhydrazyle
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
HSV	Virus de l'herpès
<i>k.planticola</i>	<i>Klebsiella planticola</i>
MEB	Microscopie électronique à balayage
Milieu MH	Milieu Mueller Hinton
Milieu PDA	Milieu Potatoes Dextrose Agar
Milieu SCA	Milieu Starch Casein Agar
Milieu 5294	Bouillon nutritif
NaBH₄	Tétrahydruroborate de sodium
NO	Oxyde nitrique
NPs	Nanoparticules
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P21	Protéine 21
P53	Protéine 53
pH	Potentiel Hydrogène
PTAPC	Plateaux Technique Analyses Physico-Chimiques
R	Radicale
ROS	Espèce réactive de l'oxygène

SPR	Résonance plasmonique de surface
TEM	Transmission electron microscopy
UV-Vis	Spectroscopie ultraviolette-visible
VHB	Virus de l'hépatite B
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VIH-1	Virus de l'immunodéficience humaine de type 1
VRS	Virus respiratoire syncytial

Liste des figures

Figure 01	Représentation schématique des méthodologies descendantes et ascendantes pour la fabrication de nanoparticules.	4
Figure 02	Mécanisme d'action des AgNPs. Dans la cellule bactérienne.	9
Figure 03	Mode d'action proposé des AgNPs sur les cellules cancéreuses.	11
Figure 04	Mécanisme antiviral des AgNPs.	12
Figure 05	Rôle des nanoparticules d'argent à médiation microbienne dans les emballages alimentaires.	13
Figure 06	Rôle des nanoparticules d'argent à médiation microbienne pour la protection des cultures et leur utilisation comme fongicide.	14
Figure 07	Isolement des moisissures à partir des graines de blé par la méthode indirecte.	16
Figure 08	Schéma représentatif des étapes suivies durant la biosynthèse des nanoparticules d'argent.	20
Figure 09	Préparation des suspensions fongiques.	21
Figure 10	Evaluation de l'activité antifongique des AgNPs biogéniques.	22
Figure 11	Préparation des suspensions bactériennes.	23
Figure 12	Spectres UV-Vis des nanoparticules d'argent formées lors de l'incubation d'AgNO ₃ (1 M) avec l'extrait de la souche d'actinobactérie.	33
Figure 13	Spectres infrarouges à transformée de Fourier des Bio-AgNPs dérivés de <i>Streptomyces sp.</i>	35

Figure 14	Modèle XRD pour les Bio AgNPs synthétisés.	36
Figure 15	Analyse du potentiel zêta des Bio AgNPs.	37
Figure 16	Images par MEB d'AgNPs biosynthétisés.	37

Liste des photos

Photo 01	Culture fongiques mixte obtenue à partir des graines de café sur milieu PDA.	17
Photo 02	Micro-culture des moisissures pour l'identification microscopique.	18
Photo 03	Spectroscopie UV-Vis.	24
Photo 04	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).	24
Photo 05	Diffraction des rayons X (DRX).	25
Photo 06	Microscopie électronique à balayage (MEB).	26
Photo 07	AgNPs biogéniques formées durant cette étude.	32

Liste des tableaux

Tableau 01	Nanoparticules d'argent synthétisées par différents bactéries.	6
Tableau 02	Souches bactériennes utilisées pour tester les activités biologiques des nanoparticules d'argent.	15
Tableau 03	Souches fongiques utilisées pour tester les activités biologiques des nanoparticules d'argent.	15
Tableau 04	Densité optique des espèces fongiques utilisées durant l'évaluation de l'activité antifongique.	21
Tableau 05	Densité optique des espèces bactériennes à tester.	23
Tableau 06	Aspect microscopique des souches fongiques.	27
Tableau 07	Résultats des activités antifongiques d'AgNPs.	29
Tableau 08	Résultats des activités antibactériennes d'AgNPs.	30

Résumé

Evaluation in vitro des activités antibactériennes et antifongiques des nanoparticules d'argent générées par l'extrait de *Streptomyces sp.*

La nanotechnologie est devenue une science émergente dans tous les domaines scientifiques. En effet, la synthèse de nanoparticules métalliques fait l'objet de nombreux travaux de recherche en raison de leurs excellentes propriétés. Il est à noter que les nanoparticules d'argent présentent un grand intérêt, entre autres, pour leurs effets antibactériens et antifongiques.

Dans cette étude nous avons utilisé un procédé vert pour la biosynthèse des AgNPs. Pour ce faire, une souche d'actinomycète appartenant au genre *Streptomyces* est utilisée. Les conditions des réactions entre l'extrait vert de la bactérie et la solution de nitrate d'argent sont ajustées à 28°C, pH 8.5 avec une durée de 5 jours dans l'obscurité.

Les AgNPs formées sont caractérisées par plusieurs techniques à savoir : Spectroscopie UV-visible, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et Spectroscopie de diffraction des rayons X (XRD) et microscope électronique à balayage (MEB).

L'activité antibactérienne et antifongique des nanoparticules d'argent sont testées sur quatre espèces bactériennes et quatre souches fongiques différentes. Selon les résultats obtenus, toutes les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*) sont sensibles aux nanoparticules. En revanche, *Fusarium avenaceum* et *Aspergillus flavus* sont résistantes aux nanoparticules. Cependant, *Aspergillus ochraceus* et *Penicilium expansum* sont sensibles.

Les mots clés: Nanotechnologie ; Nanoparticules d'argent ; Extrait vert, Nitrate d'argent ; Activité antibactérienne ; Activité antifongique.

Abstract

In vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of silver nanoparticles generated by the extract *Streptomyces sp.*

Nanotechnology has become an emerging science in all scientific fields. Indeed, the synthesis of metallic nanoparticles is the subject of numerous research works because of their excellent properties. It should be noted that silver nanoparticles are of great interest, among other things, for their antibacterial and antifungal effects.

In this study, we used a green process for the biosynthesis of AgNPs. To do this, a strain of actinomycete belonging to the genus *Streptomyces* is used. The reaction conditions between the green extract of the bacterium and the silver nitrate solution are adjusted to 28 °C, pH 8.5 with a duration of 5 days in the dark.

The formed AgNPs are characterized by several techniques namely: UV-visible spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction spectroscopy (XRD) and scanning electron microscope (SEM).

The antibacterial and antifungal activity of silver nanoparticles is tested on four different bacterial species and four different fungal strains. According to the results obtained, all bacterial strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*) are sensitive to nanoparticles. On the other hand, *Fusarium avenaceum* and *Aspergillus flavus* are resistant to nanoparticles. However, *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium expansum* are susceptible.

Key words : Nanotechnology ; Silver nanoparticles ; Green Extract , Silver Nitrate ; Antibacterial activity ; Antifungal activity.

ملخص

تقييم في المختبر الأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات لجسيمات الفضة النانوية الناتجة عن مستخلص *Streptomyces sp*.

أصبحت تقنية النانو علمًا ناشئًا في جميع المجالات العلمية. في الواقع ، فإن تركيب الجسيمات النانوية المعدنية هو موضوع العديد من الأعمال البحثية بسبب خصائصها الممتازة. وتجدر الإشارة إلى أن الجسيمات النانوية الفضية لها أهمية كبيرة ، من بين أمور أخرى ، لتأثيراتها المضادة للبكتيريا والفطريات.

في هذه الدراسة، استخدمنا عملية خضراء للتخليق الحيوي لـ AgNPs. للقيام بذلك ، يتم استخدام سلالة من الفطريات الشعاعية التي تنتمي إلى جنس *Streptomyces*. يتم ضبط ظروف التفاعل بين المستخلص الأخضر للبكتيريا ومحلول نترات الفضة إلى 28 درجة مئوية ، ودرجة الحموضة 8.5 لمدة 5 أيام في الظلام.

تتميز AgNPs المتكونة بالعديد من التقنيات ، وهي: التحليل الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية ، والتحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء لتحويل فورييه (FTIR) والتحليل الطيفي للأشعة السينية (XRD) والميكروسكوب الإلكتروني . (MEB)

تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات لجسيمات الفضة النانوية على أربعة أنواع بكتيرية مختلفة وأربع سلالات فطرية مختلفة. وفقًا للنتائج التي تم الحصول عليها ، فإن جميع السلالات البكتيرية (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus*) ، حساسة للجسيمات النانوية. من ناحية أخرى ، فإن فطر *Fusarium avenaceum* و *Aspergillus flavus* مقاومان للجسيمات النانوية. ومع ذلك، فإن *Aspergillus ochraceus* و *Penicilium expansum* عرضة للإصابة .

الكلمات المفتاحية : تقنية النانو ، جزيئات الفضة النانوية ، مستخلص أخضر ، نترات الفضة ، نشاط مضاد للبكتيريا ، نشاط مضاد للفطريات.

INTRODUCTION.

Introduction

La nanotechnologie est une science évoluée très rapidement et rapporte beaucoup d'avantages pour divers domaines, y compris la médecine, l'industrie, l'agriculture, la biologie, etc. (Williams, 2008 ; Woldeamanuel et al., 2021).

Les nanoparticules sont des structures de petite taille, leur taille varie entre 1 et 100 nm (Williams, 2008 ; Woldeamanuel et al., 2021). Il à noter que les nanoparticules à base de métal ont attiré plus d'attention en raison de leurs propriétés exceptionnelles résultant de leur taille et de leur forme. Les nanoparticules à base de métal comprennent les nanoparticules d'oxyde de fer, les nanoparticules de cuivre, les nanoparticules d'argent, les nanoparticules de titane, etc. Parmi celles-ci, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont suscité plus d'intérêt en raison de leurs propriétés uniques, notamment leur bio-activité, leur conductivité, et leur activité catalytique (Ahmad et al. , 2003).

Il existe de multiples voies de synthèse des AgNPs, les techniques de synthèse sont classées en quatre catégories à savoir les méthodes physiques, les méthodes chimiques, les méthodes photochimiques et les méthodes biologiques (Tran et Le, 2013 ; Patel, 2021). La synthèse biologique ou encore appelée « synthèse verte » est hautement recommandée, en effet cette technique est respectueuse de l'environnement. De plus, la synthèse verte fournit des AgNPs avec une haute biocompatibilité. La synthèse biologique est réalisable à l'aide d'extraits ou de tissus vivants de plantes, ou de microbes citant comme exemple : les bactéries et les moisissures. Durant les réactions de biosynthèses, les biomolécules et les métabolites secondaires agissent comme des agents réducteurs des ions d'argent et produisent à la fin des réactions des AgNPs (Roy et al., 2019 ; Arib et al., 2021).

Les nanoparticules d'argent synthétisées à l'aide de microorganismes présentent diverses applications. Les AgNPs sont dotées d'un fort potentiel biologique qui leur confèrent une forte activité antibactérienne contre les microorganismes pathogènes (Jeong et al., 2005; Raffi et al., 2008), une forte activité antifongique (Alananbeh et al., 2017. Mussin et al., 2019), et une activité anticancéreuse (Majeed et al., 2016 ; Abd-Elnaby et al... 2016). De plus, les nanoparticules d'argent renferment une bonne activité antivirale (Mousavi et al., 2018 ; Mori et al., 2013).

L'objectif de la présente étude est de générer tout d'abord des AgNPs à l'aide d'un procédé vert. Le second objectif de cette étude vise à évaluer l'activité biologique des AgNPs générés.

Pour se faire, une synthèse bibliographique représentant la première partie de notre étude a été réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur les nanoparticules d'argent, leurs propriétés et les techniques récentes de leurs synthèses. Cette partie est accomplie par les principaux résultats extraient d'études récentes divulguant les activités biologiques des AgNPs

Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions.

L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives.

PREMIÈRE PARTIE:
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUES.

I. Les nanoparticules

I.1. Généralité sur la nanotechnologie

Les recherches scientifiques ont prouvé l'utilité et les avantages de la nanotechnologie dans les différents secteurs. Aujourd'hui, une demande progressive des nanomatériaux est enregistrée de la part des industriels, ces nanomatériaux sont incorporés dans les produits pharmaceutiques, les antibiotiques, l'électronique, l'agriculture, etc. Cette technologie à l'échelle nanométrique implique des recherches scientifiques approfondies dont le but est de produire des nanoparticules, des nanocomposites, et des nanostructures avec des propriétés bien déterminées en particulier, la taille, la forme, la surface, la stabilité, la durabilité, etc. (**Servin et White, 2016**).

Les nanomatériaux sont préparés par deux manières fondamentales à savoir :

- Approche descendante : le tranchage, le découpage ou le broyage d'un matériau en vrac selon un modèle défini pour obtenir des particules nanométriques.
- Approche ascendante : de minuscules particules s'assemblent selon une voie mécanique/chimique prédéfinie et sont façonnées en une configuration complexe de nanomatériaux de taille contrôlée et uniforme (**Abobatta, 2018**). Les approches descendantes et ascendantes sont présentées sur les **Figure 1**.

Les nanomatériaux à base métallique en particulier les nanoparticules de l'argent, du zinc, du cuivre, de l'or et du platine renferment des caractéristiques physiques, chimiques, optiques, thermiques, électroniques, diélectriques, magnétiques, mécaniques et biologiques bien déterminés. La détermination des caractéristiques des nanomatériaux doit être prise en compte avant, et durant la synthèse des nanoparticules (**Seku et al., 2022**).

Plusieurs techniques analytiques sont employées pour évaluer les caractéristiques des nanomatériaux, il s'agit de la spectroscopie ultraviolet-visible (UV-vis), la diffractométrie des rayons X, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la diffusion dynamique de la lumière, la microscopie électronique à balayage (MEB), la microscopie à force atomique (AFM), et la microscopie électronique à transmission (TEM) (**Seku et al., 2022**).

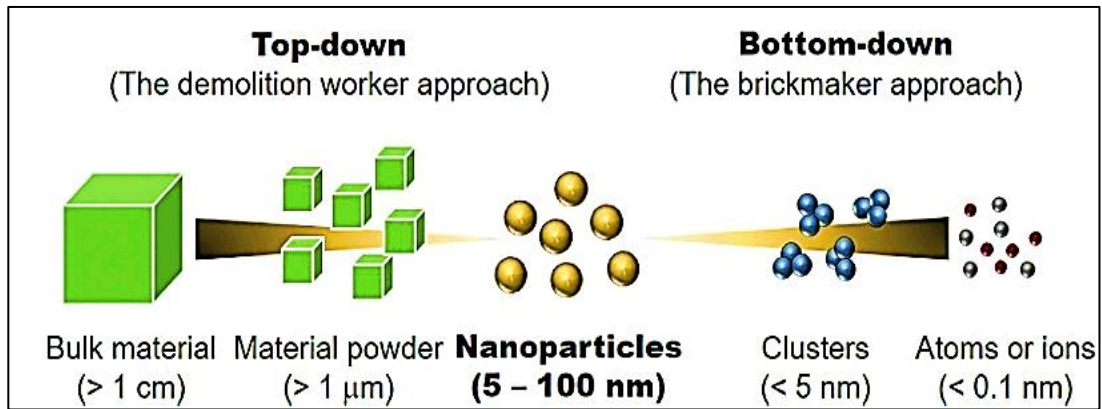


Figure 01. Représentation schématique des méthodologies descendantes et ascendantes pour la confection de nanoparticules (tulli et al., 2022).

I.2. Les différents types de nanostructures

Les nanoparticules diffèrent par leur taille et leur forme. Les nanoparticules peuvent être zérodimensionnelles (nanodots), unidimensionnelles (graphène), bidimensionnelles (nanotubes de carbone) et tridimensionnelles (nanoparticules d'or) (Tiwari et al., 2012). Les nanoparticules sont généralement classées en trois groupes : organiques, inorganiques et à base de carbone.

- Les nanoparticules organiques : sont biodégradables et non toxiques comme par exemple les dendrimères, les liposomes, et les micelles. Elles sont utilisées dans la fabrication des médicaments.
- Les nanoparticules à base de carbone : sont formées entièrement à base de carbone, elles sont classées en fullerènes, graphène, nanotubes de carbone, et nanofibres de carbone (Ealia et Saravanakumar, 2017). Ces types de nanomatériaux sont applicables dans de multiples domaines.
- Les nanomatériaux inorganiques : sont des nanoparticules métalliques générées à partir des métaux, leurs tailles nanométriques varient entre 0 et 100 nm. Les nanoparticules métalliques comprennent l'argent, l'or, le cuivre, l'oxyde de fer, le platine, le palladium et le zinc (Sarkar et al., 2012).

