

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaia**



**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**

**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Science biologiques**

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

**Par : ABBAS MARIA & TEBBAKH BOUCHRA**

Thème

**Recherche des *Actinomycetota* contribuant à la biosynthèse des nanoparticules d'argent pour des applications antimicrobiennes**

Soutenu publiquement, le 14 / 06 / 2026 devant le jury composé de :

Mme. MAIDI Leila	MAA	Univ. Ghardaïa	Président
M. BELGHIT Saïd	MCA	Univ. Ghardaïa	Directeur de mémoire
M. MOULAY OMAR Ali	Ing	Univ. Ghardaïa	Co-Directeur de mémoire
M. BOURAS Nouredine	Pr	Univ. Ghardaïa	Examineur

**Année universitaire : 2025-2026**

## ***Remerciements***

Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre Directeur de mémoire, le Docteur BELGHIT Saïd, pour son accompagnement, ses conseils précieux et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nos remerciements vont également à notre Co-Directeur de mémoire, Monsieur MOULAY OMAR Ali, pour sa générosité et son aide précieuse dans l'aboutissement de ce travail.

Nous exprimons également notre gratitude aux membres du jury Mme MAIDI Leila, Maître Assistante à l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté de présider le jury d'évaluation, ainsi que Monsieur BOURAS Nouredine, Professeur à l'université de Ghardaïa, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons aussi à exprimer notre profonde reconnaissance aux responsables et aux techniciens des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de Ghardaïa, pour leur soutien et pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires.

Enfin, nous remercions chaleureusement toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué, conseillé et soutenu la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

« Et leur dernière invocation sera “Louange à Allah, Seigneur de l’Univers” »

Alhmadou li Allah avec amour et gratitude ... Louange à Allah qui a facilité nos débuts et nous a aidés à atteindre nos fins et nos objectifs. Merci à Allah qui nous a accordé la réussite et la force d'aboutir ; c'est grâce à Lui que nous sommes ici aujourd'hui, contemplant un rêve longtemps attendu qui est enfin devenu une réalité.

À ma mère et à mon père, source de ma fierté et de ma sécurité, mon premier et éternel soutien ; à ceux qui ont toujours été pour moi un appui et une prière ininterrompue, je vous dédie cet accomplissement, qui n'aurait jamais vu le jour sans vos sacrifices ; ma réussite aujourd'hui n'est que le fruit de vos efforts.

À mes respectueux professeurs, Ceux qui ont semé en moi la passion de la recherche et de la découverte, je vous exprime toute ma considération et ma profonde gratitude. Vos efforts pour nous enseigner et votre bienveillance à nous conseiller resteront inoubliables. C'est pour moi une immense fierté d'avoir appris auprès de vous.

À mes amies, mes compagnes de route, partenaires de mes efforts et de mes succès : j'ai vécu avec vous les plus beaux moments de ma vie. Ensemble, nous avons rêvé, veillé, relevé les défis et surmonté les épreuves. Vous resterez à jamais un souvenir inoubliable, une amitié irremplaçable et des cœurs gravés au plus profond de moi pour l'éternité.

À mes petits frères et sœurs, le sucre et le sel de ma vie, compagnons de mon petit monde,  
Merci pour votre présence et votre soutien.

À tous ceux qui se sont tenus à mes côtés, qui ont laissé une empreinte de bonté dans mon cœur ou qui ont soutenu chacun de mes pas : à vous tous, j'adresse mes plus sincères expressions de gratitude et mes prières.

... *Bouchra*

## *Dédicace*

Avant tout, je rends grâce à Dieu, par Sa bonté et Sa bienveillance, grâce auxquelles j'ai pu mener ce travail à son terme.

À mon cher père, symbole de force et de persévérance, merci pour ton soutien constant et tes sacrifices. Ce travail t'est dédié avec respect et reconnaissance.

À ma chère mère, source de tendresse, de patience et de réconfort, à toi qui as toujours cru en moi et m'as soutenue sans relâche, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma gratitude.

À mes frères Mounir & Omar Idris, soutien précieux et fierté, je te dédie ce travail en espérant te voir toujours réussir.

À ma sœur Amal, compagne de route et soutien de cœur, ce travail t'est dédié avec affection et gratitude, merci pour ta présence à mes côtés à chaque étape de ma vie.

À ma sœur de cœur Manal, je te dédie ce travail avec toute mon affection et ma gratitude pour ton soutien et ta gentillesse.

À mon amie Bouchra, compagne de route et précieux soutien tout au long de mon parcours universitaire, merci pour ton appui constant, tes mots d'encouragement et ta présence à mes côtés à chaque étape. Je te dédie ce travail avec toute mon affection et ma gratitude, en reconnaissance de ton amitié sincère qui a été une véritable source de force pour moi.

À mes chers enseignants à l'université et tout au long de mon parcours académique Qui ont été des sources de savoir et de guidance, je leur exprime ma profonde gratitude et je leur dédie ce travail en reconnaissance de leur contribution à ma formation universitaire.

Enfin, je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à ma réussite.

... *Maria*

## Résumé

Ce travail a pour objectif principal la recherche d'*Actinomycetota* impliquées dans la biosynthèse de nanoparticules d'argent (AgNPs) destinées à des applications antimicrobiennes. Pour cela, dix isolats d'*Actinomycetota* (L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9 et L10) ont été cultivés dans le milieu ISP2. La biosynthèse des AgNPs a été réalisée en utilisant le nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub>) comme précurseur métallique et l'extrait de biomasse des *Actinomycetota* comme agent réducteur et stabilisant. Les nanoparticules obtenues ont ensuite été purifiées et séchées. Afin d'optimiser leur synthèse, plusieurs paramètres ont été étudiés, notamment la concentration de AgNO<sub>3</sub>, le pH et la température. La bioréduction des ions Ag<sup>+</sup> en Ag<sup>0</sup> a été mise en évidence par le changement de coloration de la solution vers le brun foncé, observé pour les souches L1, L3, L4, L6, L7 et L10 lors de la synthèse extracellulaire, ainsi que pour les souches L1 et L4 lors de la synthèse intracellulaire. Cette synthèse a également été confirmée par l'analyse spectrophotométrique UV-Visible, qui a révélé des pics d'absorption caractéristiques des nanoparticules d'argent à 340, 355, 365, 390, 400, 425, 440 et 455 nm. Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des AgNPs synthétisées a été évaluée contre différents micro-organismes pathogènes par la méthode de diffusion en puits sur gélose. Pour cette étude, trois souches présentant les profils d'absorption UV-Visible les plus caractéristiques, associés à une production élevée des AgNPs (L3, L6 et L10), ont été sélectionnées. Les résultats ont montré une forte activité antimicrobienne contre *Candida albicans*, suivie d'une activité modérée contre *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus flavus*, ainsi que d'une faible activité contre *Pseudomonas aeruginosa*. L'analyse comparative des différentes souches a révélé une variabilité importante de leur efficacité antimicrobienne. La souche L3 s'est distinguée par le spectre d'action le plus large, inhibant la croissance de l'ensemble des micro-organismes testés. Elle a enregistré les plus grandes zones d'inhibition contre *Candida albicans* (20,67 mm), suivie de *Aspergillus flavus* (13,33 mm), *Staphylococcus aureus* (12 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (11,33 mm). La souche L10 a présenté une activité plus sélective, limitée contre *Candida albicans* (19,83 mm) et contre la bactérie Gram positive *Staphylococcus aureus* (9,33 mm), sans aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa* ni sur *Aspergillus flavus*. Quant à la souche L6, elle a présenté l'activité la plus faible, n'agissant que sur *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 17,33 mm, tout en restant inactive vis-à-vis les autres micro-organismes testés.

**Mots clés** : Nanoparticules d'argent (AgNPs), *Actinomycetota*, Biosynthèse, Spectrophotométrie UV-Visible, Activité antimicrobienne.

## Abstract

The main objective of this work is to investigate *Actinomycetota* involved in the biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) intended for antimicrobial applications. For this purpose, ten *Actinomycetota* isolates (L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, and L10) were cultured in ISP2 medium. The biosynthesis of AgNPs was carried out using silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>) as a metallic precursor and the *Actinomycetota* biomass extract as a reducing and stabilizing agent. The obtained nanoparticles were subsequently purified and dried. To optimize their synthesis, several parameters were studied, including AgNO<sub>3</sub> concentration, pH, and temperature. The bioreduction of Ag<sup>+</sup> ions to Ag<sup>0</sup> was evidenced by the color change of the solution to dark brown, observed for strains L1, L3, L4, L6, L7, and L10 during extracellular synthesis, as well as for strains L1 and L4 during intracellular synthesis. This synthesis was also confirmed by UV-Visible spectrophotometric analysis, which revealed characteristic absorption peaks of silver nanoparticles at 340, 355, 365, 390, 400, 425, 440, and 455 nm. Furthermore, the antimicrobial activity of the synthesized AgNPs was evaluated against various pathogenic microorganisms using the agar well diffusion method. For this study, three strains presenting the most characteristic UV-Visible absorption profiles associated with high AgNP production (L3, L6, and L10) were selected. The results showed strong antimicrobial activity against *Candida albicans*, followed by moderate activity against *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus flavus*, as well as weak activity against *Pseudomonas aeruginosa*. Comparative analysis of the different strains revealed significant variability in their antimicrobial efficacy. Strain L3 stood out with the broadest spectrum of action, inhibiting the growth of all tested microorganisms. It recorded the largest zones of inhibition against *Candida albicans* (20.67 mm), followed by *Aspergillus flavus* (13.33 mm), *Staphylococcus aureus* (12 mm), and *Pseudomonas aeruginosa* (11.33 mm). Strain L10 presented a more selective activity, limited against *Candida albicans* (19.83 mm) and against the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* (9.33 mm), without any effect on *Pseudomonas aeruginosa* or *Aspergillus flavus*. As for strain L6, it presented the lowest activity, acting only on *Candida albicans* with an inhibition zone of 17.33 mm, while remaining inactive against the other tested microorganisms.