I.3. Les nanoparticules à base métalliques

Les nanoparticules métalliques sont l'une des technologies les plus émergentes, elles sont très prometteuses pour les domaines médicaux et non médicaux. En raison d'un rapport

surface/volume élevé, les nanoparticules métalliques sont hautement réactives et ont des propriétés optiques, électriques et chimiques qui diffèrent de leurs caractéristiques normales à l'échelle macroscopique. Par conséquent, les nanoparticules métalliques ont un pourcentage plus élevé d'interactions avec les micro-organismes que les particules plus grosses (**Dar et al., 2013 ; Montazer et al., 2012**).

Parmi les nanoparticules métalliques, les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont révélées les plus efficaces en raison de leur large application dans les différents domaines (**Ghaseminezhad et al., 2012**). En comparaison avec l'argent en vrac, elles sont considérées comme des agents antimicrobiens inorganiques moins toxiques (**Jeong et al., 2005 ; klasen, 2000**), elles sont dotées d'un potentiel antimicrobien contre les bactéries, les virus et d'autres micro-organismes eucaryotiques (**Mousavi et pourtalebi, 2015 ; Noorbakhsh et al., 2011**).

I.4. Synthèse des nanoparticules

I.4.1 Synthèse chimique des nanoparticules d'argent

La réduction chimique par des agents réducteurs (organiques ou inorganiques) est l'approche la plus appliquée pour la préparation des NPs d'argent. Divers agents réducteurs (borohydrure de sodium, ascorbate, citrate de sodium, etc.) sont utilisés pour réduire les ions d'argent (Ag^+) en argent métallique (Ag^0). La réaction se passe dans des solutions hydratées et anhydres, elle est suivie d'une agglomération en amas oligomériques. Ces amas conduisent finalement à la formation de particules d'argent métallique (**Wiley et al., 2005**).

Il est essentiel d'utiliser des agents protecteurs afin de stabiliser les nanoparticules métalliques dispersives lors de la synthèse, les agents protecteurs contribuent aussi dans la conservation des NPs en évitant leur agglomération. Les alcools sont les plus utilisés comme agent de stabilisation des particules, ils protègent les particules de l'agglomération, de la sédimentation et de la perte de leurs propriétés de surface. D'autres polymères comme le poly (vinylpyrrolidone), poly (éthylène glycol), le poly (acide méthacrylique) et le polyméthacrylate de méthyle ont été signalés comme des agents protecteurs efficaces pour la stabilisation des NPs (**Oliveira et al., 2005**).

I.4.2 Synthèse verte des nanoparticules d'argent

a. Synthèse des AgNPs par les bactéries

La synthèse bactérienne des AgNPs se déroule selon deux mécanismes différents à savoir, La synthèse bactérienne intracellulaire et extracellulaire. La synthèse intracellulaire se produit à l'intérieur de la cellule bactérienne, dans laquelle le précurseur (Ag^+) est réduit en Ag^0 , et la nanoparticule obtenue s'accumule sur la paroi cellulaire (Murugan et al., 2014). La synthèse intracellulaire est réalisée dans des bactéries résistantes à l'argent afin d'éviter son action biocide sur la cellule. Les espèces appartenant au genres *Pseudomonas* et les cyanobactéries sont les plus utilisées pour ce type de synthèse (Murugan et al., 2014 ; Roychoudhury et al., 2016 ; Srivastava et Constanti, 2012 ; Srivastava et al., 2013).

D'autres espèces bactériennes sont démontrées récemment aptes à générer des AgNPs (Tableau 01). Cependant, la synthèse extracellulaire dépend des protéines et des enzymes sécrétées par la cellule bactérienne capable de réduire les ions d'argent. Au laboratoire, ce processus est faisable grâce à l'utilisation du contenu cellulaire réducteur isolé (Quinteros et al., 2019).

Tableau 01. Nanoparticules d'argent synthétisées par les bactéries.

Espèce bactérienne	Taille (nm)	Temps (h)	Température (°C)	Référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	24	37	(Quinteros et al., 2018)
<i>Bacillus endophyticus</i>	5	72	28	(Gan et al., 2018)
<i>Bacillus megaterium</i>	80 - 98	48	28	(Saravanan et al., 2011)
<i>Streptomyces sp.</i>	8–15	72	20	(Bakhtiari-Sardari et al., 2020)

b. Synthèse des AgNPs par les champignons

En comparaison avec les AgNPs dérivés de plantes ou d'autres micro-organismes, la synthèse des AgNPs par les champignons est nettement plus efficace avec un rendement élevé (Singh et al., 2014). *Aspergillus terreus* était capable de produire des AgNPs stables d'une taille comprise entre 1 et 20 nm (Li et al., 2012). Vigneshwaran et al. (2007) ont enregistré la biosorption des nanoparticules d'argent sur la paroi cellulaire d'*Aspergillus flavus* durant leur

Etude bibliographique.

traitement avec une solution de nitrate d'argent, les nanoparticules ont été ensuite séparées par un processus d'ultrasonification.

c. Synthèse des AgNPs par les plants

En comparaison avec les méthodes précédentes, la synthèse des AgNPs par les plantes est plus facile, ce procédé vert est moins menaçants, de plus, il ne nécessite pas d'étapes de préparation microbiennes (Lee et Jun, 2019).

Durant biosynthèse verte des AgNPs, les différents organes de la plante peuvent être utilisés. Les métabolites secondaires et primaires participent dans la génération des AgNPs. Cependant, les métabolites secondaires comme les alcaloïdes, les polysaccharides, les tanins, les terpénoïdes, les phénols et les vitamines sont les plus ciblés en vue d'obtenir des AgNPs avec un potentiel d'activité biologique (Roy et Das, 2015 ; Sumitha et al., 2018).

Les approches de biosynthèses vertes des AgNPs par les extraits de plantes conduisent à produire des nanoparticules plus stables en une courte durée et respectueuse de l'environnement (Kareem et al., 2020 ; Vanlalveni et al., 2021).

I.5. Facteur affectant la synthèse des nanoparticules d'argent

I.5.1. Température

La température de biosynthèse des NPs affecte considérablement la vitesse du processus, la taille et la stabilité des NPs. L'augmentation de la température durant la synthèse des AgNPs par le filtrat de *Fusarium oxysporum* a démontré des augmentations progressives du taux de synthèse due à une sécrétion plus élevée de protéines par la biomasse fongique. Cependant, à des températures comprises entre 80°C et 100°C un début d'agrégation de nanoparticules est enregistré, cet effet est dû à la dénaturation des protéines de coiffage sensible à la température (Birla et al., 2013). Une autre étude a noté un résultat complètement différent lors de la synthèse des AgNPs à l'aide du champignon *Aspergillus fumigatus* BTCB10, une taille de 322,8 nm est obtenue à 25 °C, tandis qu'à 55 °C la taille atteint 1073,45 nm (Shahzad et al., 2019). Selon ces résultats, des températures non contrôlées conduisent à la génération de NPs de grande ou de petite taille instable, cela est fortement dû à la dénaturation ou à la faible activité des enzymes impliquées dans la biosynthèse.

I.5.2. pH

Le pH du milieu joue un rôle primordial dans la synthèse des NPs, une modification de la morphologie et de la taille des NPs formées est possible en fonction du gradient du proton (Nayak et al., 2011). Le gradient des protons affecte la structure et l'activité des enzymes réductase. Une étude réalisée par les biomasses des bactéries lactiques a démontré clairement que la quantité des AgNPs et de la biomasse sont affectées par les variations de pH. Plus le pH augmente plus la quantité des NPs formées augmente. Dans cette étude, 11,5 est le pH le plus alcalin, en effet, une récupération importante de Nps est enregistrée avec ce pH (Sintubin et al., 2009).

I.5.3. Concentration d'AgNO₃

Les tailles NPs sont fortement influencées par les variations de la concentration d'AgNO₃. Une variation des tailles des NPs formées sont notées dans l'étude de Phanjom and Ahmed utilisant *Aspergillus oryzae* comme réducteur. Dans une gamme de concentration situé entre 1 à 8 mM, des AgNPs de taille comprise entre 17.06 à 7.22 nm sont générés. Cependant, à une concentration comprise entre 9 et 10 mM, des AgNPs de taille comprise entre 45.93 à 62.12 sont générés (Phanjom et Ahmed, 2017). L'ajout de concentration excessives d'ions métalliques génère des NPs avec de taille volumineuse et d'une structure irrégulière Ces résultats impliquent qu'il existe une limite de concentration d'AgNO₃ qui doit être respecté afin de générer des AgNPs avec des caractéristiques satisfaisantes (AbdelRahim et al., 2017).

I.6 Activité biologique des AgNPs

I.6.1. Activité antibactérienne

Argent sous forme d'AgNO₃ présente d'importants effets antimicrobiens, alors qu'à l'échelle nanométrique, l'activité antimicrobienne augmente. L'augmentation de du potentiel antimicrobien est fortement dû à la nature et la surface des nanoparticules d'argent. Les AgNPs entraînent la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), les ROS à leur tour provoquent des dommages dans la membrane cytoplasmique et un dysfonctionnement de l'ADN. Par ailleurs, le dysfonctionnement des cellules bactériennes est influencé par la taille des nanoparticules (Rai et al., 2012).

Etude bibliographique.

Le mécanisme d'action des AgNPs contre la cellule microbienne repose sur leur action dans la paroi et la membrane cytoplasmique. En effet, les nanoparticules d'argent attaquent les parois cellulaires bactériennes et pénètrent dans la cellule. L'accumulation des AgNPs à la surface de la paroi cellulaire conduit à la formation de convulsions, et entraîne des changements structuraux et des changements dans la perméabilité ce qui conduit à la destruction de la cellule. La spectroscopie par résonance de spin électronique suggère que l'interaction des nanoparticules d'argent avec les bactéries conduit à la production de radicaux d'argent. Ces radicaux endommagent la membrane cellulaire en provoquant une fuite du contenu cellulaire (Seku et al., 2022) . La **Figure 02** présente les principaux mécanismes d'action des AgNPs dans la cellule antibactérienne

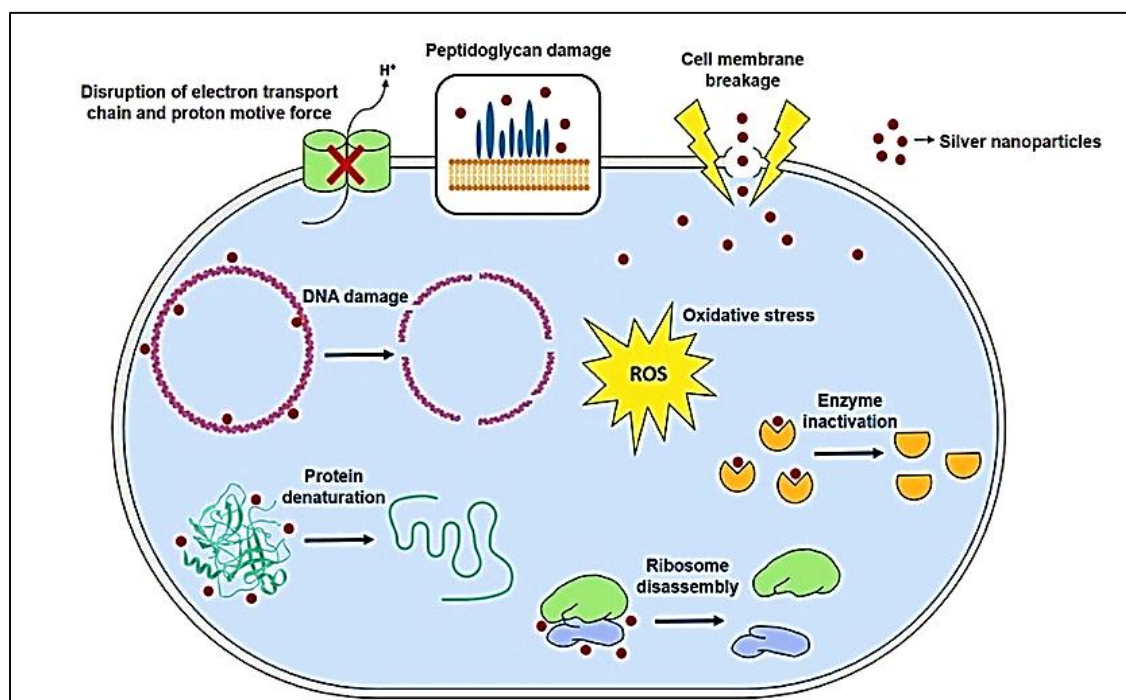


Figure 02. Mécanisme d'action des AgNPs dans la cellule bactérienne (Roy et al., 2019).

I.6.2. Activité antifongique

Les AgNPs renferment une forte activité antifongique contre plusieurs pathogènes fongiques (Krishnaraj et al., 2012 ; Narayanan et Park, 2014 ; Medda et al., 2015 ; Hernández-Díaz et al., 2021).

Les AgNPs peuvent détruire les spores fongiques en endommageant l'intégrité de la membrane. De plus, les AgNPs réagissent avec les composés phosphorés et soufrés, et leurs

Etude bibliographique.

interactions peuvent perturber l'ADN et les protéines, entraînant une interférence potentielle de la membrane et la mort cellulaire. Les AgNPs forment des complexes avec les bases contenues dans l'ADN, de plus, elles sont considérées comme des puissants inhibiteurs de la DNase (**Azizi et al., 2016 ; Devi et Bhimba, 2014**). L'effet inhibiteur des AgNPs entraînent l'inactivation de l'expression des protéines de la sous-unité ribosomique et d'autres protéines cellulaires essentielles à la production d'ATP (**Al-Zubaidi et al., 2019**).

I.6.3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des AgNPs est rapportée pour la première fois en 2011, l'équipe de recherche a utilisé *Syzygium cumini* comme source de production (**Banerjee et Narendhirakanan, 2011**). Un pouvoir réducteur et une capacité antioxydante ont été observés pour les AgNPs. L'activité de piégeage des radicaux DPPH des AgNPs était presque la même que celle de l'acide ascorbique. La présence d'un agent réducteur a déclenché la conversion du complexe Fe^{+3} /ferricyanure utilisé dans le dosage FRAP en la forme ferreuse. Néanmoins, L'activité antioxydant des AgNPs était inférieure à celle de l'acide ascorbique dans le test de piégeage des radicaux libres DPPH réalisé par **Dipankar et Murugan** en **2012**. D'autre recherches ultérieur ont aussi démontré l'activité antioxydante des AgNPs produites par des techniques verte à base de plante (**Bhakya et al., 2016 ; Fafal et al., 2017 ; Das et al., 2019**).

I.6.4. Activité anticancéreuse

De multiple recherches ont divulgué que les nanoparticules d'argent à médiation végétale modernisent le traitement des tissus cancéreux sans interférer avec les cellules normales humaines (**Raghunandan et al., 2011 ; Akhtar et al., 2013**). Elles ont des applications uniques dans le maintien de l'homéostasie du niveau de ROS dans les cellules et la pénétration profonde dans la membrane cellulaire. Elles induisent la génération et la libération de NO, formant du peroxy-nitrite toxique, qui supprime les tumeurs via des dommages oxydatifs. Elles régulent également l'apoptose médiée par les mitochondries et les récepteurs de mort via les voies p53 et p21. Les AgNPs améliorent l'activité mitochondriale et activent les enzymes (Bax et Bcl-2) et le cytochrome c, qui renforcent l'activité caspase et aboutissent finalement à l'apoptose cellulaire (**Sharma et al., 2022**). La **Figure 03** présente le mécanisme d'action possible pour les AgNPs sur les cellules cancéreuses.

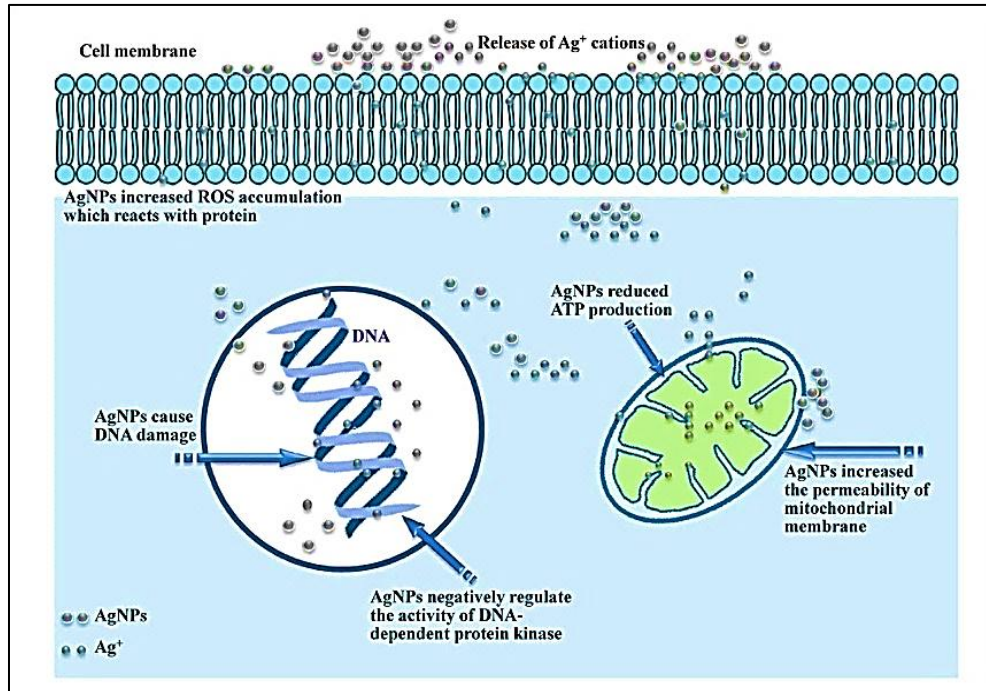


Figure 03. Mécanisme d'action proposé pour AgNPs sur les cellules cancéreuses (El-Naggar et al., 2017).

I.6.5. Activité antivirale

Les AgNPs exercent une activité antivirale modérée contre le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) et contre l'hépatite B (VHB). Les AgNPs se lient parfaitement à la glycoprotéine du VIH-1 et par conséquent, une inactivation de la liaison du virus aux cellules hôtes. Autrement, L'interaction des AgNPs avec le génome viral inhibe les voies essentielles à la réplication virale. Les AgNPs sont impliquées dans les médicaments afin de prévenir les infections virales à VIH (Elechiguerra et al., 2005 ; Lara et al., 2010 ; Leu et al., 2008).

D'autre part, Les AgNPs inhibent les adénovirus comme par exemple le virus de l'herpès (HSV) de type 1 et 2, le virus respiratoire syncytial (VRS), ainsi que des virus para-influenza humains de type 3 (Chen et al., 2013 ; Galdiero et al., 2011 ; Leu et al., 2008). Les mécanismes possibles de l'activité antivirale des AgNPs sont illustrés dans la **Figure 04**.

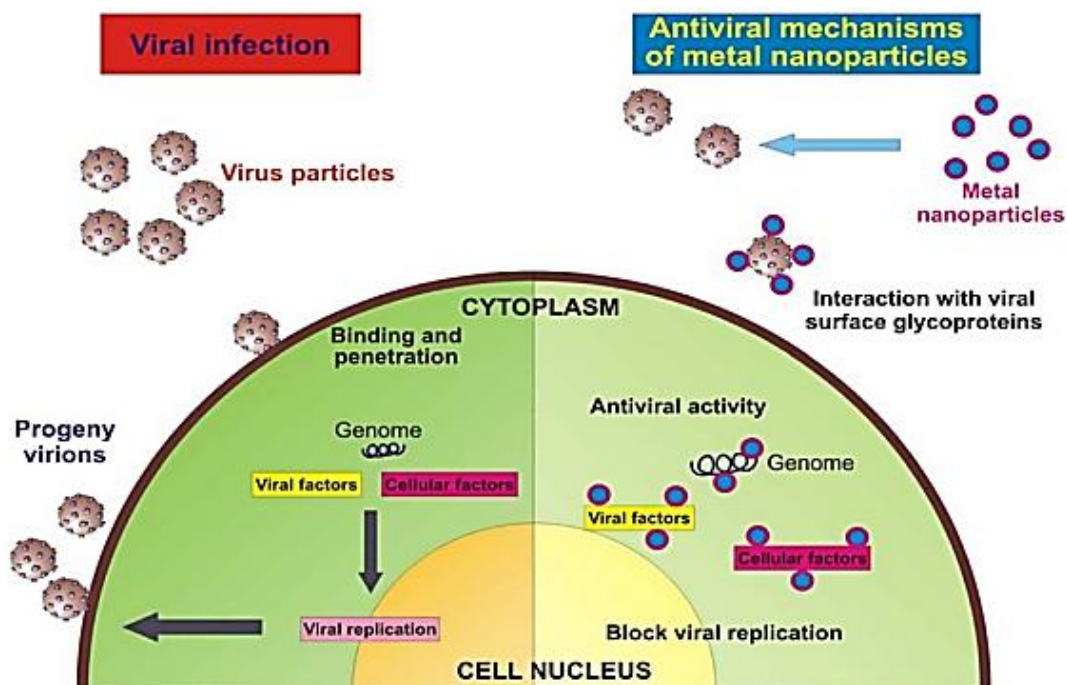


Figure 04. Mécanisme d'action antiviral des AgNPs (Galdiero et al., 2011).

I.7. Application des nanoparticules d'argent en agro-alimentaire

I.7.1. Application des nanoparticules d'argent dans la conservation des aliments

En raison de leurs propriétés antimicrobiennes, les nanoparticules d'argent ont subi une forte demande dans le secteur alimentaire (Mohd Yusof et al., 2020). Les AgNPs sont utilisées pour augmenter la durée de conservation et le maintien de la qualité des fruits et des légumes (Carbone et al., 2016 ; Ravindran et al., 2020). Les AgNPs synthétisées à base de *Serratia nematodiphila* renferment de grandes propriétés antimicrobiennes contre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *K. planticola*. Par conséquent, ces NPs peuvent être utilisés pour les emballages alimentaires en raison de leur excellent effet antimicrobien (Malarkodi et al., 2013). Dans une autre étude, la durée de conservation des fruits et des légumes s'est augmentée lorsque des nanoparticules d'argent ont été incorporées dans des nanofibres d'alcool polyvinylique (Kowsalya et al., 2019). La figure 05 montre l'incorporation des AgNPs dans l'emballage des fruits afin de préserver leur qualité.

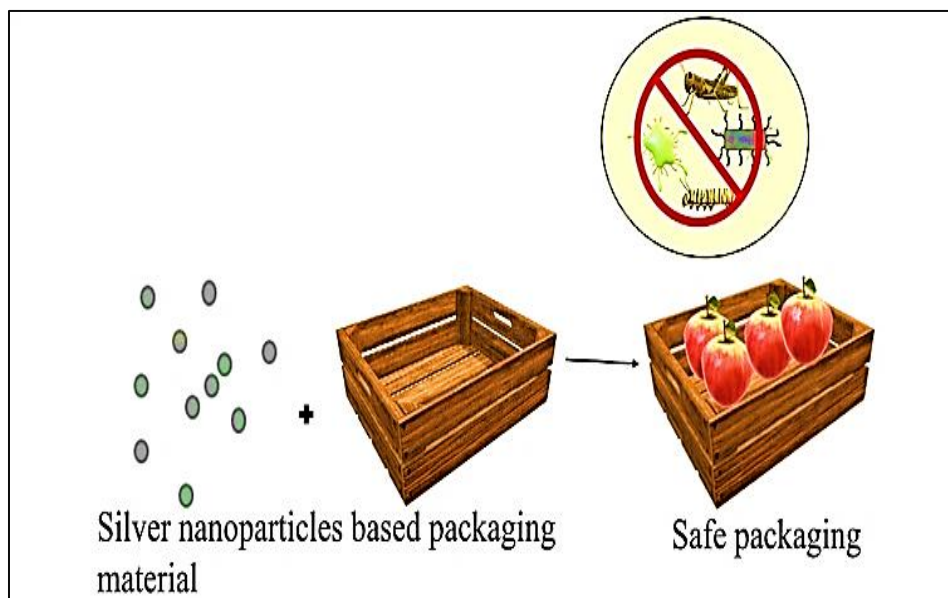


Figure 05. Rôle des nanoparticules d'argent à médiation microbienne dans les emballages alimentaires (Samrotet al., 2022).

I.7.2. Applications des nanoparticules d'argent dans la phytoprotections des cultures agricoles et la fertilisation des sols

L'utilisation des nanoparticules dans l'agriculture est indispensable aujourd'hui, les NPs enrichissent le sol et la terre (Mishra et Singh, 2015 ; Manjunatha et al., 2016). En raison de leur nature stable et biodégradable, les AgNPs sont utilisés dans les nanoformulations pour produire des produits chimiques qui agissent comme des nanofertilisants (Gupta et al., 2018 ; Gosavi et al., 2020 ; Muhammad et al., 2020). Selon l'étude de Jo, les NPs peuvent également être utilisés comme des pesticides dans les champs de culture suite à leur pouvoir fongicide contre les pathogènes affectant les plantes comme *Magnaporthe grisea* (Jo et al., 2009). Une autre étude récente a démontré que les nanoparticules d'argent synthétisées à partir de *Streptomyces sp. VSMGT1014* se sont révélés actives contre de nombreux phyto-champignons. Il est donc prouvé qu'ils peuvent être utilisés comme fongicide pour protéger les cultures (Figure 06) (Shanmugaiah et al., 2015).

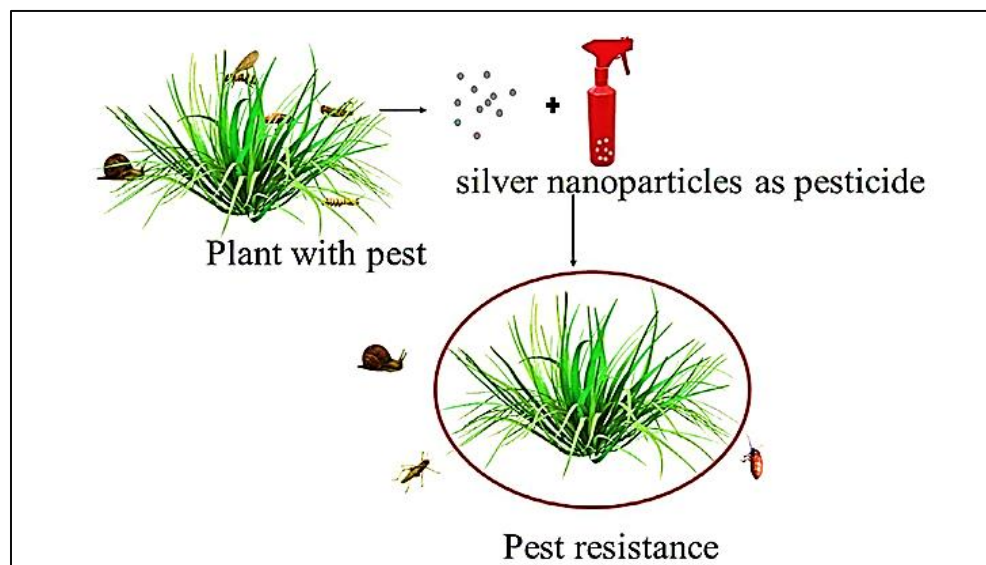


Figure 06. Rôle des nanoparticules d'argent à médiation microbienne dans protection des cultures comme fongicide (Samrotet al., 2022).

Il est à noter que les AgNPs améliorent le profil des nutriments des végétaux. Il agit également comme un régulateur et stimulateur des plantes. Les AgNPs biogéniques produisent de manière significative un effet positif sur *Bacopa monnieri* et *Boswellia ovalifoliolata* en améliorant la germination des graines, la croissance des semis, la synthèse des glucides et des protéines (Krishnaraj et al., 2012). Il augmente également les caractéristiques morphologiques des plantes telles que la taille, la longueur des feuilles, des racines et des pousses, ainsi que la teneur en glucides, la chlorophylle, les enzymes antioxydants (Salama, 2012 ; Sharma et al., 2012).

I.8. Toxicité des nanoparticules d'argent

I.8.1. Toxicité pour les poissons

L'exposition prolongée aux AgNPs provoque divers changements dans le plasma sanguin, tels que l'augmentation de la concentration de cholinestérase et de cortisol, et une concentration réduite d'ions de potassium et de chlorure (Johari et al., 2013). La concentration de glucose peut également augmenter (Webb et Wood, 1998). Tous ces changements dépendent de la dose des nanoparticules d'argent. La peroxydation lipidique peut être aussi affecter, sans négligé les dommages à l'ADN (M01 assarsky et al., 2014) ainsi qu'une réduction des ions de sodium et de potassium et de l'activité ATPase (Schultz et al., 2012).

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE.

II. Matériel et méthode

Ce travail est réalisé au sein du laboratoire pédagogique de microbiologie, Département de Biologie, Faculté des Sciences. Université Ammar Telidji – Laghouat, la caractérisation physicochimique des nanoparticules biogéniques est réalisée dans le centre de recherche scientifique et technique en analyses physico chimiques (CRAPC) de Laghouat.

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Souches microbiennes

La souche bactérienne utilisée pour la synthèse verte des nanoparticules provient de la collection microbienne de Dr Gacem Mohamed Amine, enseignant à l'Université de Laghouat, cette souche appartient au genre *Streptomyces*. Les souches bactériennes pathogènes utilisées pour évaluer l'activité biologique de nanoparticules générées proviennent du laboratoire pédagogique de microbiologie, Université de Laghouat (**Tableau 02**).

Tableau 02. Souches bactériennes utilisées pour tester les activités biologiques des nanoparticules d'argent.

Les souches bactériennes	L'origine
<i>Escherichia coli</i>	Laboratoire pédagogique de microbiologie, Département de biologie, Faculté des Sciences. Université de Laghouat.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Micrococcus luteus</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	

Les souches fongiques pathogènes utilisées pour évaluer l'activité biologique de nanoparticules générées sont isolées à partir des graines de blé (**Tableau 03**).

Tableau 03. Souches fongiques utilisées pour tester les activités biologiques des nanoparticules d'argent.

Les souches fongiques	L'origine
<i>Aspergillus flavus</i>	isolées à partir des graines de blé
<i>Aspergillus ochraceus</i>	
<i>Penicillium expansum</i>	
<i>Fusarium avenaceum</i>	

II.2. Isolement et purification des moisissures

L'isolement des moisissures est réalisé sur le milieu PDA à partir des graines de blé (méthode d'isolement indirecte). Le milieu PDA est jugé comme milieu de choix pour l'isolement des moisissures.

Les boîtes de pétri sont incubées à 27°C, pendant 5 à 7 jours (**Figure 07**).