**Keywords** : Silver nanoparticles (AgNPs), Actinomycetota, Biosynthesis, UV-Visible spectrophotometry, Antimicrobial activity.

## ملخص

يهدف هذا العمل بشكل رئيسي إلى البحث عن *Actinomycetota* المشاركة في التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) الموجهة للتطبيقات المضادة للميكروبات. ومن أجل ذلك، تم استزراع عشر عزلات من الأكتينوميديات (L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10) في وسط ISP2. حيث أُجري التخليق الحيوي للجسيمات باستخدام نترات الفضة (AgNO<sub>3</sub>) كعامل أولي معدني ومستخلص الكتلة الحيوية للأكتينوميديات كعامل مختزل ومثبت. بعد ذلك، تم تنقية وتجفيف الجسيمات النانوية الناتجة. ومن أجل تحسين عملية تخليقها، تمت دراسة عدة عوامل، المتمثلة في تركيز نترات الفضة، الرقم الهيدروجيني (pH) ودرجة الحرارة. وقد تم إثبات الاختزال الحيوي لأيونات الفضة <sup>+</sup>Ag إلى Ag<sup>0</sup> من خلال تغير لون المحلول إلى البني الداكن، والذي لوحظ في السلالات L1, L3, L4, L6, L7 و L10 أثناء التخليق خارج الخلوي، وكذلك في السلالتين L1 و L4 أثناء التخليق داخل الخلوي. كما تم تأكيد هذا التصنيع بواسطة تحليل القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية، والذي كشف عن قمم امتصاص مميزة لجسيمات الفضة النانوية عند 340، 355، 365، 390، 400، 425، 440 و 455 نانومتر. علاوة على ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لجسيمات الفضة النانوية المخلقة ضد كائنات دقيقة مرضية مختلفة بطريقة الانتشار في الأبار على الأجار. ولهذه الدراسة، تم اختيار ثلاث سلالات أظهرت أطراف الامتصاص الأكثر تميزاً والمصحوبة بإنتاج عالٍ لجسيمات الفضة النانوية (L3, L6, L10). و قد اظهرت النتائج نشاطاً قوياً مضاداً للميكروبات ضد *Candida albicans*، يليه نشاط معتدل ضد *Staphylococcus aureus* و *Aspergillus flavus*، بالإضافة إلى نشاط ضعيف ضد *Pseudomonas aeruginosa*. وكشف التحليل المقارن للسلالات المختلفة عن تباين كبير في فعاليتها المضادة للميكروبات، حيث تميزت السلالة L3 بأوسع طيف تأثير، حيث تثبتت نمو جميع الكائنات الدقيقة المختبرة، وسجلت أكبر مناطق تثبيط ضد *Candida albicans* بمقدار 20.67 مم، تليها *Aspergillus flavus* بمقدار 13.33 مم، ثم *Staphylococcus aureus* بمقدار 12 مم، و *Pseudomonas aeruginosa* بمقدار 11.33 مم. وأظهرت السلالة L10 نشاطاً أكثر انتقائية، محدوداً ضد *Candida albicans* بمقدار 19.83 مم وضد البكتيريا موجبة الغرام *Staphylococcus aureus* بمقدار 9.33 مم، دون أي تأثير على *Pseudomonas aeruginosa* أو *Aspergillus flavus*. أما بالنسبة للسلالة L6، فقد أظهرت أقل نشاط، حيث لم تؤثر إلا على *Candida albicans* بمنطقة تثبيط بلغت 17.33 مم، في حين ظلت غير نشطة تجاه الكائنات الدقيقة الأخرى المختبرة.

**الكلمات المفتاحية:** جسيمات الفضة النانوية AgNPs، الأكتينوميديات (*Actinomycetota*)، التخليق الحيوي، القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية، النشاط المضاد للميكروبات.

## Liste des figures

Figure 1. Les souches d' <i>Actinomycetota</i> utilisées pour la biosynthèse des AgNPs.....	11
Figure 2. Pré-culture des souches d' <i>Actinomycetota</i> dans le bouillon ISP2 .....	11
Figure 3. Séparation du surnageant et du culot par centrifugation de la culture.....	12
Figure 4. Pellets de nanoparticules d'argent obtenus après centrifugation et purification. ....	13
Figure 5. État physique final des nanoparticules d'argent synthétisées.....	13
Figure 6. Évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits. ....	14
Figure 7. Mise en évidence du changement de couleur lors de la synthèse extracellulaire et intracellulaire des nanoparticules d'argent.....	16
Figure 8. Spectre UV-Visible des AgNPs obtenues par synthèse extracellulaire.....	19
Figure 9. Spectre UV-Visible des AgNPs obtenues par synthèse intracellulaire.....	18
Figure 10. Évaluation de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent biosynthétisées vis-à-vis de différentes souches microbiennes testées. ....	20
Figure 11. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L3 à différentes concentrations de nitrate d'argent (1 - 5 mM). ....	21
Figure 12. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L6 à différentes concentrations de nitrate d'argent (1 - 5 mM). ....	22
Figure 13. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L10 à différentes concentrations de nitrate d'argent (1 - 5 mM). ....	22
Figure 14. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L3 à différentes valeurs de pH (5 - 9). ....	23
Figure 15. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L6 à différentes valeurs de pH (5 - 9). ....	24
Figure 16. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L10 à différentes valeurs de pH (5 - 9) .....	24
Figure 17. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L3 à différentes valeurs de Température (20 - 60 °C). ....	25
Figure 18. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L6 à différentes valeurs de Température (20 - 60 °C). ....	26
Figure 19. Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L10 à différentes valeurs de Température (20 - 60 °C). ....	26

## Liste des Tableaux

Tableau 1. Liste et origine des souches d' <i>Actinomycetota</i> étudiées. ....	10
Tableau 2. Screening des souches bactériennes pour la biosynthèse extracellulaire et intracellulaire des nanoparticules d'argent (AgNPs). ....	17
Tableau 3. Sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis des nanoparticules d'argent biosynthétisées par les trois isolats L3, L6 et L10, incluant le diamètre du puits (8 mm). ....	19

## Liste des symboles et abréviations

Ag : Argent

AgNPs : Nanoparticules d'argent

AgNO<sub>3</sub> : Nitrate d'argent

CFU/ml : Unités Formant Colonie par millilitre

ISP2 : Milieu de culture International Streptomyces Project 2

NP : Nanoparticules

pH : Potentiel hydrogène

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

rpm : Rotations par minute

SPR : Résonance plasmonique de surface

UV : Ultraviolet

UV-Vis : Spectroscopie ultraviolet-visible

× g : Force centrifuge relative

°C : Degré Celsius

g/L : Gramme par litre

μg : Microgramme

μl : Microlitre

mg : Milligramme

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mM : Millimolaire

nm : Nanomètre

No. 1 : Numéro 1

## Table de matières

<i>Remerciements</i> .....	2
<i>Dédicace</i> .....	3
<i>Dédicace</i> .....	4
Résumé .....	5
Abstract .....	6
ملخص.....	7
Liste des figures .....	8
Liste des tableaux .....	9
Liste des symboles et abréviations .....	10
INTRODUCTION .....	12
MATERIEL ET METHODES .....	10
1. Lieu et durée de l'étude .....	10
2. Matériel utilisé.....	10
3. Méthodes .....	11
3.1 Ensemencement (réactivation des souches) .....	11
3.2 Biosynthèse des AgNPs.....	11
3.2.2 Synthèse intracellulaire de nanoparticules d'argent.....	12
3.2.3 Synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent .....	12
3.3 Caractérisation d'AgNPs biogéniques.....	13
3.4 Détermination de l'activité antimicrobienne.....	14
3.5 Optimisation des AgNPs biosynthétisées .....	15
3.5.1 Effet de la concentration.....	15
3.5.2 Effet du pH .....	15
3.5.3 Effet de la température .....	15
3.5.4 Conditions Fixes (Paramètres standards) .....	15
RESULTATS.....	16
1. Biosynthèse des AgNPs (Observation visuelle) .....	16
2. Caractérisation d'AgNPs biogéniques (Analyse spectrale UV-Visible) .....	17
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	19
4. Optimisation des AgNPs biosynthétisées .....	21
4.1 Effet de la concentration.....	21
4.2 Effet de pH.....	23
4.3 Effet de température .....	25
DISCUSSION .....	28
CONCLUSION .....	34
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	36

# **INTRODUCTION**

## Introduction

L'essor récent des agents infectieux résistants aux traitements médicamenteux a suscité un vif intérêt chez les chercheurs pour l'élaboration d'une thérapie efficace. La résistance antimicrobienne (RAM) représente aujourd'hui l'un des plus grands défis de santé publique qui menacent la réussite de la prévention et du traitement d'une variété croissante d'infections bactériennes, parasitaires, virales et fongiques. Les bactéries pathogènes nosocomiales, en particulier, sont devenues un obstacle majeur suite à l'émergence de nouveaux mécanismes de résistance liés à l'abus d'antibiotiques (AboElmaaty *et al.*, 2023). Face à cette urgence, l'alliance des nanosciences et de la microbiologie apparaît comme une voie prometteuse pour la découverte de nouveaux agents thérapeutiques (Sanjenbam *et al.*, 2014).