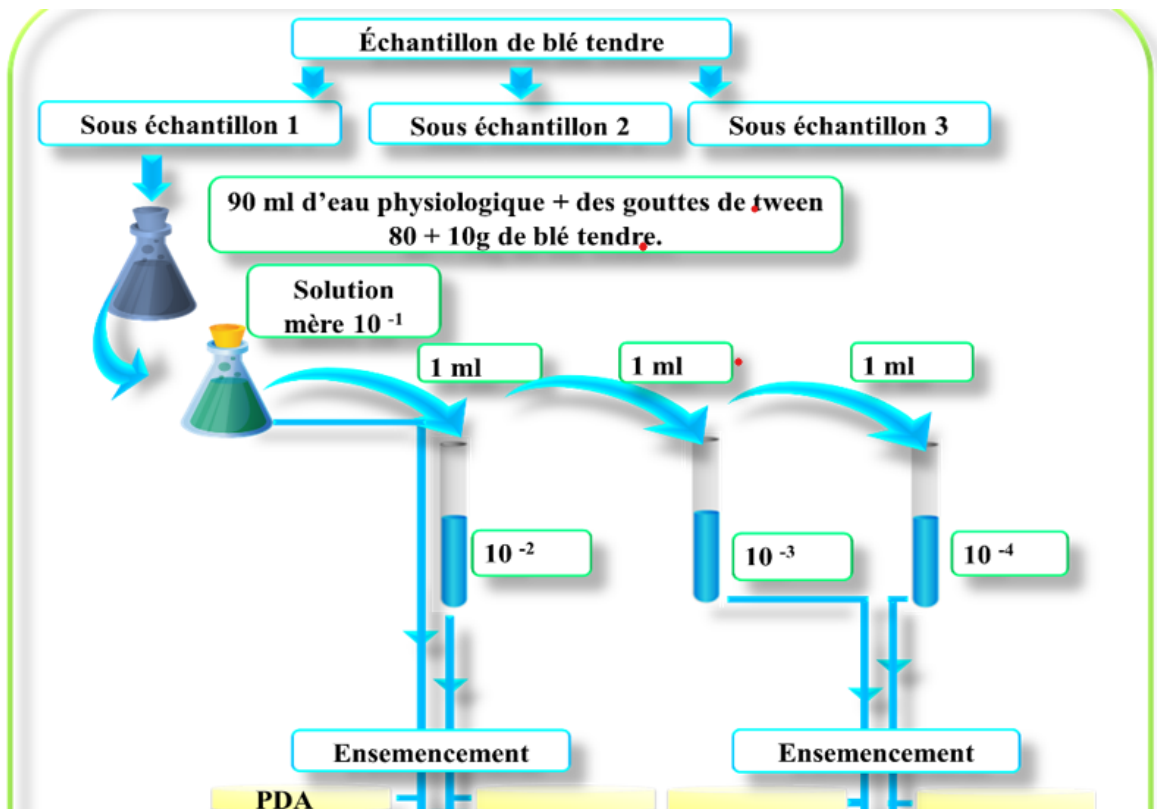


Figure 07. Isolement des moisissures à partir des graines de blé par la méthode indirecte.

La purification des moisissures recherchées est réalisée sur milieu PDA acidifié (2% d'acide lactique). Les colonies isolées sont repiquées successivement afin d'obtenir une croissance radiale pure

Le repiquage est effectué par prélèvement de colonie à l'aide d'un ensemencement stérile tout en évitant son contact avec les autres colonies de la même boîte (**Photo 01**). Le fragment isolé est déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu PDA acidifié. L'incubation est réalisée à 27°C pendant 7 jours.

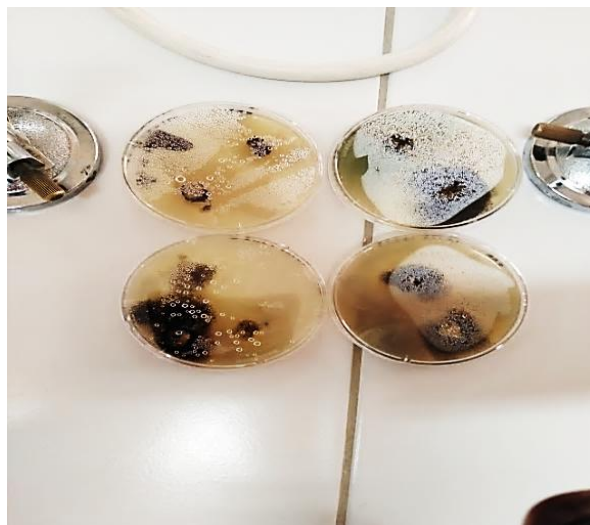
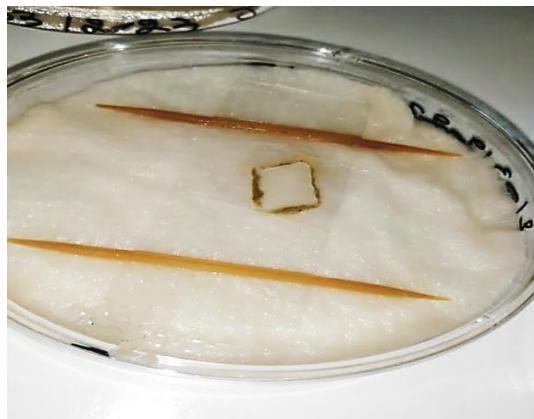


Photo 01. Culture fongiques mixte obtenue à partir des graines de blé sur milieu PDA (**Photo originale, 2023**).

II.3. Identification des genres fongiques par la technique de micro-culture

Décrite par **Haris (1989)**, la technique de micro-culture consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés, de milieu PDA acidifié et les recouvrir par une lamelle. Les spores sontensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à $27\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ pendant 7 jours.

Après incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant une goutte de bleu de lactophénol. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ (**Photo 02**). Les genres sont déterminés par les caractères culturaux et microscopiques en se référant au manuel de **Barnett et Hunter (1972)**.



(Photo originale, 2023).

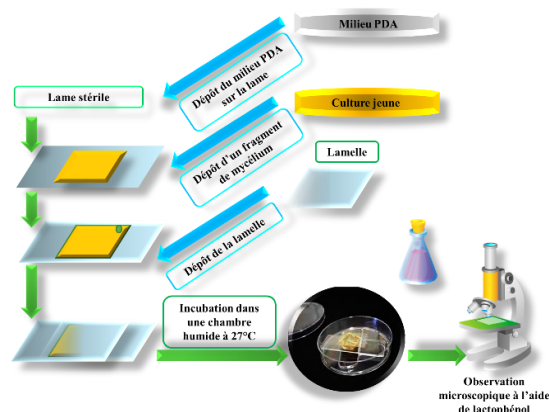


Photo 02. Micro-culture des moisissures pour l'identification microscopique.

II.4. Biosynthèse verte des nanoparticules d'argent (AgNPs)

La souche d'*actinomycète* utilisée dans cette étude provient de la collection microbienne de Dr Gacem Mohamed Amine (enseignant à l'université de Laghouat). La souche est génétiquement identifiée, elle appartient au genre *Streptomyces*. La **figure 8** illustre les différentes étapes expérimentales suivies durant la synthèse des AgNPs.

Afin de détecter la résistance et/ou la tolérance de la souche *Streptomyces sp.* vis-à-vis le nitrate d'argent, la souche est cultivée sur milieu gélosé à l'amidon et à la caséine (SCA) contenant différentes concentrations d'AgNO₃. L'incubation est réalisée à 28°C pendant 14 jours.

Comme le montre la **figure 8**, les bio-AgNPs sont synthétisés en utilisant AgNO₃ (Sigma Aldrich) comme précurseur et les métabolites secondaires de l'actinobactérie comme agents réducteurs. Un aliquote (20 µl) de la culture nocturne de *Streptomyces Sp.* (1×10^5 UFC/ml) est inoculée dans 100 ml de milieu 5294 (bouillon) puis incubé sur un agitateur orbital à 28 °C pendant 7 jours à 120 tr/min. La biomasse d'*Actinobacterium* est collectée après incubation par centrifugation à 5000 rpm pendant 30 min. Les composants du milieu associés sont éliminés par lavage (deux fois avec de l'eau distillée). Après cela, la biomasse est remise en suspension dans 100 ml d'eau distillée et incubée à 28°C pendant 48 h. Après avoir lysé osmotiquement les bactéries, elles ont été filtrées à travers un papier filtre Whatman n° 1. Le filtrat obtenu est utilisé comme agent réducteur dans la préparation des bio-AgNPs. Le pH, la température et la

concentration d'AgNO₃ sont ajustés à 8.5, 30°C, et 1 Molaire, respectivement (**Veerasamy et al., 2011**).

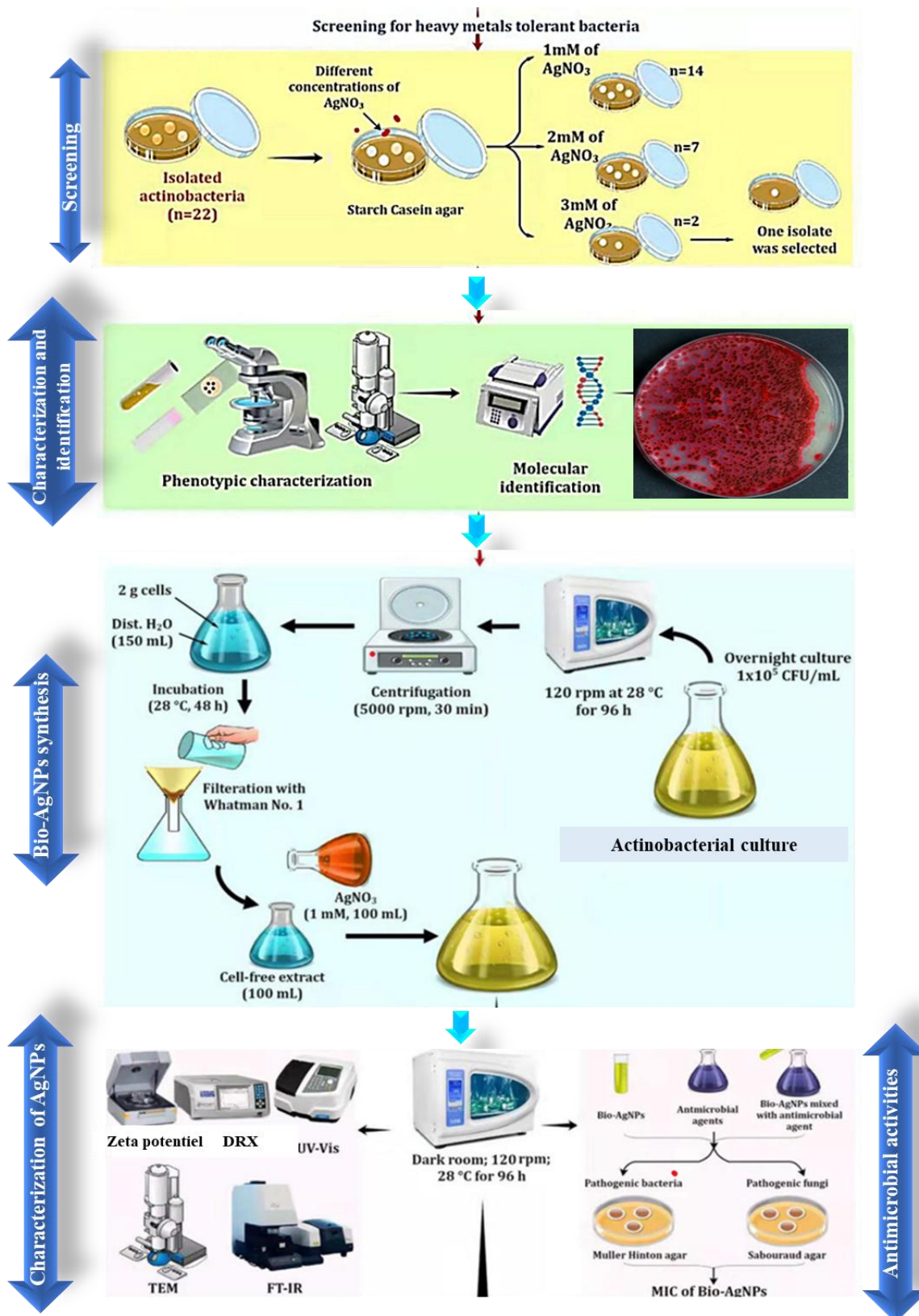


Figure 08. Schéma représentatif des étapes suivies durant la biosynthèse des nanoparticules d'argent (Veerasamy et al., 2011).

II.5. Détermination les activités biologiques des AgNPs

II.5.1. Détermination de l'activité antifongique des AgNPs

Pour chaque moisissure, l'inoculum doit être préparé à partir d'une culture jeune de 7 jours préparée sur milieu PDA. La récupération des spores est effectuée par un écouvillon stérile imbibé dans le Tween 80, les spores sont par la suite transférées dans 9 ml d'eau physiologique stérile. A l'aide d'un vortex, la suspension des spores préparée est mélangé vigoureusement pendant 15-20 secondes afin d'empêcher l'agglutination des spores La solution est ajustée à 10^6 spores/ml à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 530 nm (**Figure 09**).

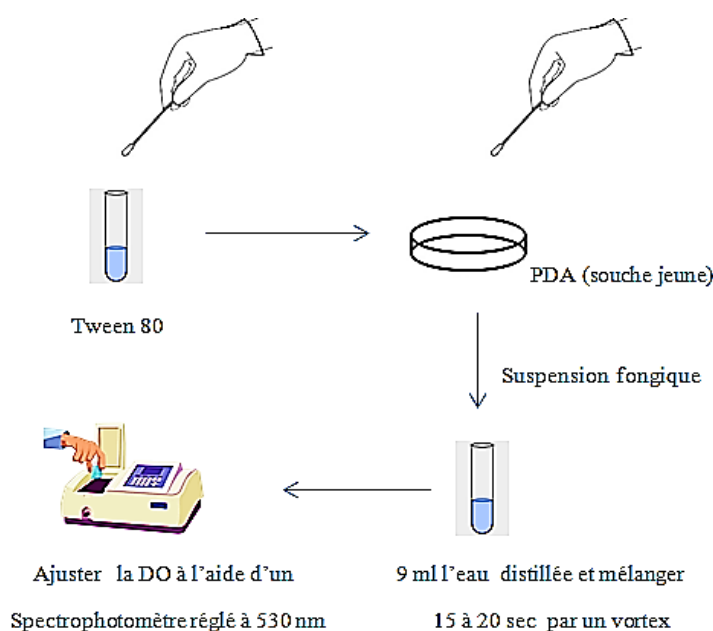


Figure 09. Préparation des suspensions fongiques.

La densité optique à laquelle l'inoculum est ajusté varie en fonction de l'espèce fongique et la taille des spores (**Tableau 04**).

Tableau 04. Densité optique des espèces fongiques utilisées durant l'évaluation de l'activité antifongique.

Espèce fongique	Densité optique (DO)
<i>Aspergillus flavus</i>	0.09-0.011
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.09-0.011
<i>Penicillium expansum</i>	0.09-0.011

<i>Fusarium avenaceum</i>	0.15-0.17
---------------------------	-----------

Pour chaque souche fongique, les suspensions fongiques sont ensemencées à l'aide d'écouvillon sur les surfaces des milieux PDA solidifié dans des boîtes de Pétri de 9 cm. Le milieu PDA est par la suite perforé au centre de la boîte à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile. Les nanoparticules sont injectées dans les puits à différents volume (10, 20 et 30 μ l).

Les boîtes sont incubées à 27°C pendant 5 jours (**Figure 10**).

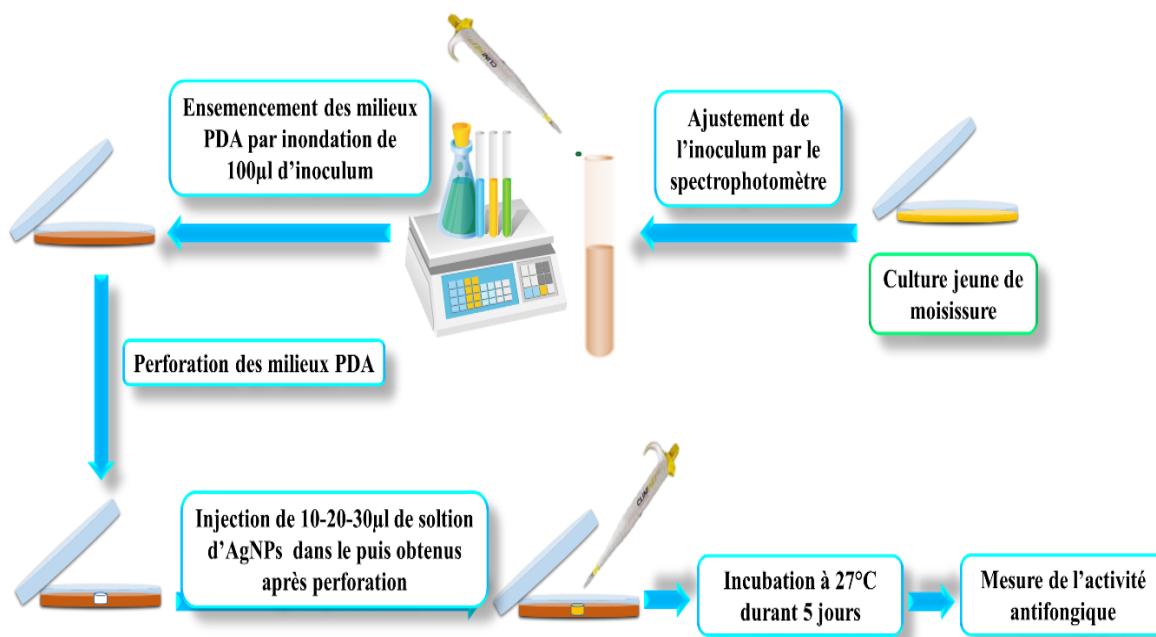


Figure 10. Evaluation de l'activité antifongique des AgNPs biogéniques.

II.5.2. Détermination de l'activité antibactérienne des AgNPs

Les suspensions bactériennes sont préparées à partir de culture jeunes ensemencées sur milieu MH. Les colonies isolées sont récupérées à l'aide d'un écouvillon stérile, puis transférées dans 9ml d'eau physiologique stérile. Les suspensions préparées sont ensuite mélangées dans un vortex pendant 15 à 20 secondes et les densités optiques sont ajustées à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 600 nm (**figure 11**).

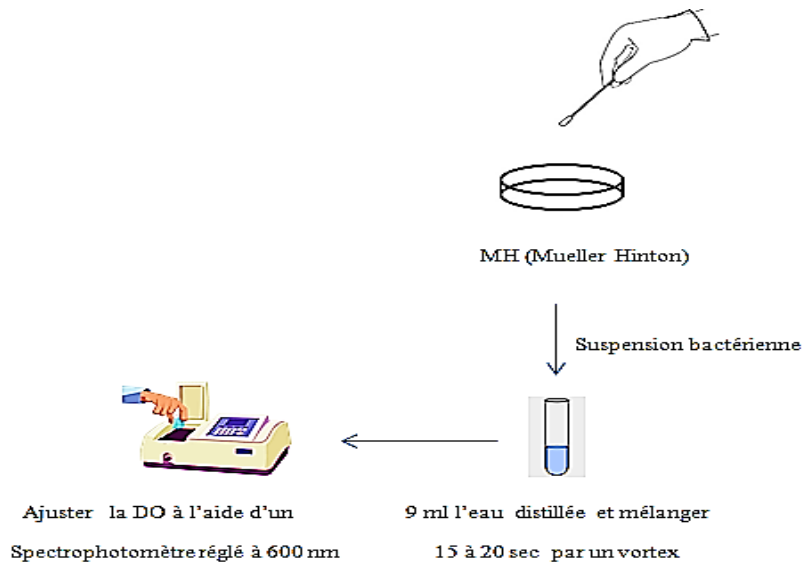


Figure 11. Préparation des suspensions bactériennes.

La densité optique à laquelle l'inoculum est ajusté varie en fonction de l'espèce bactérienne (**Tableau 05**).

Tableau 05. Densité optique des espèces bactériennes à tester.

Espèce bactérienne	Densité optique (DO)
<i>Escherichia coli</i>	0.074
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.1
<i>Micrococcus luteus</i>	0.089
<i>Staphylococcus</i>	0.08

Pour chaque souche, les suspensions bactériennes sont ensemencées à l'aide d'écouvillon sur les surfaces des milieux MH solidifié dans les boîtes de Pétri de 9cm. Le milieu MH est par la suite perforé au centre de la boîte à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile. Les nanoparticules sont injectées dans les puits à différents volumes (10, 20 et 30 μ l).

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heure, après incubation l'activité antibactérienne est mesurée.

II.6. Caractérisations des AgNPs biogéniques formées

II.6.1. Caractérisation spectroscopique des AgNPs biosynthétisées par UV-Visible

Une analyse spectroscopique UV-Vis des AgNPs biosynthétisés est réalisée pour déterminer la réduction biogénique du précurseur AgNO_3 . Le spectrophotomètre à double faisceau (SHIMADZU), fonctionnant à une résolution de 1 nm, était utilisé pour exécuter l'analyse (Bhosale et al., 2014). Le spectre UV-Vis était enregistré sur une plage de 200 à 900 nm.



Photo 03. Spectroscopie UV-Vis (photo capturé au niveau de PTAPC-Lghouat, 2023).

II.6.2. Caractérisation spectroscopique des AgNPs biosynthétisées par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres FTIR des AgNPs biosynthétisés sont analysés par un spectrophotomètre FTIR (BRUKER), l'analyse est effectuée en mode de réflectance diffuse fonctionnant à une résolution de 4 cm^{-1} (Irvani et al., 2014). Les spectres des AgNPs biogéniques sont enregistrés entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} .



Photo 04. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) (photo capturé au niveau de PTAPC-Lghouat, 2023).

II.6.3. Analyse des AgNPs biosynthétisées par diffraction des rayons X (DRX)

Environ 500 mg de poudre d'AgNPs biogénique est analysé par une diffraction des rayons X utilisant un diffractomètre (Malvern Panalytical) équipé d'un rayonnement Cu-K α 1 (λ K α 1 = 1,5406 Å) de $2\theta = 0,5^{\circ}$ – 130° , avec incrément de $\Delta 2\theta : (0,034^{\circ})$. La tension est fixée à 45 kV, avec mA. La puissance est ajustée à 1,6 kW et le temps de comptage est de 0,5 s/pas (Ssekatawa et al., 2021). Les données générées sont analysées par OriginPro et les pics résultants de deux valeurs θ sont comparés aux valeurs AgNPs standard de la base de données du Centre (CRAPC). La taille moyenne des nanoparticules est calculée à l'aide de la formule de Debye-Scherrer donnée comme suit :

$$\phi = 0.9\lambda\beta\cos\theta,$$

- ϕ is the crystal particle size,
- β is full width at half maximum (FWHM),
- λ is the X-ray wavelength,
- θ is the angle subtended in peak.



Photo 05. Diffraction des rayons X (DRX) (photo capturé au niveau de PTAPC-Lghouat , 2023).

II.6.4. Détermination du potentiel zêta

Pour la détermination du potentiel zêta des AgNPs, Malvern Zetasizer Nano-ZS90 (HORIBA Scientific) était utilisé. La reconstitution des échantillons a été réalisée dans du tampon phosphate 5 mM pH 7,4 et la mobilité électrophorétique a été mesurée dans la cellule

d'électrophorèse. Les échantillons ont été exécutés en triple pour déterminer le potentiel zêta (Farheen et al., 2022).

II.6.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La taille et la morphologie des AgNPs biosynthétisés est examinées par microscopie électronique à balayage à émission de champ (Thermoscientific) fonctionnant à 5 kV. En bref, un film mince d'AgNPs a été préparé en étalant 1 mg de chaque échantillon sur une bande de carbone, puis en l'enduisant de carbone. Les images de surface ont été capturées à différents grossissements. Le logiciel ImageJ est utilisé pour estimer la distribution et la taille des AgNPs.

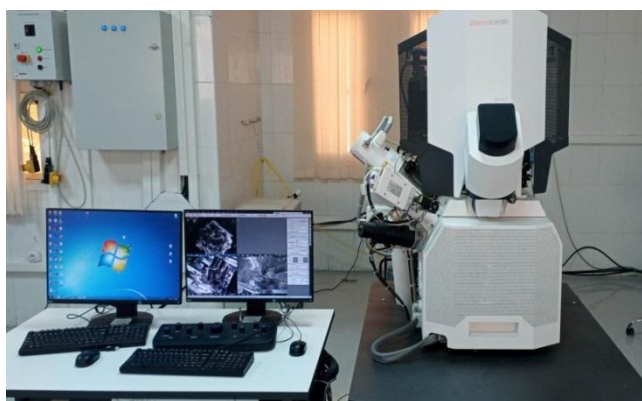



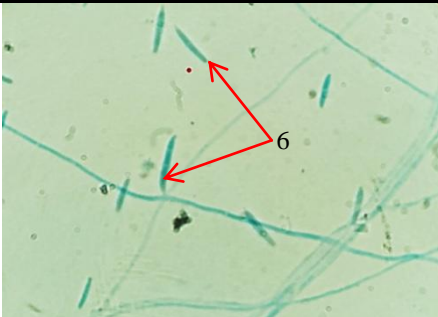

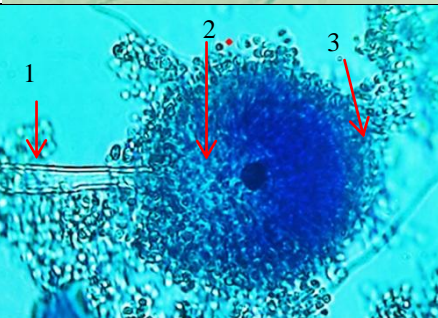

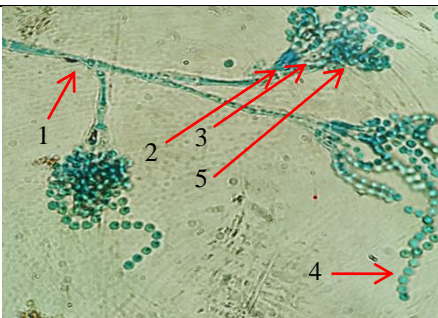
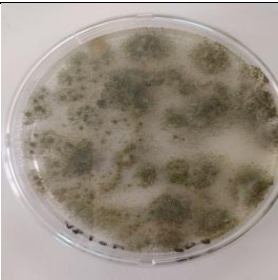

Photo 06. Microscopie électronique à balayage (MEB) (photo capturé au niveau de PTAPC-Lghouat , 2023).

RESULTATS ET DISCUSSIONS.

III. Résultats et Discussions

III.1. Observation microscopique des moisissures par la méthode de micro-culture

Tableau 06. Aspect microscopique des souches fongiques (photos originaux, 2023).

Souches fongiques pures	Observation microscopique	Genre
		<i>Fusarium avenaceum</i>
		<i>Aspergillus ochraceus</i>
		<i>Penicillium expansum</i>
		<i>Aspergillus flavus</i>

(1) Conidiophore ; (2) Vésicule ; (3) Métules ; (4) Conidies ; (5) phialides ; (6) Macroconidie.

Fusarium avenaceum

- Macroconidies fusiformes
- Présence de chlamydo-spores intercalaires

Aspergillus ochraceus

Têtes conidiennes bisériées globuleuses puis en plusieurs colonnes divergentes, de couleur jaune, ocre -jaune ou chamois

- Conidiophores rugueux, jaune à brun pâle, et longs.
- Vésicules globuleuses, hyalines.
- Métules et phialides produisant des conidies globuleuses à sub-globuleuses.

Penicillium expansum

- Pénicilles longues et compacts, triverticillés ; asymétriques.
- Conidiophores isolés, fasciculés, ou agrégés en corémies.
- Conidiofores lisses ou granuleux.
- Conidies elliptiques, lisses.

Aspergillus flavus

Têtes conidiennes unisériées ou bisériées, radiées, puis se scindant en plusieurs colonnes sporales jaunâtres au début, puis vert jaune foncé

- conidiophores verruqueux, longs.
- Vésicules sub-globuleuses.
- Sclérotés d'abord blancs, puis virant au brun- rouge foncé et au noir.
- Les phialides sont insérées directement sur la vésicule ou portées par de métules.

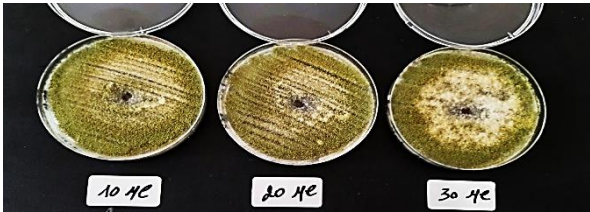



III.2. Résultats des activités biologiques des AgNPs par la méthode de puits**III.2.1. Activité fongique**

Les Résultats de l'activité antifongique évaluée par la technique des puits sont affichés sur le **tableau 07**.

Aspergillus flavus et le *Fusariums avenaceums* étaient les souches les plus résistantes avec une absence totale de toute activité antifongique dans toute les différentes concentrations par

contre, *Aspergillus ochraceus* est sensible au AgNPs (30 ul et 10 ul), cette moisissure est plus sensible en comparaison avec *Penicillium expansum* dont la zone inhibition est seulement 12 mm à 20 ul d'AgNPs.

Tableau07. Résultats des activités antifongiques d'AgNPs (photos originaux, 2023).

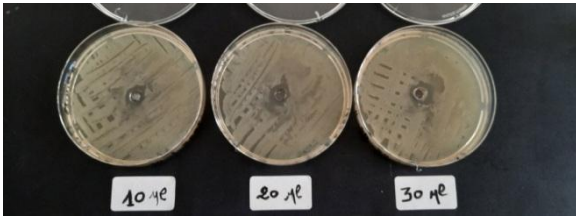
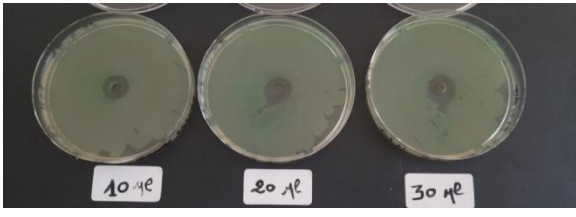
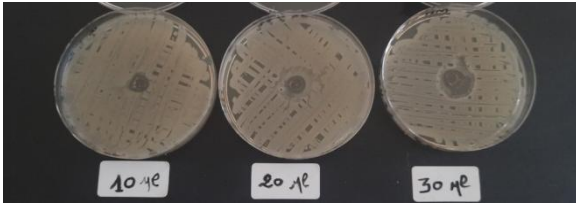

Espèce fongiques	Volume AgNPs (ul)	Zone d'inhibitions (mm)	Résultats
<i>Aspergillus flavus</i>	10	-	
	20	-	
	30	-	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	10	11	
	20	-	
	30	16	
<i>Penicillium expansum</i>	10	-	
	20	12	
	30	-	
<i>Fusarium avenaceum</i>	10	-	
	20	-	
	30	-	

III.2.2. Activité bactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne évaluée par la technique des puits sont affichés sur le **tableau 08**.

Selon ces résultats, toutes les souches bactériennes sont sensibles aux AgNPs, en particulier, *Micrococcus luteus* à 30 μ l. *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont deux bactéries à Gram-négative, elles sont sensibles aux AgNPs avec des zones d'inhibitions de 16 et 15.5 mm, respectivement à 30 μ l. selon ces résultats, *Staphylococcus aureus* s'est révélée moins sensible en comparaison avec les autres bactéries.

Tableau 08. Résultats des activités antibactériennes d'AgNPs (photos originaux, 2023).

Espèce bactérienne	Volume d'AgNPs (ul)	Zone d'inhibitions (mm)	Résultats
<i>Escherichia coli</i>	10	13	
	20	15	
	30	16	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	13	
	20	15	
	30	15.5	
<i>Micrococcus luteus</i>	10	10	
	20	10	
	30	19	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	
	20	10.5	
	30	12	

Une solution de nanoparticules d'argent biosynthétisées a été préparée à différents volumes. Sur la base des résultats obtenus à l'aide des tests de dilution tous les isolats bactériens et quelques souches fongiques se sont avérés très sensibles aux Bio-AgNPs. Les résultats obtenus ont montré que les l'activité variaient en fonction du volume de l'AgNPs. Les Bio-AgNPs se sont avérés avoir un effet significatif contre les isolats testés, **Wypij et al. (2018)** ont observé une augmentation de l'activité antibactérienne contre les cellules bactériennes durant l'utilisation des AgNPs biogéniques.