La nanotechnologie se réfère de manière générale à un domaine de la science appliquée et de la technologie dont le thème unificateur est le contrôle de la matière à l'échelle atomique et moléculaire (Nanda *et al.*, 2009), est désormais considérée comme l'une des technologies les plus prometteuses, avec des applications dans divers domaines scientifiques (Fadhil *et al.*, 2025). Elle constitue un domaine qui concerne l'ingénierie, la production et l'application de matériaux à une échelle comprise entre 1 et 100 nm. Au cours des dernières décennies, la nanotechnologie est devenue l'un des domaines les plus étudiés en raison de son vaste potentiel et de ses nombreuses applications dans divers secteurs industriels. Le nombre de publications de recherche au cours des 20 dernières années, basé sur une recherche dans le web avec les mots-clés « biosynthèse » et « nanoparticules métalliques », a augmenté régulièrement au cours de cette période. Cet intérêt de recherche pour les méthodes biologiques de synthèse des nanoparticules métalliques (NPs) s'est considérablement accru ces dernières années (Mařátková *et al.*, 2022).

L'idée des nanoparticules et de la délivrance ciblée de médicaments a été influencée par une visite à l'opéra « Der Freischütz » (Le Tireur d'Élite) de Karl Maria von Weber, effectuée par l'un des grands noms de la science – Paul Ehrlich – (Greiling, 1954). Dans cette œuvre, les prétendues « Freikugeln », créées par l'invocation de l'esprit du diable, occupent une place centrale. Ces Freikugeln touchent toujours leur cible, même si le tireur ne fait pas une visée précise ou si la cible est en dehors de sa portée. Après avoir visionné cette opéra, Paul Ehrlich, qui a consacré de nombreuses années à l'étude de la coloration des tissus et des bactéries, était convaincu que cette idée de délivrance ciblée pourrait considérablement perfectionner le

traitement médicamenteux. Il a désigné le système de distribution qui serait employé dans cette forme de thérapie comme « Zauberkugeln » – ce qui se traduit par « Magic Bullets » en anglais. En tant que médecin passionné par la bactériologie et l'immunologie, il pensait à des anticorps. Cependant, c'est avec cette pensée que le concept de nanoparticules et de ciblage thérapeutique a vu le jour (Kreuter, 2007).

Dans le domaine médical, le potentiel des NPs a été étudié dans plusieurs applications, principalement en tant que vecteurs de médicaments ou parties de systèmes de diagnostic, en particulier dans le traitement du cancer. Cependant, leurs propriétés antimicrobiennes attirent également l'attention (Fahimmunisha *et al.*, 2020; Salem & Fouda, 2021). Elles sont maintenant considérées comme des agents antimicrobiens viables et semblent avoir un potentiel immense pour résoudre le problème de la résistance microbienne aux médicaments multiples et de la formation de biofilms microbiens. Il a été constaté que les nanoparticules biogéniques sont actives contre une large gamme de bactéries Gram-négatives et Gram-positives telles que *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, ainsi que contre des champignons incluant *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Malassezia furfur* et *Trichophyton rubrum* (Mařátková *et al.*, 2022).

Les NPs peuvent être constituées de divers éléments métalliques (y compris les oxydes et sels métalliques), de composants non métalliques (comme les nanotubes de carbone, graphènes et fullerènes), de nanomatériaux organiques (par exemple, les NPs lipidiques) ou encore d'hybrides et composites (tels que polymères, céramiques, ciments, etc.) (Kharissova *et al.*, 2019). Et ils peuvent posséder différentes topographies et formes comme des nanotubes, des nanorods, des nanoringes, des nanofils, etc. Les nanoparticules ont une taille équivalente à celle des protéines et des acides nucléiques présents dans les biosystèmes et elles ont un impact sur ceux-ci. Une grande variété de nanostructures modifiées sont produites en association avec des nanoparticules et des biomolécules (Arsalan & Younus, 2018).

Les nanoparticules peuvent être générées naturellement dans l'environnement, grâce à des processus abiotiques et biotiques tels que la précipitation, l'érosion, la combustion ou les éruptions volcaniques. Bien que l'exploration des méthodes naturelles de synthèse des NPs soit en cours, plusieurs techniques ont été développées pour produire des NP synthétiques, notamment des stratégies physiques, chimiques et biologiques. Ces méthodes peuvent être classées soit comme « top-down » soit comme « Bottom-up » (Das *et al.*, 2017).

L'approche descendante (top-down) englobe généralement la production de nanoparticules par réduction de la taille du matériau massif et constitue la base de la plupart des méthodes physiques, telles que l'ablation laser pulsée, la pyrolyse par pulvérisation, l'évaporation-condensation, le broyage à billes, l'arc plasma, la phase vapeur et gazeuse ainsi que la lithographie (Shnoudeh *et al.*, 2019). En revanche, les méthodes permettant de produire des nanoparticules à partir de blocs de construction élémentaires, tels que les atomes ou les molécules, relèvent de l'approche ascendante « Bottom-up ». Elles comprennent diverses méthodes de synthèse chimique, telles que la microémulsion, la coprécipitation, la réduction chimique, l'électrochimie, l'irradiation par micro-ondes, la sonochimie ainsi que les procédés solvothermaux et de décomposition thermique. Elles incluent également les méthodes de synthèse biologique dites « vertes », qui reposent sur la réduction ou l'élimination des substances dangereuses grâce à l'utilisation de catalyseurs biologiques, tels que les extraits de plantes ou les systèmes microbiens. Les méthodes de synthèse biologique utilisant des organismes entiers ou des molécules biologiques présentent des avantages significatifs par rapport aux méthodes physiques et chimiques, car elles représentent des approches facile, efficace, écologique, non toxiques et plus durables pour la synthèse des NPs (Mařátková *et al.*, 2022). Cependant, la synthèse microbienne présente également certaines limites, notamment la nécessité d'un équipement spécial pour la culture des micro-organismes ainsi que pour leur contrôle et leur entretien, la variabilité des produits obtenus en fonction des conditions de culture et les problèmes de biosécurité qui pourraient survenir avec certaines souches microbiennes (Kharissova *et al.*, 2019).

Dans la production de nanoparticules, les méthodes vertes utilisent des substances d'origine biologique comme agents réducteurs (réduction des ions métalliques), agents de coiffage (capping agents) et stabilisants (contrôle de la forme, de la taille et prévention de l'agglomération), ainsi que comme ligands (revêtement de la surface des NPs, passivation des métaux) (Kharissova *et al.*, 2019). Les agents réducteurs biologiques peuvent inclure de petites molécules comme H<sub>2</sub>, mais ils sont plus couramment de grosses biomolécules solubles dans l'eau telles que les polysaccharides réducteurs, diverses enzymes, amides, cétones, aldéhydes, acides carboxyliques, polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes et terpénoïdes (Jeevanandam *et al.*, 2016). Les polysaccharides, protéines et peptides sont considérés comme des agents de revêtement et des stabilisateurs appropriés, tandis que les ligands typiques incluent des amines, thiols et phosphines (Mařátková *et al.*, 2022).

Alors la synthèse biologique de NPs est réalisée en combinant un composé précurseur métallique (sels, acides) avec un agent biologique sous des conditions spécifiques. Cette méthode permet d'obtenir des nanoparticules de différents métaux tels que Ag, Au, Zn, Ni, Pd, Pt, Se et Cu, en utilisant des composés métalliques tels que  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{HAuCl}_4$ ,  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$ ,  $(\text{NiNO}_3)_2$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{PdCl}_2$ ,  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ ,  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  et  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  (Dikshit *et al.*, 2021). La production bactérienne de NPs est facilitée par divers processus et composés extracellulaires et intracellulaires, que ce soit pendant la phase de croissance active ou via les sous-produits du métabolisme secondaire (Salem & Fouda, 2021). En combinant soit la biomasse cellulaire, soit l'extrait/surnageant sans cellules obtenu après la préculture, avec le composé parent approprié dans des conditions de réaction adaptées (temps, pH, et température).

Dans la synthèse extracellulaire, la première étape consiste généralement à cultiver les micro-organismes dans des conditions de croissance optimales pendant 1 à 2 jours. Ensuite, la biomasse est séparée du milieu (par centrifugation ou filtration), le surnageant/filtrat obtenu est mélangé avec la solution précurseur métallique (Kato & Suzuki, 2020).

En revanche, dans la synthèse intracellulaire, les cellules sont d'abord séparées du milieu de culture, puis elles sont lysées afin de libérer les métabolites et agents réducteurs intracellulaires, qui sont ensuite utilisés pour la production de nanoparticules (Abd El-Ghany *et al.*, 2023).

La synthèse extracellulaire a été rapportée pour des micro-organismes tels que *Bacillus brevis* et *Streptomyces griseoplanus*, tandis que la synthèse intracellulaire a été observée chez *Lactobacillus fermentum* et *Pseudomonas* sp (Mařátková *et al.*, 2022).

Bien que la production extracellulaire présente des avantages évidents pour un traitement en aval plus facile, il a été rapporté que la production intracellulaire conduit à des NPs avec une monodispersité plus élevée (Narayanan *et al.*, 2010).

Les interactions cellule-métal reposent souvent sur la capacité des bactéries à supprimer leurs effets toxiques et indésirables et font partie intégrante des mécanismes de résistance microbienne aux métaux lourds et toxiques (Vigneshwaran *et al.*, 2007), par exemple en réduisant et en précipitant le métal toxique de la forme soluble vers des nanoparticules métalliques insolubles et non toxiques (Narayanan et Sakthivel, 2010). La biosynthèse de NPs donc peut faire partie du processus de biominéralisation, utilisant la cellule comme échafaudage, ou peut avoir lieu lors de processus métaboliques actifs, tels que la biosorption, la complexation et la précipitation ou la bioaccumulation intracellulaire (Narayanan *et al.*, 2010; Iqtedar *et al.*, 2019).

Divers systèmes unicellulaires ont été étudiés pour leur potentiel de production de NPs. Des rapports décrivent l'exploitation réussie de bactéries, de levures, de champignons et d'algues (Saad *et al.*, 2018).

A cet égard, les d'*Actinomycetota* sont exploitées pour la synthèse de nanoparticules biogéniques, car ces micro-organismes sont connus pour être des producteurs importants de la plupart des composés bioactifs naturels, principalement des antibiotiques et des antimétabolites (Wypij *et al.*, 2018). Ils constituent un phylum de bactéries Gram positif caractérisées par une teneur élevée en GC (guanine et cytosine) dans leur génome. Ce groupe présente une grande diversité taxonomique et écologique, étant largement distribué dans divers environnements terrestres et aquatiques (Lee *et al.*, 2020). Les membres de ce phylum se distinguent par leur morphologie filamenteuse et leur mode de croissance mycélien accompagné d'une différenciation morphologique complexe, incluant la formation de spores chez certaines espèces (Barka *et al.*, 2016).

En effet, ils sont responsables de la production de près des deux tiers des antibiotiques actuellement utilisés, notamment au sein du genre *Streptomyces* (Demain & Sanchez, 2009). Outre leurs propriétés antibactériennes, ces métabolites présentent également des activités antifongiques, antivirales, anticancéreuses, et antiparasitaires, ce qui leur confère une importance majeure dans les domaines pharmaceutique et biotechnologique (Barka *et al.*, 2016). En raison de cette richesse métabolique et de leur capacité d'adaptation à différents environnements, les *Actinomycetota* représentent une source prometteuse pour la découverte des applications innovantes, notamment dans la biosynthèse de nanoparticules métalliques (Wypij *et al.*, 2018).

Ces dernières ont suscité un grand intérêt au sein de la communauté scientifique internationale en raison de leurs applications étendues dans les domaines biomédical et physico-chimique (Singh *et al.*, 2016), notamment pour l'administration de médicaments, le traitement du cancer, les applications antibactériennes et la thérapie ciblée. Les métaux les plus couramment utilisés pour leur synthèse sont l'or (Au), l'argent (Ag), le fer (Fe), l'aluminium (Al), le cadmium (Cd), le cobalt (Co), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn). Il est connu que les nanoparticules à base de métal ont des mécanismes de toxicité antibactérienne non spécifiques (ne se liant pas à des récepteurs spécifiques des cellules bactériennes), ce qui rend difficile pour les bactéries de développer une résistance et élargit le spectre d'activité antibactérienne (Fadhil *et al.*, 2025).

Récemment, la synthèse de nanoparticules métalliques par l'intermédiaire de microorganismes a fait l'objet d'un intérêt scientifique considérable. Cette approche a été identifiée comme une méthode respectueuse de l'environnement et efficace pour exploiter les microorganismes comme des nanofactories pratiques (Singh *et al.*, 2016).

Les interactions entre les métaux et les micro-organismes jouent un rôle important dans plusieurs applications biotechnologiques, y compris les domaines de la bioremédiation, de la biominéralisation, de la bio-lixiviation et de la corrosion microbienne. Dernièrement, quelques micro-organismes ont été explorés comme usines biologiques potentielles pour la synthèse de nanoparticules métalliques telles que le sulfure de cadmium, l'or et l'argent. La recherche en nanotechnologie fournit des procédés fiables et respectueux de l'environnement pour la synthèse de matériaux à l'échelle nanométrique, tels que les bioprocédés et la chimie « verte » (Nanda *et al.*, 2009).

Les interactions des NPs métalliques sont à la fois variées et spécifiques à chaque métal et micro-organisme ; cependant, la plupart des NPs métalliques agissent de plusieurs manières différentes, ce qui constitue l'une des principales caractéristiques de leur application médicale potentielle. Les mécanismes d'activité antibactérienne des NPs métalliques les plus fréquemment proposés sont le stress oxydatif lié à la production de ROS, la libération d'ions métalliques et divers mécanismes non oxydatifs. Les mécanismes non oxydatifs rapportés incluent les interactions directes avec la paroi et la membrane cellulaires, la pénétration à l'intérieur de la cellule et l'inhibition subséquente de la synthèse des acides nucléiques et des protéines ainsi que la régulation de l'expression génétique. Il est également connu que les NPs métalliques interagissent avec le biofilm bactérien et le perturbent (Gurunathan *et al.*, 2014), entravant ainsi un mécanisme de résistance important qui confère un avantage significatif aux cellules bactériennes. La plupart de ces mécanismes s'exécutent par contact direct des NPs avec la cellule bactérienne, rendu possible par des interactions électrostatiques, des forces de Van der Waals et des interactions hydrophobes (Slavin *et al.*, 2017; El-Seedi *et al.*, 2019). La pénétration à travers la paroi et la membrane cellulaires dépend de la taille, tout comme les interactions ultérieures avec les composants intracellulaires, tels que les protéines, les acides nucléiques, les ribosomes, les lysosomes, etc. (Mukha *et al.*, 2013). Ces interactions peuvent provoquer un stress oxydatif, la désactivation des enzymes, une modification de l'expression génétique, une altération de la perméabilité de la membrane cellulaire et un déséquilibre des électrolytes (Wang *et al.*, 2017). Les mécanismes de pénétration des NPs à l'intérieur de la

cellule incluent la dépolarisation de la paroi cellulaire, qui devient ensuite plus perméable, la capacité de provoquer des formations de puits irréguliers sur la paroi cellulaire, entraînant ainsi une dégradation de la paroi cellulaire, l'endocytose médiée par les récepteurs et la diffusion à travers les pores de la membrane cellulaire.

De ce fait les nanoparticules métalliques sont uniques par leurs propriétés optiques, chimiques, électroniques et photoélectrochimiques. Parmi eux, le métal noble Ag possède de fortes oscillations de résonance plasmon de surface et les nanosystèmes développés avec Ag ont une sensibilité plus élevée ; par conséquent, il a un large éventail d'applications dans les capteurs, la microélectronique, la détection et le diagnostic des biomolécules, la catalyse et les filtres. (Nanda *et al.*, 2009)

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont des structures ou des entités de moins de 100 nm avec des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques uniques. L'activité biologique spécifique des AgNPs, qui résulte de leurs propriétés physico-chimiques et de leur rapport surface/volume élevé, a attiré une attention considérable dans le monde entier (Wypij *et al.*, 2018). Elles sont utilisées dans de nombreux domaines, allant de l'agriculture à la médecine, notamment pour leurs propriétés antimicrobiennes, ainsi que dans des applications anticancéreuses, anti-inflammatoires et dans le traitement des plaies. En outre, leurs caractéristiques biocompatibles, leur faible toxicité, leurs propriétés auto-nettoyantes et leur compatibilité avec la peau renforcent leur intérêt dans diverses applications biomédicales. (Singh *et al.*, 2016). Il semble que la demande mondiale en nanomatériaux oscille entre 0,3 million de tonnes et 1,6 million de tonnes, y compris pour la région asiatique qui compte environ « (34%) », suivie de l'Amérique du Nord (approximativement 31%) et de l'Europe (environ 30%), respectivement. Il est dernièrement démontré que les AgNPs constituent d'excellents agents antimicrobiens contre certaines super-bactéries sérieuses, comme *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* (AboElmaaty *et al.*, 2023). Les AgNPs peuvent être aussi synthétisées par diverses voies physiques et chimiques, mais ces dernières années, l'accent est mis sur la synthèse verte, Cela permet d'éviter les problèmes liés au rendement, à l'utilisation de produits toxiques et aux sous-produits dangereux (Nanda *et al.*, 2009).