Cet effet résultait d'une interaction de liaison entre des molécules bioactifs des groupes hydroxyle et amino qui pouvaient facilement réagir avec les AgNPs. L'activité antimicrobienne dépend généralement de la dose et est plus perceptible contre les bactéries Gram négatives que contre les bactéries Gram positives (**Singh et al., 2018**). Les cellules Gram négatives, qui ont une fine couche de peptidoglycane, sont vraisemblablement plus sensibles à la perméation des AgNPs que les cellules Gram positives, qui ont une couche de peptidoglycane plus épaisse, formant une barrière efficace contre la pénétration des Bio-AgNPs. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés précédemment (**Rai et al., 2009**). Lorsque les ions Ag^+ des AgNPs se lient à la surface cellulaire chargée négativement, ils modifient les propriétés physiques et chimiques des membranes cellulaires, altérant les processus critiques tels que la perméabilité, l'osmorégulation, le transport des électrons et la respiration (**Mohanta et al., 2017**). Les AgNPs peuvent inhiber l'activité enzymatique de certaines protéines en se liant aux groupes thiol de la l-cystéine (**Rajeshkumar et Malarkodi, 2014**). De plus, en imprégnant la cellule et en interagissant avec les protéines, l'ADN et d'autres constituants cellulaires contenant du soufre et du phosphore, les AgNPs peuvent causer des dommages supplémentaires aux cellules bactériennes (**Nayak et al., 2015**).

Certain isolat fongique s'est avéré sensible aux Bio-AgNPs. Un effet fongicide des AgNPs sur les espèces fongiques évaluées pourrait s'expliquer par le fait que les nanoparticules agissent simultanément sur plusieurs cibles (**Ishida et al., 2014**).

III.3. Caractérisation des AgNPs biogéniques

III.3.1. Caractérisation physicochimique des AgNPs biogéniques

Le potentiel de l'extrait d'actinobactérie à synthétiser des nanoparticules a été établi en évaluant sa capacité à convertir le sel d'argent en nanoparticules d'argent telles que synthétisées.

Les ions argent aqueux ont été exposés à l'extrait de la souche bactérienne. La couleur du mélange réactionnel est passée du rouge rosé foncé au brun foncé (**photo 07**). La transformation de couleur correspond à l'effet caractéristique de résonance plasmonique de surface (SPR) de nanoparticules d'argent de différentes tailles.

Les propriétés physicochimiques des AgNPs biogéniques ont été déterminées en utilisant la spectroscopie d'absorption des plasmons de surface (SPR). Les propriétés SPR dépendent généralement de la forme de la population de NPs. Plusieurs techniques sont utilisées durant cette étude et les résultats sont décrites dans les paragraphes qui suivent.

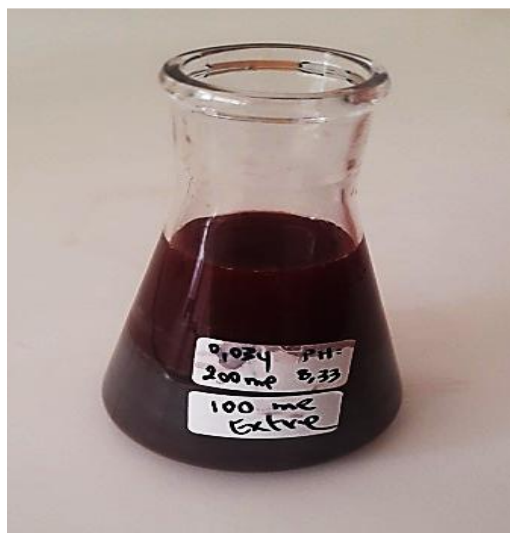


Photo 07. AgNPs biogéniques formées durant cette étude (**photo originale, 2023**).

III.3.2. Analyse spectroscopique UV-Vis des nanoparticules d'argent

Au départ, une technique spectroscopique d'absorption UV-Vis a été utilisée pour analyser la synthèse des nanoparticules. La **figure 12** montre les spectres d'absorption UV-Vis enregistrés pour les nanoparticules d'argent biogéniques récoltées après 5 jours de la réaction. Les résultats indiquent que la solution de réaction a affiché un maximum d'absorption à environ 460 nm qui est attribué au SPR des nanoparticules d'argent biogéniques formées (**Lim, 2014**). De plus, de nombreuses études ont révélé que les Bio-AgNPs étaient principalement formés par spectroscopie UV-vis, avec des pics allant de 420 à 450 nm (**Manivasagan et al., 2013 ; Singh et al., 2018**). Ces résultats spectraux recueillis avec un spectrophotomètre UV-Vis confirment la conversion des ions d'argent en Bio-AgNPs. Cela pourrait être dû aux métabolites secondaires trouvés dans les cellules réduisant les ions métalliques (**Manivasagan et al., 2013**).

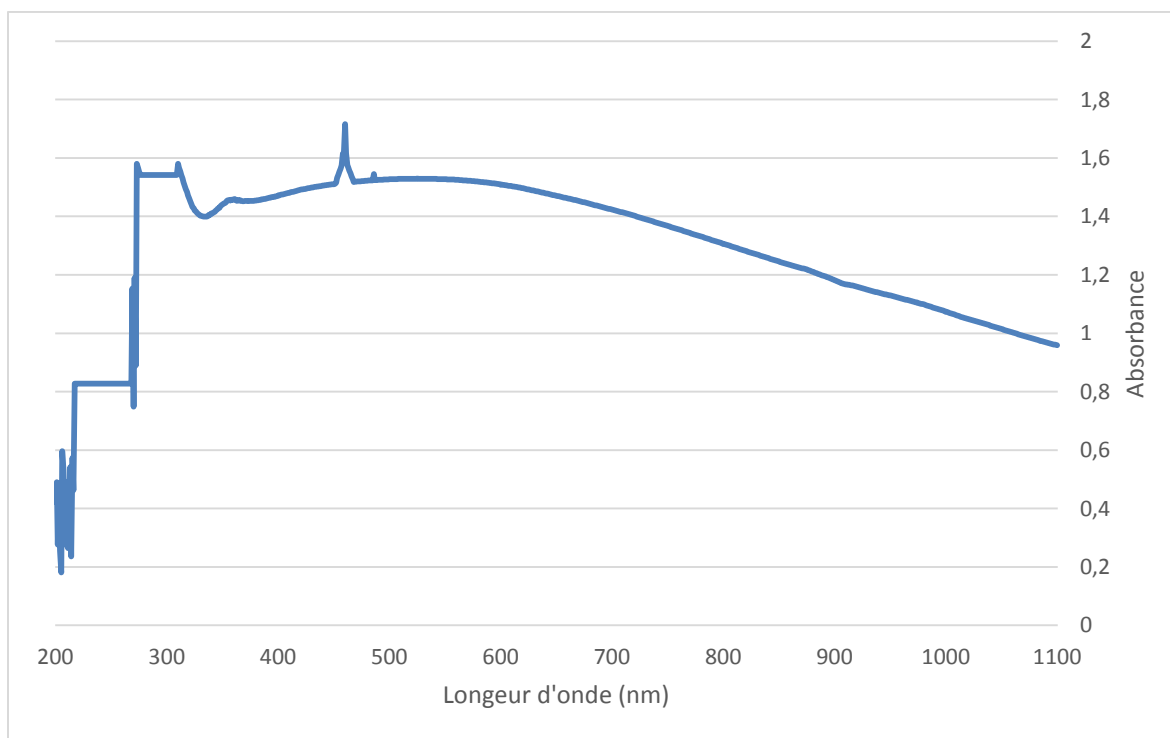


Figure 12. Spectres UV-Vis des nanoparticules d'argent formées lors de l'incubation d'AgNO₃ (1 M) avec les l'extrait de la souche d'actinobactérie.

Il a été rapporté que la modification du pH du mélange réactionnel modifie la forme et la taille des nanoparticules car le pH modifie la charge des biomolécules, ce qui peut affecter leurs propriétés de coiffage et de stabilisation (Verma et Mehata, 2016). De toute évidence, le pH acide (pH = 5) a inhibé la production de Bio-AgNPs, mais l'intensité de la couleur a augmenté à mesure que la solution de pH augmente de 6 à 9, ce qui est attribué à l'excitation des nanoparticules métalliques SPR. Veerasamy et al. (2011) ont rapporté que des nanoparticules se formaient à pH 4, tandis que des nanoparticules minuscules et hautement dispersées se formaient à pH 8. Selon Verma et Mehata (2016), l'absorbance des AgNPs augmente de 2 à 8 à mesure que le pH de la solution augmente, cependant, à des pH très basique l'absorbance diminue.

Le spectre UV-Vis à 28°C a révélé un fort pic SPR d'absorption à 442,5 nm avec une absorbance de 2,6833 u.a. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés précédemment (Veerasamy et al., 2011 ; Singh et al., 2020). Des températures supérieures n'ont pas d'effets sur l'absorbance.

Pour obtenir la taille optimale des Bio-AgNPs, la concentrations d'AgNO₃ doit être respectées (1mM). Les augmentations de la concentration d'AgNO₃ dans le mélange réactionnel entraînent la formation de Bio-AgNPs supplémentaires. Selon **Veerasamy et al. (2011)**, une concentration de 5 mM d'AgNO₃ a favorisé une production rapide, tandis qu'une concentration de 10 et 3 mM d'AgNO₃ a déplacé le pic du spectrophotomètre UV-visible dans les extraits de plantes. En général, les résultats indiquent que l'incubation de la solution d'extrait bactérien à pH 8.5 et une concentration d'AgNO₃ 1 mM à 28 ° C sur un agitateur orbital pendant 5 jours dans l'obscurité était la condition de réaction optimale.

III.3.3. Analyse FTIR

L'analyse infrarouge à transformée de Fourier a été utilisée pour identifier les biomolécules (groupes fonctionnels organiques et inorganiques) responsables de la bio-réduction des ions argent (Ag⁺) en AgNPs (Ag⁰) et du coiffage des Bio-AgNPs produits. Les biomolécules sont aussi responsables de la stabilisation des nanoparticules d'argent réduites pour empêcher leur agglomération dans le milieu aqueux. Plusieurs pics ont été détectés comme le montre la **figure 13**.

Le fort pic entre 3000 et 3500 cm⁻¹ correspond à l'étirement O-H des groupements alcooliques et phénoliques (**Thirunavoukkarasu et al., 2013**). Les bandes d'absorption dans la région de 3 000 à 2 700 cm⁻¹ sont caractéristiques du groupe C-H des alcanes. Les pics allant de 2 927 et 2 856 cm⁻¹ avec une intensité moyenne suggèrent un étirement C-H aliphatique et aromatique. Le pic à 2174 cm⁻¹ représente l'étirement C=N de R-N=C=S. La bande nette à 1 634 cm⁻¹ peut être attribuée à la liaison amide I des protéines dans l'extrait car la bande dans la région de 1 680 à 1 500 cm⁻¹ a été partagée entre la liaison amide de la protéine (provenant de l'extrait) (**Seyedeh et al., 2012**). Les bandes observées à 1300 et 1400 cm⁻¹ correspondant à l'étirement C-O ou du groupe carboxyle (**Kora et al., 2012**). Les bandes de fréquences inférieures à 708 cm⁻¹ peuvent être attribuées à l'étirement C-Cl avec des vibrations de flexion C-H hors du plan ou attribué au groupe C-H aromatique (**Litvin et Minaev, 2013**). Les résultats FTIR ont clairement révélé la présence de composés phénoliques et de protéines qui sont probablement impliqués dans la formation des Bio-AgNPs, ainsi que la possibilité que les protéines jouent un rôle important dans la stabilisation des Bio-AgNPs par coiffage, ce qui empêche l'agglomération et contribue à augmenter la stabilité des Bio-AgNPs (**Saranyaadevi et al., 2014**).

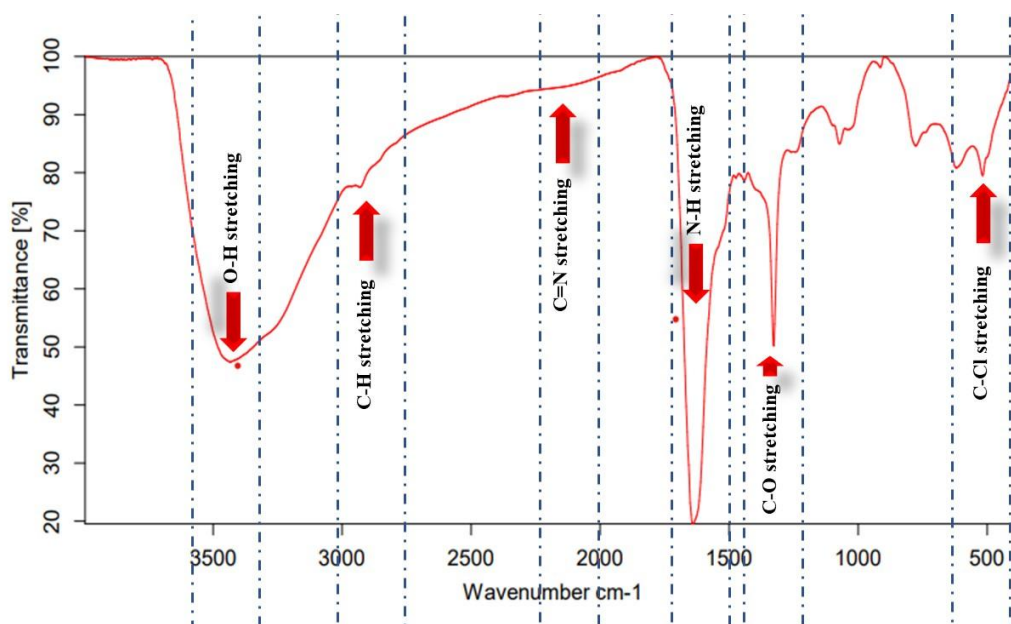


Figure 13. Spectres infrarouges à transformée de Fourier des Bio-AgNPs dérivés de *Streptomyces sp.*

III.3.4. Analyse de diffraction des rayons X

Une analyse par diffraction des rayons X a généré 09 pics pour les AgNPs biosynthétisés positionnés à 2θ angles de $27,9^\circ$, $32,2^\circ$, $38,2^\circ$, $44,4^\circ$, $46,3^\circ$, $54,8^\circ$, $57,6^\circ$, $64,5^\circ$ et $77,4^\circ$. Cependant, $38,2^\circ$, $44,4^\circ$, $64,5^\circ$ et $77,4^\circ$ correspondaient aux plans cristallins (111), (200), (220) et (311), respectivement. À partir des modèles XRD, la taille moyenne des nanoparticules cristallites d'argent a été calculée à l'aide de la formule Debye – Scherrer. La taille moyenne des nanoparticules cristallites d'argent synthétisées variait de 10.93 à 36.98 nm (moyenne = 24.02 nm) (**Figure 14**).

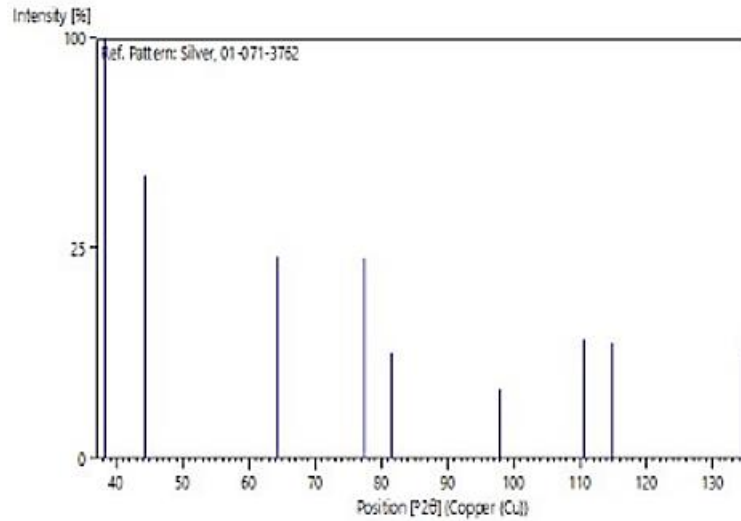


Figure 14. Modèle XRD pour les Bio AgNPs synthétisés.

III.3.5. Charge de surface des AgNPs mesurée par le potentiel Zêta

Le potentiel zêta est une propriété physique liée à la charge de surface nette des nanoparticules. En fonction de l'ampleur et de la nature de la charge, les particules peuvent se repousser (en raison de la force d'explosion de Coulomb) empêchant finalement l'agglomération des nanoparticules telles que synthétisées. La stabilité des NP a été bien corrélée avec le potentiel zêta allant de 0 mV à -30 mV. Les AgNPs tels que synthétisés se sont avérés avoir un potentiel zêta d'environ -21.8 mV (**figure 15**). Un fort potentiel zêta négatif confère une dispersité exceptionnelle, une nature colloïdale, une stabilité à long terme et aucune agrégation de nanoparticules (**Mohanta et al., 2017**).