Les principaux mécanismes d'action des AgNPs sont la libération d'ions Ag<sup>+</sup>, la génération de ROS, l'interférence avec le métabolisme énergétique et la synthèse de la paroi cellulaire, la

perturbation de la membrane et l'interférence avec l'ADN, l'ARN et d'autres parties du métabolisme cellulaire (Dakal *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2018). Ceux-ci sont facilités à la fois par la présence extracellulaire et intracellulaire des AgNPs, car les AgNPs de petite taille peuvent pénétrer la paroi et la membrane cellulaires. Leur transport à travers la paroi cellulaire peut être entravé par la couche de peptidoglycane des bactéries Gram-positives, entraînant une moindre susceptibilité dans certaines études (Gurunathan *et al.*, 2014). Une autre corrélation a été trouvée avec la taille et la forme des NPs, car les NPs plus petits (ratio surface/volume plus élevé) ont montré une libération plus rapide des ions  $\text{Ag}^+$  (Tang & Zheng, 2018). De même, il a été constaté que les AgNPs sphériques présentent une activité antimicrobienne plus élevée que leurs homologues triangulaires, en forme de plaquette ou de nanobâtonnets en raison de la liaison et de l'absorption améliorées à la surface (Helmlinger *et al.*, 2016).

Les espèces bactériennes qui ont été signalées comme sensibles aux AgNPs biosynthétisés incluent des pathogènes multirésistants, tels que *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri* et *Vibrio cholerae*. (Ahmed *et al.*, 2016; Nayak *et al.*, 2016; Składanowski *et al.*, 2017). Par ailleurs, des effets synergiques des AgNPs avec des antibiotiques conventionnels (vancomycine, clindamycine, amoxicilline, érythromycine) ont été démontrés contre *S. aureus* et *E. coli* (Shahverdi *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2018).

Le premier rapport sur la synthèse de nanoparticules d'argent médiée par des bactéries est apparu en 1999, lorsque Klaus et ses collaborateurs ont signalé l'accumulation de nanoparticules d'argent à l'intérieur des cellules de *Pseudomonas stutzeri* AG259, une bactérie isolée d'une mine d'argent. Ces bactéries présentaient la capacité de survivre dans un environnement extrêmement riche en argent, ce qui pourrait expliquer l'accumulation de nanosilver. Par la suite, une série de bactéries, à la fois Gram-négatives et Gram-positives, a été étudiée pour la synthèse de nanoparticules d'argent. Dans certains rapports, des souches bactériennes résistantes à l'argent ont été utilisées pour la synthèse de nanoparticules (Singh *et al.*, 2015).

Enfin, bien que les nanoparticules présentent un fort potentiel, leur toxicité environnementale dépend fortement du type, de la taille et de la forme des NPs ainsi que des transformations qu'elles subissent. Dans le cas des AgNPs, la dissolution oxydative est responsable de la libération des ions  $\text{Ag}^+$ , qui sont très toxiques pour de nombreux organismes même à de faibles concentrations pouvant éventuellement se produire dans l'environnement

(Jiravova *et al.*, 2016). L'exposition et le temps de résidence des NPs dans l'environnement peuvent être significativement prolongés par leur adsorption sur des matières organiques ou inorganiques, augmentant ainsi leur persistance. Dans certains cas, l'adsorption peut atténuer la toxicité des NPs par la formation de complexes grâce à des réactions stabilisantes, ce qui réduit l'effet sur l'environnement. Il a été observé que les NPs biosynthétisés présentent une toxicité moindre, généralement due à l'utilisation de composants biologiques comme agents de revêtement et stabilisants, ainsi qu'à l'évitement de solvants toxiques lors de leur fabrication (Mařátková *et al.*, 2022). La non-toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer biosynthétisées (à 2 g/kg) a été démontrée sur des souris de laboratoire dans une étude menée par (Pravallika *et al.*, 2019).

Dans le cadre de cette étude, nous avons recherché d'*Actinomycetota* contribuant à la biosynthèse de nanoparticules d'argent ainsi qu'à l'exploration de leurs activités antimicrobiennes contre différents organismes pathogènes et leur optimisation.

Pour présenter ce travail, nous avons adopté la méthodologie IMRaD, en divisant notre manuscrit en quatre parties principales comme suit : Le premier chapitre, qui fait office d'introduction générale, est consacré à une revue approfondie de la littérature scientifique, dans laquelle nous avons présenté les définitions, les différents types de nanoparticules, en particulier les nanoparticules d'argent, leurs propriétés, leur principe de synthèse ainsi que leurs divers mécanismes d'action. Une attention particulière est également portée au phylum des *Actinomycetota*, considéré comme un candidat majeur pour la biosynthèse des nanomatériaux. Le deuxième chapitre, est dédié à la présentation du matériel utilisé et à la description des méthodes appliquées pour la synthèse des nanoparticules d'argent, l'optimisation de leurs conditions de production, ainsi que l'évaluation de leur activité antimicrobienne. Le troisième chapitre expose les résultats obtenus concernant la formation des AgNPs ainsi que l'efficacité de leur activité inhibitrice, lesquels ont été discutés et interprétés dans le quatrième chapitre, avec une comparaison par rapport à des études antérieures. Enfin, ce travail se termine par une conclusion générale proposant des perspectives pour de futures recherches dans ce domaine.

# **MATERIEL ET METHODES**

## Matériel et Méthodes

Cette partie consacrée à décrire les méthodes et les techniques expérimentales utilisées pour synthétiser des nanoparticules d'argent et présenter ainsi l'activité antimicrobienne de ces nanoparticules et les différents paramètres opérationnels pour optimiser leur synthèse.

### 1. Lieu et durée de l'étude

Ce travail a été entièrement réalisé au niveau des laboratoires du Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa. Il a été effectué durant la période du 28 Janvier au 05 Mai 2026.

### 2. Matériel utilisé

**2.1. Matériel chimique :** La solution de nitrate d'argent  $\text{AgNO}_3$ .

**2.2. Matériel biologique :** Les souches utilisées dans le cadre de cette étude appartiennent au phylum des *Actinomycetota*. Elles ont été isolées à partir de différents biotopes de la région de Ghardaïa, d'une part par Moulay Omar Ali en 2025 et, d'autre part, par Moulay Omar Ikram et Zahouani Ibtiham en 2024. L'origine de chaque souche est détaillée ci-après :

**Tableau 1.** Liste et origine des souches d'*Actinomycetota* étudiées.

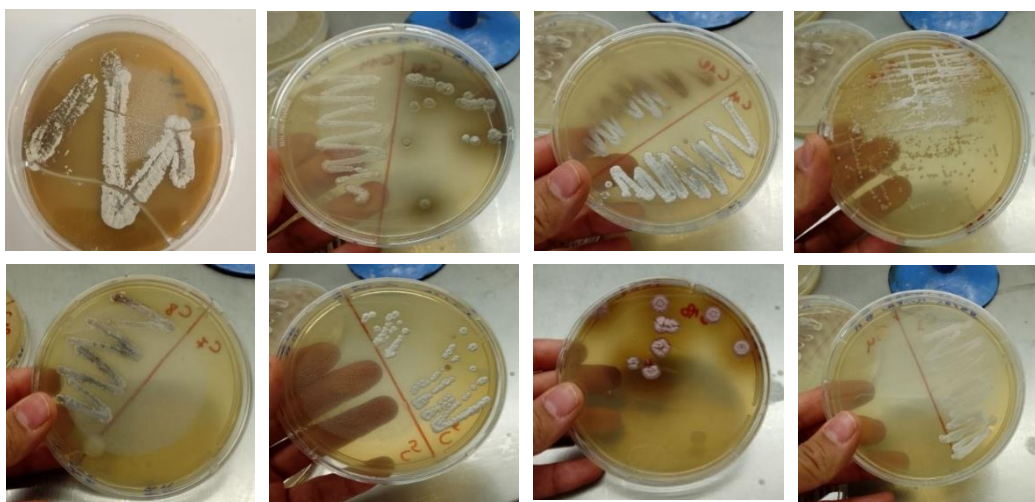
L1	Sol rhizosphérique de Godm ( <i>Randonia africana</i> ).
L2	Sol non rhizosphérique de Godm ( <i>Randonia africana</i> ).
L3	Sol rhizosphérique des Arachides ( <i>Arachis hypogaea</i> ).
L4 ; L5	Sol non rhizosphérique des Arachides ( <i>Arachis hypogaea</i> ).
L6 ; L7	Sol rhizosphérique de Guezah ( <i>Pituranthos chloranthus</i> ).
L8	Excrément de chèvre, Metlili.
L9 ; L10	Sol rhizosphérique de palmeraie (Oasis de Metlili - Souareg, Sebkha).

Les échantillons de sol ont été prélevés de manière aseptique à une profondeur de 20 cm après élimination de la couche superficielle, puis transportés au laboratoire dans des sacs stériles. Après prétraitement, des dilutions décimales ont été préparées etensemencées sur le milieu ISP2. Les boîtes ont été incubées à 30 °C pendant 21 jours. Les colonies présentant les caractéristiques des *Actinomycetota* ont été sélectionnées puis purifiées par repiquages successifs jusqu'à l'obtention de souches pures. Les isolats obtenus ont ensuite été conservés à 4 °C pour les études ultérieures (Moulay Omar et Zahouani, 2024).

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée à l'aide de deux souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et de deux souches fongiques (*Candida albicans* et *Aspergillus flavus*) isolées et conservées au laboratoire de la faculté.

### 3. Méthodes

**3.1 Ensemencement (réactivation des souches) :** les souches d'*Actinomycetota* ont été réactivées par ensemencement sur milieu ISP2 solide (glucose 4 g/L, extrait de levure 4 g/L, extrait de malt 10 g/L et agar 20 g/L), puis incubées à 30 °C pendant 10 jour.



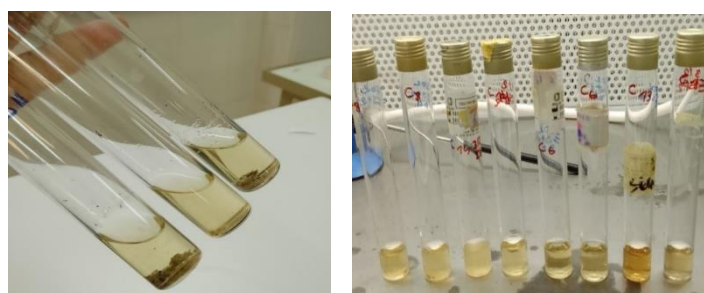
**Figure 1.** Les souches d'*Actinomycetota* utilisées pour la biosynthèse des AgNPs

### 3.2 Biosynthèse des AgNPs

#### 3.2.1 Inoculation des souches

La biosynthèse des AgNPs a été réalisée en utilisant  $\text{AgNO}_3$  comme précurseur métallique et l'extrait de biomasse d'*Actinomycetota* comme agent réducteur et stabilisant, conformément au protocole décrit par Abd El-Ghany *et al.* (2023) et Pallavi *et al.* (2021) avec modifications.

Premièrement, une pré-culture a été préparée en inoculant chaque isolat dans des tubes à essai contenant 4 ml de bouillon ISP2 (g/L : glucose 4, extrait de levure 4 et extrait de malt 10).



**Figure 2.** Pré-culture des souches d'*Actinomycetota* dans le bouillon ISP2

Après une incubation de 24 heures à 30 °C, le contenu de ces tubes a été transféré de manière aseptique dans des flacons coniques (erlenmeyers) contenant 50 ml de milieu ISP2 et incubé à 30 °C et à 180 rpm pendant 96 h. Par la suite, la culture a été centrifugée à 12 000× g (Sigma 3-30KS, Sigma Laborzentrifugen) pendant 15 minutes, pour séparer le surnageant et le culot.



**Figure 3.** Séparation du surnageant et du culot par centrifugation de la culture

### 3.2.2 Synthèse intracellulaire de nanoparticules d'argent

Les cellules collectées ont été lavées deux fois avec de l'eau distillée stérile. Puis remises en suspension dans 50 ml d'eau ultrapure et incubée dans un incubateur à agitation (180 rpm) à 30 °C pendant 72 heures. Après lyse osmotique, les lysats cellulaires ont été filtrés à travers des filtres Whatman N°.1, produisant des extraits de biomasse d'*Actinomycètes*. L'extrait a été mélangé avec un volume égal de solution d'AgNO<sub>3</sub> à 2 mM, et le mélange a été incubé à 30 °C, 180 rpm pendant 48 heures dans l'obscurité.

### 3.2.3 Synthèse extracellulaire de nanoparticules d'argent

Le surnageant bactérien récolté a été mélangé avec un volume égal de solution d'AgNO<sub>3</sub> à une concentration finale de 2 mM. Le mélange a été incubé dans un agitateur rotatif à l'obscurité (180 rpm) pendant 3 jours à 30 °C. Une expérience témoin a été réalisée pour déterminer le rôle des bactéries dans la biosynthèse des AgNPs en mélangeant le milieu de culture non inoculés avec la solution d'AgNO<sub>3</sub>.

La synthèse a été surveillée dans les deux cas par inspection visuelle du changement de couleur en brun foncé comme indicateur initial de la biosynthèse des AgNPs, ce qui a été confirmé par l'absorbance UV-Vis du mélange réactionnel (Pallavi *et al.*, 2022).

Pour la purification des AgNPs biogéniques, le mélange brunâtre a été centrifugé à  $26\,300\times g$  pendant 15 minutes. Les pellets d'AgNPs ont été resuspendus dans de l'eau ultrapure et centrifugés à nouveau pour éliminer toute impureté indésirable, les granulés ont été lavés trois fois de plus.



**Figure 4.** Pellets de nanoparticules d'argent obtenus après centrifugation et purification.

Enfin, les pastilles des NPs ont été séchées dans une étuve à  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures.



**Figure 5.** État physique final des nanoparticules d'argent synthétisées

### 3.3 Caractérisation d'AgNPs biogéniques

#### 3.3.1 Analyse spectrale UV-Vis

Après incubation, la solution résultante (surnageant mélangé avec la solution métallique) a été analysée par spectroscopie UV-visible (SpectroScan 40, Biotech Engineering Management Co. Ltd. (UK)) pour garantir la formation de nanoparticules et de procéder à leur caractérisation initiale. Cela a impliqué la mesure de l'absorption ou de la transmission de la lumière dans la gamme UV-visible en balayant une plage de 300 à 600 nm.

### 3.4 Détermination de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des AgNPs biosynthétisées a été déterminée par la méthode de diffusion en puits (Agar well diffusion). Pour cette évaluation, trois souches d'*Actinomycetota* (L3, L6 et L10) ont été sélectionnées en raison de leur productivité élevée et de leurs profils spectraux optimaux. L'efficacité de ces nanoparticules a été testée vis-à-vis les micro-organismes pathogènes suivants :

Bactérie Gram-positives : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Bactéries Gram-négatives : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Levure : *Candida albicans*.

Moisissure : *Aspergillus flavus*.

Ces micro-organismes ont été cultivés sur le milieu ISP2, la suspension de chacun d'eux a été diluée avec de l'eau distillée stérile pour atteindre des concentrations allant de  $10^7$  à  $10^8$  CFU/ml, puis avec des écouvillons stériles des boîtes de Petri contenant le milieu gélosé ont été ensemencées, et des puits de 8 mm de diamètre ont été creusés dans le milieu et remplis avec 100  $\mu$ L de la solution d'AgNPs biosynthétisées concentrée à 200  $\mu$ g/ml. Une étape de diffusion a été réalisée à 4 °C pendant 2 h. Les boîtes ont ensuite été incubées pendant 24 h à 37 °C pour les bactéries, et pendant 48 h à 30 °C pour le champignon et la levure. La Ciprofloxacine (5  $\mu$ g/disque) et le Fluconazole (50  $\mu$ g/ml) ont été utilisées comme témoins positifs et l'eau distillée stérile comme témoin négatif. Le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré à l'issue de la période d'incubation (Pallavi *et al.*, 2021; AboElmaaty *et al.*, 2023).



**Figure 6.** Évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits.

### **3.5 Optimisation des AgNPs biosynthétisées**

Pour la biosynthèse des AgNPs, différents paramètres ont été optimisés y compris, la concentration de nitrate d'argent, le pH, et la température, Ces facteurs de réaction peuvent influencer de manière variable le processus de réduction, modifiant ainsi l'apparence et la taille finale du produit.

#### **3.5.1 Effet de la concentration**

Cette analyse a été réalisée en utilisant le surnageant et différentes concentrations d'ions  $\text{Ag}^+$  variant de 1 à 5 mM. Les échantillons ont été inoculé dans des tube à essai et incubés à 30 °C pendant 24 h. La réduction de l'argent et la formation de nanoparticules d'argent ont été suivies par observation visuelle et spectroscopie UV-Vis.

#### **3.5.2 Effet du pH**

L'effet du pH sur la réduction de l'argent et la formation de nanoparticules a été évalué par l'essai de réduction de l'argent en utilisant une gamme de pH allant de 5 à 9. La réduction de l'argent et la formation de nanoparticules ont été suivies par observation visuelle et par spectroscopie UV-Vis.

#### **3.5.3 Effet de la température**

L'effet de la température sur la réduction de l'argent et la formation de nanoparticules a été testé en incubant les échantillons à 20, 30, 40, 50 et 60 °C. Le changement de couleur de la solution a été surveillé périodiquement et soumis à une analyse par spectrophotométrie UV-Vis.