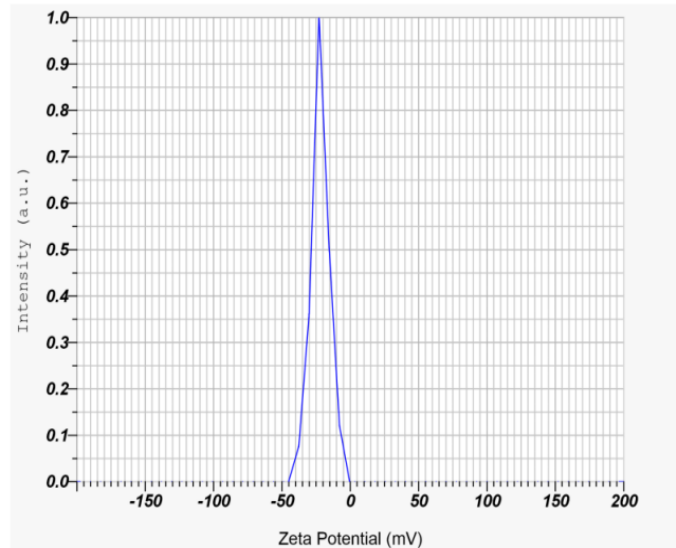


Figure 15. Analyse du potentiel zêta des Bio AgNPs.

III.3.6. Microscopie électronique à balayage

La synthèse verte des nanoparticules d'argent a été confirmée par des images MEB représentatives de nanoparticules d'argent générées en utilisant du AgNO_3 . La concentration utilisée durant la biosynthèse a favorisé l'apparition d'une population largement homogène de nanoparticules de petite taille. Diverses particules de forme triangulaire, hexagonale et ovoïde dans la plage de taille de 10 à 40 nm sont remarquées (**figure 16**).

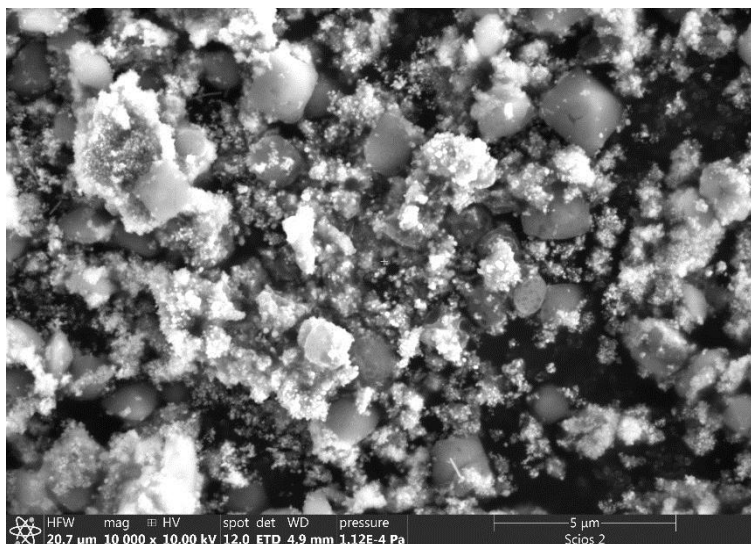


Figure 16. Images par MEB d'AgNPs biosynthétisés.

***CONCLUSION GENERALE ET
PERSPECTIVES***

Conclusion générale et perspectives.

Conclusion générale et perspective

Les travaux présentés dans cette thèse concernent la création d'AgNPs en utilisant un procédé vert. Cette étude vise également à évaluer l'activité biologique des AgNPs générées. Pour cela, nous avons sélectionné une souche d'actinomycètes afin de synthétiser des nanoparticules.

Dans ce travail, des nanoparticules d'argent ont été synthétisées par la méthode de synthèse verte en utilisant l'extrait d'actinomycètes. Les AgNPs synthétisées ont été caractérisées pour déterminer leurs propriétés physicochimiques. L'activité antimicrobienne des AgNPs est aussi évaluée.

Différentes techniques sont utilisées pour caractériser les nanoparticules à savoir UV-VS, FTIR, DRX et MEB. Les résultats montrent que ces particules peuvent être synthétisées dans des conditions optimales conduisant à la formation de nanoparticules d'argent.

L'activité antibactérienne, qui a été menée sur quatre souches bactériennes différentes, a montré que toutes les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*) étaient sensibles aux nanoparticules d'argent. L'activité antifongique de quatre souches fongiques différentes de *Fusarium avenaceum*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium expansum*, et *Aspergillus flavus*. *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium expansum* étaient sensibles aux nanoparticules d'argent, cependant les deux autres souches sont révélées moins sensibles.

Nos résultats montrent clairement que les conditions de synthèse verte par la souche d'actinobactérie ont conduit à la génération de nanoparticules dotées d'activité antimicrobienne avec des caractéristiques physicochimiques recherchés

Comme perspective pour cette étude

- Détermination de l'activité antioxydant des AgNPs
- Etude la toxicité des AgNPs
- Evaluation de l'activité anticancéreuse des AgNPs

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES.

A

Abd-Elnaby, H.M., Abo-Elala, G.M., Abdel-Raouf, U.M. & Hamed, M.M., 2016. Antibacterial and anticancer activity of extracellular synthesized silver nanoparticles from marine *Streptomyces rochei* MHM13. Egypt. J. Aquat. Res. 42 (3), 301–312.

Abdelrahim, K., Mahmoud, S.Y., Ali, A.M., Almaary, K.S., Mustafa, A.E. & Hussein, S.M., 2017. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Rhizopus stolonifer*. Saudi J. Biol. Sci. 24, 208-216.

Abobatta, W.F., 2018. Nanotechnology application in agriculture. Acta Sci. Agric. 2 (6), 99–102.

Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M.I., Kumar, R. & Sastry, M., 2003. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. Colloids Surf. B. Biointerfaces 28 (4), 313–318.

Akhtar, M.S., Panwar, J. & Yun, Y.S., 2013. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. ACS Sustain. Chem. Eng. 1, 591–602.

Alananbeh, K.M., Al-Refaee, W.J. & Al-Qodah, Z., 2017. Antifungal effect of silver nanoparticles on selected fungi isolated from raw and waste water. Indian J. Pharm. Sci. 79,559–567.

Al-Zubaidi, S., Al-Ayafi, A. & Abdelkader, H., 2019. Biosynthesis, characterization and antifungal activity of silver nanoparticles by *Aspergillus niger* isolate. J. Nanotechnol. Res. 1, 23–36.

Arib, C., Spadavecchia, J. & de la Chapelle, M.L., 2021. Enzyme mediated synthesis of hybrid polyedric gold nanoparticles. *Sci. Rep.* 11 (1), 1–8.

Azizi, Z., Pourseyedi, S., Khatam, M. & Mohammadi, H., 2016. *Stachys lavandulifolia* and *Lathyrus sp.* mediated for green synthesis of silver nanoparticles and evaluation its antifungal activity against *Dothiorella sarmentorum*. *J. Clust. Sci.* 27, 1613–1628.

B

Bakhtiari-Sardari, A., Mashreghi, M., Eshghi, H., Behnam-Rasouli, F. & Lashani, E., Shahnava, B., 2020. Comparative evaluation of silver nanoparticles biosynthesis by two coldtolerant *Streptomyces* strains and their biological activities. *Biotechnol. Lett.* 42, 1985–1999.

Barnett, H.L. & Hunter, B.B., 1972. Illustrated genera of Imperfect fungi. 3thEd, Burgess publishing company, Minnesota, pp. 62- 197.

Bhosale, R.R., Kulkarni, A.S., Gilda, S.S., Aloorkar, N.H., Osmani, R.A. & Harkare, B.R., 2014. Innovative Eco-Friendly Approaches for green Synthesis of Silver Nanoparticles. *PCI-Approved-IJPSN* 7 (1), 2328–2337. doi:10.37285/ijpsn.2014.7.1.3.

Birla, S.S., Gaikwad, S.C., Gade, A.K. & Rai, M.K., 2013. Rapid synthesis of silver nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by optimizing physicocultural conditions. *ScientificWorldJournal*. 2013, 796018.

C

Carbone, M., Donia, D.T., Sabbatella, G. & Antiochia, R., 2016. Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. *J. King Saud Univ. Sci.* 28 (4), 273–279.

Chen, N., Zheng, Y., Yin, J., Li, X. & Zheng, C., 2013. Inhibitory effects of silver nanoparticles against adenovirus type 3 in vitro. *J. Virol. Methods* 193, 470–477.

D

Dar, M.A., Ingle, A. & Rai, M., 2013. Enhanced antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by *Cryphonectria* sp. Evaluated singly and in combination with antibiotics. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology and Medicine*, 9(1), 105-110.

Devi, J.S. & Bhimba, B.V., 2014. Antibacterial and antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using *Hypnea muciformis*. *Biosci. Biotech. Res. Asia* 11, 235–238.

E

Ealia, S.A.M. & Saravanakumar, M.P., 2017. A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. vol. 263. IOP Publishing, p. 032019. No. 3.

Elechiguerra, J.L., Burt, J.L., Morones, J.R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H.H. & Yacaman, M.J., 2005. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J. Nanobiotechnol.*3, 1–10.

El-Naggar, N.E.A., Hussein, M.H. & El-Sawah, A.A., 2017. Bio-fabrication of silver nanoparticles by phycocyanin, characterization, in vitro anticancer activity against breast cancer cell line and in vivo cytotoxicity. *Sci. Rep.* 7, 10844.

F

Farheen, S., Oanz, A.M., Khan, N., Umar, M.S., Jamal, F., Altaf, I., Kashif, M., Alshameri, A.W., Somavarapu, S., Wani, I.A., Khan, S., & Owais, M., 2022. Fabrication of Microbicidal Silver Nanoparticles: Green Synthesis and Implications in the Containment of Bacterial Biofilm on Orthodontal Appliances. *Front. Nanotechnol.* 4:780783. doi: 10.3389/fnano.2022.780783.

G

Galdiero, S., Falanga, A., Vitiello, M., Cantisani, M., Marra, V. & Galdiero, M., 2011. Silver nanoparticles as potential antiviral agents. *Molecules* 16, 8894–8918.

Gan, L., Zhang, S., Zhang, Y., He, S. & Tian, Y., 2018. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles by a halotolerant *Bacillus endophyticus* SCU-L. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 48, 582–588.

Ghaseminezhad, S.M., Hamed, S. & Shojaosadati, S.A., 2012. Green synthesis of silver nanoparticles by a novel method : Comparative study of their properties. *Carbohydrate polymers*, 89(2), 467-472.

Gosavi, V.C., Daspute, A.A., Patil, A., Gangurde, A., Wagh, S.G., Sherkhane, A. & Anandrao Deshmukh, V., 2020. Synthesis of green nanobiofertilizer using silver nanoparticles of *Allium cepa* extract short title: green nanofertilizer from *Allium cepa*. *Int. J. Chem. Stud.* 8 (4), 1690–1694.

Gupta, N., Upadhyaya, C.P., Singh, A., Abd-Elsalam, K.A. & Prasad, R., 2018. Applications of silver nanoparticles in plant protection. In: *Nanobiotechnology Applications in Plant Protection*. Springer, Cham, pp. 247–265.

H

Haris, C., 1989. Introduction to modern microbiology. blackwell scientific publication, pp. 179.

Hernandez-Diaz, J.A., Garza-Garcia, J.J., Zamudio-Ojeda, A., Leon-Morales, J.M., Lopez-Velazquez, J.C. & Garcia-Morales, S., 2021. Plant-mediated synthesis of nanoparticles and their antimicrobial activity against phytopathogens. *J. Sci. Food Agric.* 101 (4), 1270-1287.

I

Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S.V. & Zolfaghari, B. 2014. Synthesis of Silver Nanoparticles: Chemical, Physical and Biological Methods. *Res. Pharm. Sci.* 9 (6), 385–406.

Ishida, K., Cipriano, T.F., Rocha, G.M., Weissmueller, G., Gomes, F., Miranda, K. & al., 2014. Silver nanoparticle production by the fungus *Fusarium oxysporum*: nanoparticle characterisation and analysis of antifungal activity against pathogenic yeasts. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 109, 220–228. doi: 10.1590/0074-0276130269.

J

Jeong, S.H., Yeo, S.Y. & Yi, S.C., 2005. The effect of filler particle size on the antibacterial properties of compounded polymer/silver fibers. *Journal of Materials Science*, 40, 5407-5411.

Jo, Y.K., Kim, B.H. & Jung, G., 2009. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Dis.* 93 (10), 1037–1043.

Johari, S., Kalbassi, M., Soltani, M. & Yu, I., 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iran. J. Fish. Sci.* 12, 76–95.

K

Kareem, M.A., Bello, I.T., Shittu, H.A., Awodele, M.K., Adedokun, O. & Sanusi, Y.K., 2020. Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) for optical and photocatalytic applications: a review. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 805, 012020.

Klasen, H.J., 2000. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns*, 26(2), 117-130.

Kora, A.J., Sashidhar, R.B. & Arunachalam, J., 2012. Aqueous extract of *gum olibanum* (*Boswellia serrata*): a reductant and stabilizer for the biosynthesis of antibacterial silver nanoparticles. *Process. Biochem.* 47, 1516–1520. doi: 10.1016/j.procbio.2012.06.004.

Kowsalya, E., Mosachristas, K., Balashanmugam, P. & Rani, J.C., 2019. Biocompatible silver nanoparticles/poly (vinyl alcohol) electrospun nanofibers for potential antimicrobial food packaging applications. *Food Packag. Shelf Life* 21, 100379.

Krishnaraj, C., Jagan, E.G., Ramachandran, R., Abirami, S.M., Mohan, N. & Kalaichelvan, P.T., 2012. Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Bacopa monnieri* (Linn.) Wettst. Plant growth metabolism. *Process Biochem.* 47, 651–658.

Krishnaraj, C., Ramachandran, R., Mohan, K. & Kalaichelvan, P.T., 2012. Optimization for rapid synthesis of silver nanoparticles and its effect on phytopathogenic fungi. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 93, 95–99.

L

Lara, H.H., Ayala-Nun̄ez, N.V., Ixtepan-Turrent, L. & Rodriguez-Padilla, C., 2010. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *J. Nanobiotechnol.* 8, 1–10.

Lee, S.H. & Jun, B.H., 2019. Silver nanoparticles: synthesis and application for nanomedicine. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 865.

Leu, L., Sun, R.W., Chen, R., Hui, C.K., Ho, C.M., Luk, J.M., Lau, G.K. & CM, C., 2008. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antivir. Ther.* 13, 253–262.

Li, G., He, D., Qian, Y., Guan, B., Gao, S., Cui, Y. & Wang, L., 2012. Fungus-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus terreus*. *Int. J. Mol. Sci.* 13 (1), 466–476.

Lim, T.K., 2014. “Hibiscus Rosa-Sinensis,” in *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants* (Dordrecht: Springer), 306–323. doi:10.1007/978-94-017-8748-2_22.

Litvin, V.A. & Minaev, B.F., 2013. Spectroscopy study of silver nanoparticles fabrication using synthetic humic substances and their antimicrobial activity. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 108, 115–122. doi: 10.1016/j.saa.2013.01.049.

M

Majeed, S., bin Abdullah, M.S., Nanda, A., Ansari, M.T., 2016. In vitro study of the antibacterial and anticancer activities of silver nanoparticles synthesized from *Penicillium brevicompactum* (MTCC-1999). *J. Taibah Univ. Sci.* 10 (4), 614–620.

Malarkodi, C., Rajeshkumar, S., Paulkumar, K., Vanaja, M., Jobitha, G.D.G. & Annadurai, G., 2013. Bactericidal activity of bio mediated silver nanoparticles synthesized by *Serratia nematodiphila*. *Drug Invent. Today* 5 (2), 119–125.