#### **3.5.4 Conditions Fixes (Paramètres standards)**

Le protocole standard consistait à mélanger un volume égal de surnageants bactériens à une concentration finale de 2,0 mM et à un pH de 7,2. Le mélange a été incubé dans un agitateur rotatif à l'obscurité (180 rpm) pendant 24 h à 30 °C

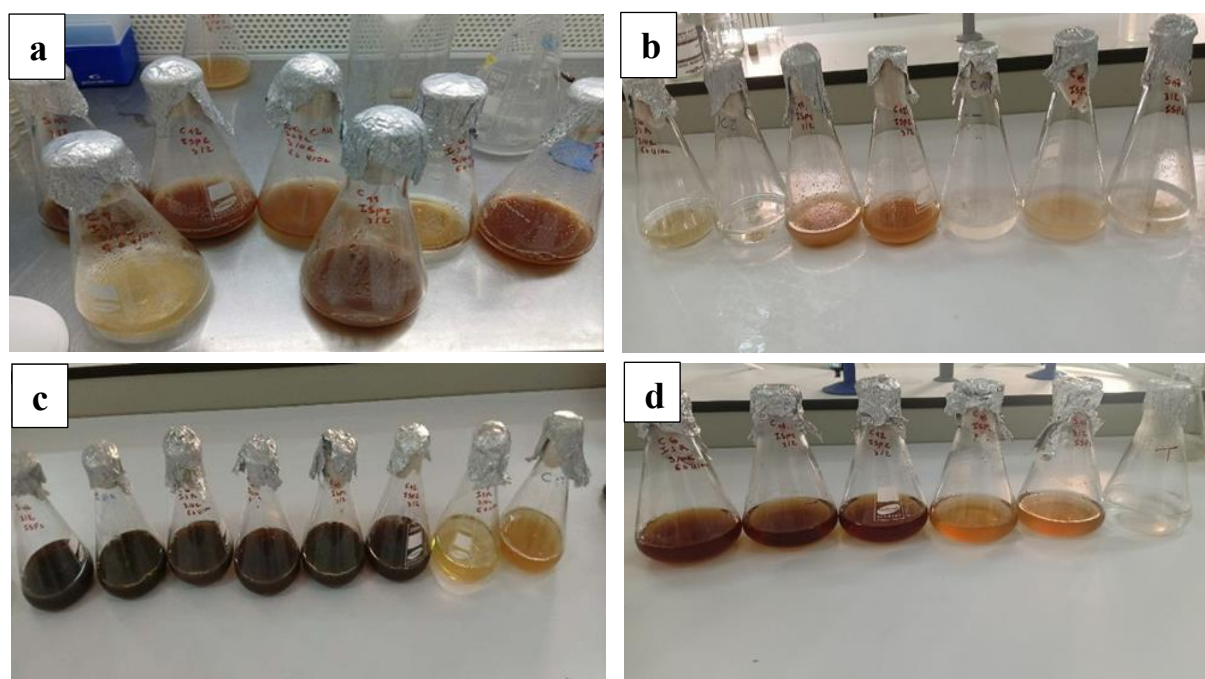
(from Marine & Sciences, 2018; Abdelmoneim *et al.*, 2022).

# RESULTATS

## Résultats

### 1. Biosynthèse des AgNPs (Observation visuelle)

Après l'incubation des extraits intra ou extracellulaire des souches d'*Actinomycetota* avec la solution de nitrate d'argent ( $\text{AgNO}_3$ ), un changement de couleur du milieu réactionnel vers le brun foncé a été observé chez certaines souches. Cette modification de couleur constitue un premier indicateur de la biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs). Elle témoigne de l'interaction entre les composés bioactifs présents dans les surnageants bactériens et les ions argent, conduisant à leur réduction et à la formation de nanoparticules d'argent. En revanche, l'absence de changement de couleur observée pour certaines souches suggère qu'aucune biosynthèse d'AgNPs n'a eu lieu dans les mêmes conditions expérimentales.



**Figure 7.** Mise en évidence du changement de couleur lors de la synthèse extracellulaire et intracellulaire des AgNPs : (a) extrait extracellulaire avant réaction, (b) extrait intracellulaire avant réaction, (c) extrait extracellulaire après réaction, et (d) extrait intracellulaire après réaction.

Le tableau suivant résume les résultats du changement de couleur du milieu réactionnel pour les différentes souches bactériennes d'*Actinomycetota*.

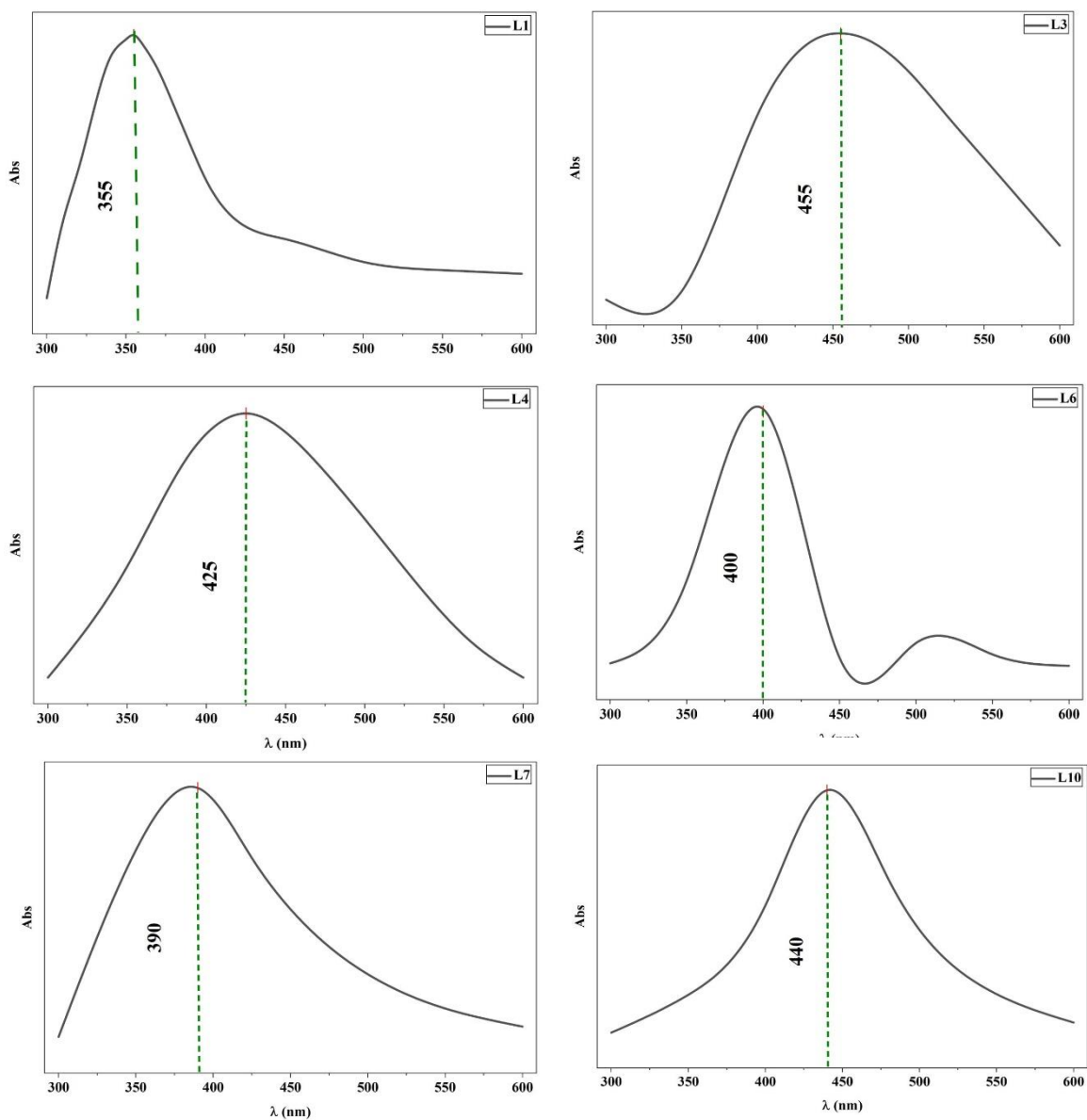
**Tableau 2.** Screening des souches bactériennes pour la biosynthèse extracellulaire et intracellulaire des nanoparticules d'argent (AgNPs).

Les souches	Extracellulaire	Intracellulaire
L1	+	+
L2	-	-
L3	+	+
L4	+	+
L5	-	-
L6	+	-
L7	+	-
L8	-	-
L9	-	-
L10	+	-

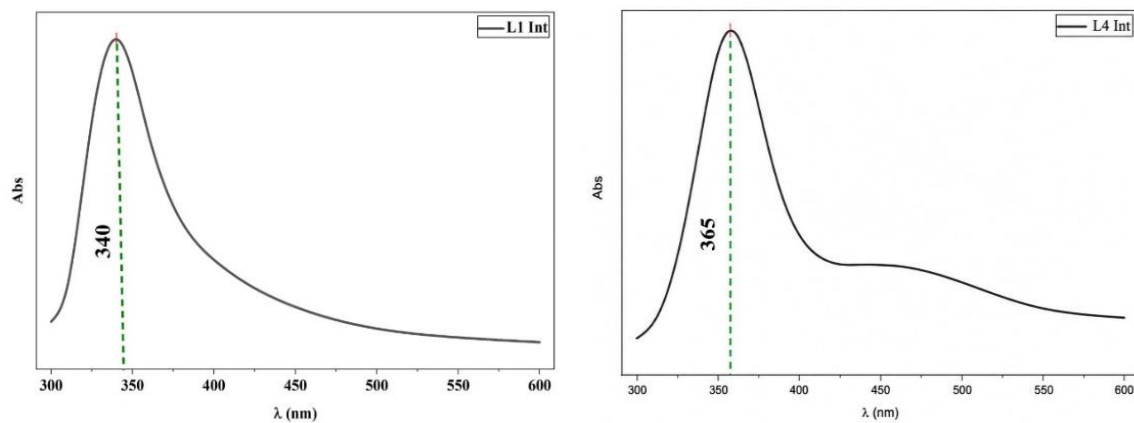
**Note :** + : Présence d'une coloration brun foncé (synthèse positive) ; - : Absence de coloration brun foncé (synthèse négative).