Manivasagan, P., Venkatesan, J., Senthikumar, K., Sivakumar, K. & Kim, S.K., 2013. Biosynthesis, antimicrobial and cytotoxic effect of silver nanoparticles using a novel *Nocardiosis sp.* MBRC-1. *Biomed. Res. Int.* 2013:287638. doi: 10.1155/2013/287638.

Manjunatha, S.B., Biradar, D.P. & Aladakatti, Y.R., 2016. Nanotechnology and its applications in agriculture: a review. *J. Farm Sci.* 29 (1), 1–13.

Massarsky, A., Abraham, R., Nguyen, K.C., Rippstein, P., Tayabali, A.F., Trudeau, V.L. & Moon, T.W., 2014. Nanosilver cytotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocytes and hepatocytes. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 159, 10–21.

Medda, S., Hajra, A., Dey, U., Bose, P. & Mondal, N.K., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles from Aloe vera leaf extract and antifungal activity against *Rhizopus sp.* and *Aspergillus sp.* *Appl. Nanosci.* 5, 875–880.

Mishra, S. & Singh, H.B., 2015. Biosynthesized silver nanoparticles as a nanoweapon against phytopathogens: exploring their scope and potential in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99 (3), 1097–1107.

Mohanta, Y.K., Panda, S.K., Bastia, A. K. & Mohanta, T.K., 2017. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Protium serratum* and investigation of their potential impacts on food safety and control. *Front. Microbiol.* 8:626. doi: 10.3389/fmicb.2017.00626.

Mohd Yusof, H., Rahman, A., Mohamad, R. & Zaidan, U.H., 2020. Microbial mediated synthesis of silver nanoparticles by *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and antioxidant activity. *Appl. Sci.* 10 (19), 6973.

Montazer, M., Alimohammadi, F., Shamei, A. & Rahimi, M.K., 2012. Durable antibacterial and cross-linking cotton with colloidal silver nanoparticles and butane tetracarboxylic acid without yellowing. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, 89, 196-202.

Mori, Y., Ono, T., Miyahira, Y. & et al., 2013. Antiviral activity of silver nanoparticle/chitosan composites against H1N1 influenza A virus. *Nanoscale Res. Lett.* 8, 93.

Mousavi, S.A.A. & Pourtalebi, S., 2015. Inhibitory effects of silver nanoparticles on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus Parasiticus*. *Iranian journal of medical sciences*, 40(6), 501.

Mousavi, S.M., Hashemi, S.A., Ghasemi, Y., Atapour, A., Amani, A.M., Savar Dashtaki, A., Babapoor, A. & Arjmand, O., 2018. Green synthesis of silver nanoparticles toward bio and medical applications: review study. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 46 (Suppl. 3), S855–S872.

Muhammad, Z., Inayat, N. & Majeed, A., 2020. Application of nanoparticles in agriculture as fertilizers and pesticides: challenges and opportunities. In: *New Frontiers in Stress Management for Durable Agriculture*. Springer, Singapore, pp. 281–293.

Murugan, K., Senthilkumar, B., Senbagam, D. & Al-Sohaibani, S., 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Acacia leucophloea* extract and their antibacterial activity. *Int.J. Nanomedicine* 9, 2431–2438.

Mussin, J.E., Roldán, M.V., Rojas, F. & et al., 2019. Antifungal activity of silver nanoparticles in combination with ketoconazole against *Malassezia furfur*. *AMB Express* 9, 131. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0857-7>.

N

Narayanan, K.B. & Park, H.H., 2014. Antifungal activity of silver nanoparticles synthesized using turnip leaf extract (*Brassica rapa L.*) against wood-rotting pathogens. *Eur. J. Plant Pathol.* 140, 185–192.

Nayak, B.K., Chitra, N. & Nanda, A., 2015. Comparative antibiogram analysis of AgNPs synthesized from two *Alternaria Spp.* with amoxicillin antibiotics. *J. Chem. Pharm. Res.* 7, 727–731.

Nayak, R.R., Pradhan, N., Behera, D., Pradhan, K.M., Mishra, S., Sukla, L.B. & Mishra, Bk., 2011. Green synthesis of silver nanoparticle by *Penicillium purpurogenum* NPMF: the process and optimization. *J. Nanopart. Res.* 13, 3129-3137.

Noorbakhsh, F., Rezaie, S. & Shahverdi, A.R., 2011 (February). Antifungal effects of silver nanoparticle alone and with combination of antifungal drug on dermatophyte pathogen *Trichophyton rubrum*. In *International conference on bioscience, biochemistry and bioinformatics* Vol. 5, pp. 364-7.

O

Oliveira, M., Ugarte, D., Zanchet, D. & Zarbin, A., 2005. Influence of synthetic parameters on the size, structure, and stability of dodecanethiol-stabilized silver nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* 292, 429–435.

P

Patel, S., 2021. A review on synthesis of silver nanoparticles-a green expertise. Life sci. leafl.132, 16–24.

Phanjom, P. & Ahmed, G., 2017. Effect of different physicochemical conditions on the synthesis of silver nanoparticles using fungal cell filtrate of *Aspergillus oryzae* (MTCC No. 1846) and their antibacterial effects. Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol. 8, 1-13.

Q

Quinteros, M.A., Bonilla, J.O., Albor Es, S.V., Villegas, L.P. & Pa´ez, P.L., 2019. Biogenic nanoparticles: synthesis, stability and biocompatibility mediated by proteins of *Pseudomonas aeruginosa*. Colloids Surf. B Biointerfaces 184, 110517.

Quinteros, M.A., Viviana, C.A., Onnainty, R., Mary, V.S., Theumer, M.G., Granero, G.E., Paraje, M.G. & Paez, P.L., 2018. Biosynthesized silver nanoparticles: decoding their mechanism of action in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Int. J. Biochem. Cell Biol.104, 87–93.

R

Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T.M. & et al., 2008. Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224. J. Mater. Sci. Technol. 24, 192–196.

Raghunandan, D., Ravishankar, B., Sharanbasava, G., Mahesh, D.B., Harsoor, V., Yalagatti, M.S., Bhagawanraju, M. & Venkataraman, A., 2011. Anti-cancer studies of noble metal nanoparticles synthesized using different plant extracts. Cancer Nanotechnol. 2, 57–65.

Rai, M., Yadav, A. & Gade, A., 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol. Adv. 27, 76 83.doi:10.1016/j.biotechadv.2008.09.002.

Rai, M.K., Deshmukh, S.D., Ingle, A.P. & Gade, A.K., 2012. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. J. Appl. Microbiol. 112 (5), 841–852.

Rajeshkumar, S. & Malarkodi, C., 2014. In vitro antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against foodborne pathogens. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2014:581890. doi: 10.1155/2014/581890.

Ravindran, R.E., Subha, V. & Ilangovan, R., 2020. Silver nanoparticles blended PEG/PVA nanocomposites synthesis and characterization for food packaging. *Arab. J. Chem.* 13, 6056–6060.

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 Adv.* 9 (5), 2673–2702.

Roy, S. & Das, T.K., 2015. Plant mediated green synthesis of silver NPs—a review. *Int. J. Plant Biol. Res.* 3, 1044–1055.

Roychoudhury, P., Gopal, P.K., Paul, S. & Pal, R., 2016. Cyanobacteria assisted biosynthesis of silver nanoparticles a potential antileukemic agent. *J. Appl. Phycol.* 28, 3387–3394.

S

Salama, H.M., 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) and corn (*Zea mays L.*). *Int. Res. J. Biotechnol.* 3, 190–197.

Samrot, A.V., Cypriana, P.J., Saigeetha, S., Selvarani, A.J., Purayil, S.K. & Ponnaiah, P., 2022. Nanoparticules d'argent synthétisées par voie microbienne : mécanisme et avantages - Une revue. *Synthèse verte des nanomatériaux d'argent*, 439-478.

Saranyaadevi, K., Subha, V., Ravindran, R.S.E. & Renganathan, S., 2014. Green synthesis and characterization of silver nanoparticle using leaf extract of *Capparis zeylanica*. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 7, 44–48.

Saravanan, M., Vemu, A.K. & Barik, S.K., 2011. Rapid biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus megaterium* (NCIM 2326) and their antibacterial activity on multi drug resistant clinical pathogens. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 88, 325–331.

Schultz, A.G., Ong, K.J., Maccormack, T., Ma, G., Veinot, J.G. & Goss, G.G., 2012. Silver nanoparticles inhibit sodium uptake in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Sci. Technol. 46, 10295–10301.

Seku, K., Kumar, K.K., Narasimha, G. & Reddy, G.B., 2022. Bio-mediated synthesis of silver nanoparticles via microwave-assisted technique and their biological applications. In Green Synthesis of Silver Nanomaterials (pp. 149-188). Elsevier.

Servin, A.D. & White, J.C., 2016. Nanotechnology in agriculture: next steps for understanding engineered nanoparticle exposure and risk. NanoImpact 1, 9–12.

Seyedeh, M.G., Sepideh, H. & Shojaosadati, S.A., 2012. Green synthesis of silver nanoparticles by a novel method: comparative study of their properties. Carbohydr. Polym. 89, 467–472. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.030.

Shahzad, A., Saeed, H., Iqtedar, M., Hussain, S.Z., Kaleem, A. & Abdullah, R., 2019. Size-controlled production of silver nanoparticles by *Aspergillus fumigatus* *BTCB10*: likely antibacterial and cytotoxic effects. J. Nanomater. 2019, 5168698.

Shanmugaiah, V., Harikrishnan, H., Al-Harbi, N.S., Shine, K., Khaled, J.M., Balasubramanian, N. & Kumar, R.S., 2015. Facile synthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces* sp. VSMGT1014 and their antimicrobial efficiency. Dig. J. Nanomater. Biostruct. 10 (1), 179–187.

Sharma, G., Kumar, A., Sharma, S., Naushad, M., Prakash Dwivedi, R., Alothman, Z. & Mola, G., 2019. Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: a review. J. King Saud Univ. Sci. 31 (2), 257–269.

Sharma, M., Tyagi, R., Srivastava, M.M. & Srivastava, S., 2022. Bimetallic silver nanoparticles: Green synthesis, characterization and bioefficacy. In Green Synthesis of Silver Nanomaterials (pp. 99-123). Elsevier.

Singh, A., Gautam, P.K., Verma, A., Singh, V., Shivapriya, P.M., Shivalkar, S. & al., 2020. Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: a review. Biotechnol. Rep. 25:e00427. doi: 10.1016/j.btre.2020.e00427.

Singh, D., Rathod, V., Ninganagouda, S., Hiremath, J., Singh, A.K. & Mathew, J., 2014. Optimization and characterization of silver nanoparticle by endophytic fungi *Penicillium sp.* isolated from *Curcuma longa* (turmeric) and application studies against MDR *E. coli* and *S. aureus*. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2014, 408021.

Singh, H., Du, J., Singh, P. & Yi, T.H., 2018. Ecofriendly synthesis of silver and gold nanoparticles by *Euphrasia officinalis* leaf extract and its biomedical applications. *Artif Cells Nanomed. Biotechnol.* 46, 1163–1170. doi: 10.1080/21691401.2017.1362417.

Sintubin, L., De Windt, W., Dick, J., Mast, J., Van Der Ha, D., Verstraete, W. & Boon, N. 2009. Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 741-749.

Srivastava, P., Braganca, J., Ramanan, S.R. & Kowshik, M., 2013. Synthesis of silver nanoparticles using haloarchaeal isolate *Halococcus salifodinae BK3*. *Extremophiles* 17,821–831.

Srivastava, S.K. & Constanti, M., 2012. Room temperature biogenic synthesis of multiple nanoparticles (Ag, Pd, Fe, Rh, Ni, Ru, Pt, Co, and Li) by *Pseudomonas aeruginosa SMI.J*. *Nanopart. Res.* 14, 1–10.

Ssekatawa, K., Byarugaba, D.K., Kato, C.D., Wampande, E.M., Ejobi, F., Nakavuma, J.L., Maaza, M., Sackey, J., Nxumalo, E., & Kirabira, J.B., 2021. Green Strategy–Based Synthesis of Silver Nanoparticles for Antibacterial Applications. *Front. Nanotechnol.* 3:697303. doi: 10.3389/fnano.2021.697303.

Sumitha, S., Vasanthi, S., Shalini, S., Chinni, S.V., Gopinath, S.C., Anbu, P., Bahari, M.B., Harish, R., Kathiresan, S. & Ravichandran, V., 2018. Phyto-mediated photo catalysed green synthesis of silver nanoparticles using *Durio zibethinus* seed extract: antimicrobial and cytotoxic activity and photocatalytic applications. *Molecules* 23 (12), 3311.

T

Thirunavoukkarasu, M., Balaji, U., Behera, S., Panda, P.K. & Mishra, B.K., 2013. Biosynthesis of silver nanoparticle from leaf extract of *Desmodium gangeticum (L.) DC.* and its

biomedical potential. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 116, 424–427. doi: 10.1016/j.saa.2013.07.033.

Tiwari, J.N., Tiwari, R.N. & Kim, K.S., 2012. Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. *Prog. Mater. Sci.* 574, 724–803.

Tran, Q.H. & Le, A.T., 2013. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* 4, 033001.

Tulli, F., Cisneros, A.B., Gallucci, M.N., Turbay, M.B.E., Rey, V. & Borsarelli, C.D., 2022. Synthèse, propriétés et utilisations de nanoparticules d'argent obtenues à partir d'extraits de feuilles. Dans *Green Synthesis of Silver Nanomaterials* (pp. 317-357). Elsevier .

V

Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B. & Rokhum, S.L., 2021. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. *RSC Adv.* 11 (5), 2804–2837.

Veerasamy, R., Xin, T.Z., Gunasagaran, S., Xiang, T.F.W., Yang, E.F.C., Jeyakumar, N. & al., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using *mangosteen leaf* extract and evaluation of their antimicrobial activities. *J. Saudi Chem. Soc.* 15, 113–120. doi: 10.1016/j.jscs.2010.06.004.

Veerasamy, R., Xin, T.Z., Gunasagaran, S., Xiang, T.F.W., Yang, E.F.C., Jeyakumar, N. & al., 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *J. Saudi Chem. Soc.* 15, 113–120. doi: 10.1016/j.jscs.2010.06.004.

Verma, A. & Mehata, S.M., 2016. Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 9, 109–115. doi: 10.1007/s12088-019-00801-5.

Vigneshwaran, N., Ashtaputre, N.M., Varadarajan, P.V., Nachane, R.P., Paralikar, K.M. & Balasubramanya, R.H., 2007. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. *Mater. Lett.* 61 (6), 1413–1418.

W

Webb, N.A. & Wood, C.M., 1998. Physiological analysis of the stress response associated with acute silver nitrate exposure in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Toxicol. Chem. 17, 579–588.

Wiley, B., Sun, Y., Mayers, B. & Xi, Y., 2005. Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: the case of silver. Chem. Eur. J. 11, 454–463.

Williams, D., 2008. The relationship between biomaterials and nanotechnology. Biomaterials 29 (12), 1737.

Woldeamanuel, K.M., Kurra, F.A. & Roba, Y.T., 2021. A review on nanotechnology and its application in modern veterinary science. Int. J. Nanomater. Nanotechnol. Nanomed. 7 (1), 026–031.

Wypij, M., Czarnecka, J., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M. & Golinska, P., 2018. Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Streptomyces xinghaiensis* OF1 strain. World J. Microbiol. Biotechnol. 34:23. doi: 10.1007/s11274-017-2406-3.

ANNEXE.

Composition des milieux de culture**• Milieu PDA (Potatoes Dextrose agar)**

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat)	200 g
Dextrose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

• Milieu MH (Mueller-Hinton)

Infusion de viande de boeuf	300 ml
Peptone de caséine	17.5 g
Amidon de maïs	1.5 g
Agar	10 g

• Milieu SCA (Starch Casein Agar)

Amidon	10 g
KNO ₃	2 g
K ₂ HPO	42 g
NaCl	2g
Caséine	0, 3 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 g
CaCo ₃	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Agar - agar	18.0 g
Eau distillée	1 000 ml

- **Bouillon nutritif**

Peptones	10 g
Extrait de bœuf	1 g
Extrait de levure	2 g
Chlorure de sodium	5 g