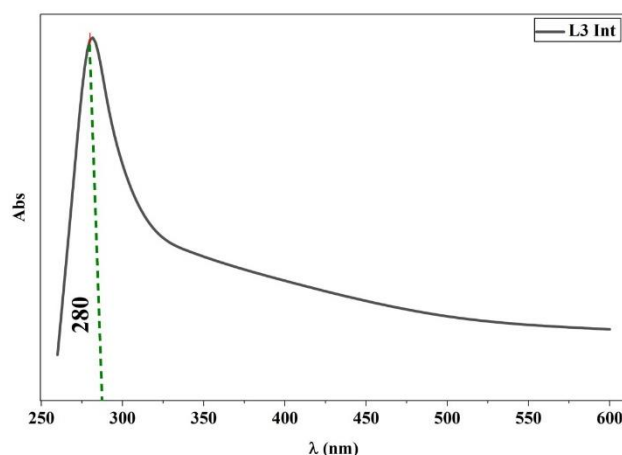
## 2. Caractérisation d'AgNPs biogéniques (Analyse spectrale UV-Visible)

Dans cette étude, les AgNPs produites par différentes souches d'*Actinomycetota* ont présenté des maxima d'absorption variables selon les isolats. En biosynthèse extracellulaire, les pics observés étaient de 355 nm pour la souche L1, 455 nm pour L3, 425 nm pour L4, 400 nm pour L6, 390 nm pour L7 et 440 nm pour L10. Concernant la biosynthèse intracellulaire, les maxima d'absorption enregistrés étaient de 340 nm pour la souche L1 et de 365 nm pour la souche L4. Par ailleurs, bien qu'un changement de couleur caractéristique ait été observé chez la souche L3 lors de la biosynthèse intracellulaire, le maximum d'absorption a été détecté à 280 nm, soit en dehors de la plage généralement associée à la résonance plasmonique de surface des nanoparticules d'argent. Dans l'ensemble, les résultats obtenus confirment la formation des nanoparticules d'argent. En effet, plusieurs études ont montré que la résonance plasmonique de surface des AgNPs apparaît généralement dans cette gamme de longueurs d'onde. Toutefois, la position exacte du pic de résonance peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment la taille, la forme, l'état d'agrégation des particules ainsi que leur environnement chimique (Demydov *et al.*, 2021).



**Figure 8.** Spectre UV-Visible des AgNPs obtenues par synthèse extracellulaire.





**Figure 9.** Spectre UV-Visible des AgNPs obtenues par synthèse intracellulaire.

### 3. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent AgNPs biosynthétisées a été évaluée par la méthode de diffusion sur puits en gélose ISP2. Cette approche qualitative a permis de mesurer le diamètre des zones d'inhibition (exprimé en mm) formées autour de puits chargés avec une concentration de 200 µg/ml. Ces zones reflètent directement l'efficacité des AgNPs à inhiber la croissance des différentes souches microbiennes testées, fournissant ainsi des données cruciales sur leur potentiel inhibiteur. Afin de garantir la fiabilité des résultats, les valeurs rapportées correspondent à la moyenne calculée à partir de trois répétitions indépendantes (triplicata) pour chaque souche.

**Tableau 3.** Sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis des nanoparticules d'argent biosynthétisées par les trois isolats L3, L6 et L10, incluant le diamètre du puits (8 mm).

Souche	Zone d'inhibition (mm)		
	L3	L6	L10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12 ± 1.32	8	9.33 ± 0.58
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11.33 ± 0.58	8	8
<i>Candida albicans</i>	20.67 ± 0.58	17.33 ± 3.02	19.83 ± 0.76
<i>Aspergillus flavus</i>	13.3 ± 3.46	8	8

L'analyse de l'activité antimicrobienne montre que l'échantillon L3 présente le spectre d'action le plus large, puisqu'il est le seul capable d'inhiber l'ensemble des souches testées. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus varient entre  $11,33 \pm 0,58$  mm et  $20,67 \pm 0,58$  mm. En revanche, les échantillons L6 et L10 ont montré une activité plus sélective, étant actifs principalement contre *Candida albicans* avec des zones d'inhibition respectives de  $17,33 \pm 3,02$  mm et  $19,83 \pm 0,76$  mm, tandis qu'aucune activité inhibitrice n'a été observée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Aspergillus flavus*. Concernant *Staphylococcus aureus*, une activité modérée a été enregistrée pour L3 ( $12 \pm 1,32$  mm) et L10 ( $9,33 \pm 0,58$  mm), alors que L6 n'a montré aucune activité inhibitrice. Parmi les microorganismes étudiés, *Candida albicans* s'est révélée la souche la plus sensible, particulièrement vis-à-vis de l'échantillon L3. À l'inverse, *Pseudomonas aeruginosa* a présenté la plus forte résistance, n'étant inhibée que par la souche L3 avec une zone d'inhibition de  $11,33 \pm 0,58$  mm.

La figure 10 présente les résultats de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent biosynthétisées contre différentes souches microbiennes testées, mise en évidence par la formation de zones d'inhibition autour des puits sur milieu gélosé.



*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923



*Aspergillus flavus*



*Candida albicans*

**Figure 8.** Évaluation de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent biosynthétisées vis-à-vis de différentes souches microbiennes testées.

**Note** : les codes indiqués sur les photos (C11, C14, L18) correspondent respectivement aux souches (L3, L6, L10) mentionnées dans le texte.

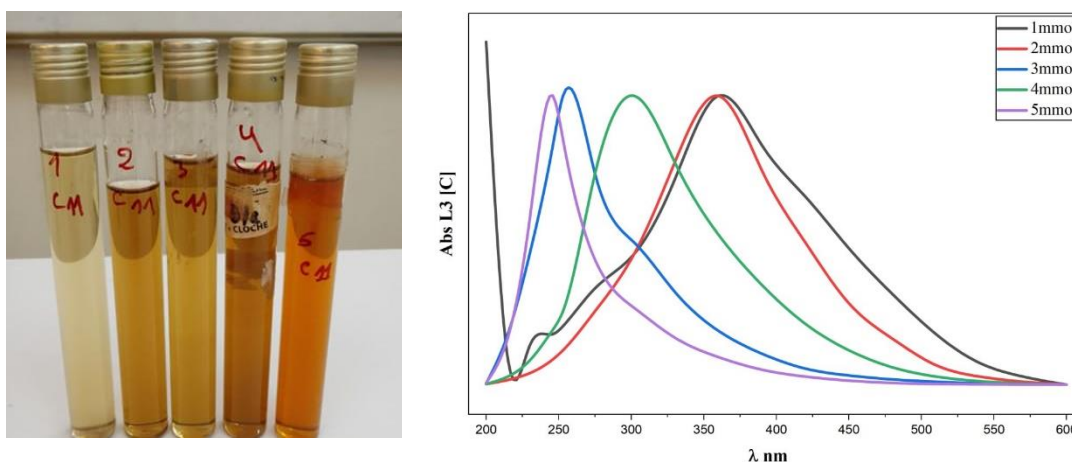
#### 4. Optimisation des AgNPs biosynthétisées

L'optimisation des paramètres physico-chimiques constitue une étape essentielle dans la biosynthèse des nanoparticules, car elle permet d'augmenter le rendement de production tout en améliorant leurs propriétés physiques, morphologiques et biochimiques (Javed *et al.*, 2020). Plusieurs paramètres ont été étudiés afin d'optimiser la synthèse des nanoparticules d'argent, notamment la concentration en nitrate d'argent, le pH ainsi que la température.

##### 4.1 Effet de la concentration

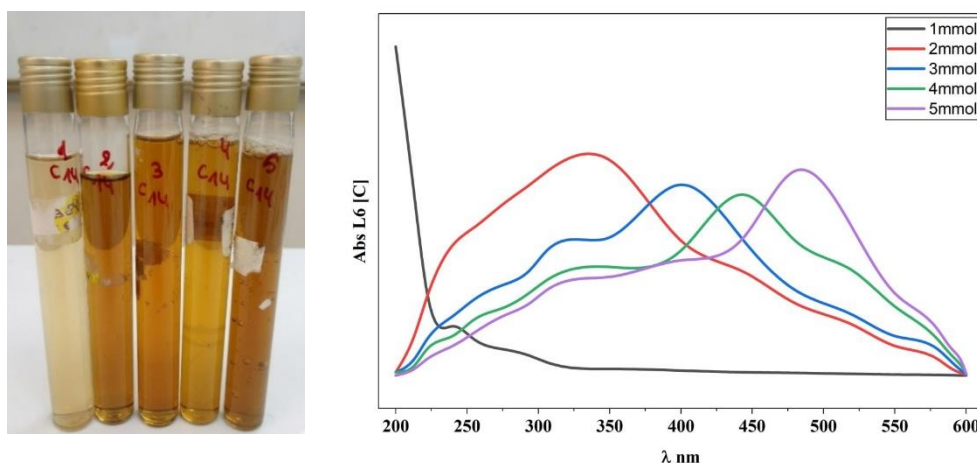
Les changements de couleur observés dans les solutions, passant du jaune au brun foncé, indiquent la formation des nanoparticules d'argent. Cette transformation a été confirmée par les spectres d'absorption UV-Visible des AgNPs préparées à différentes concentrations (1 à 5 mmol) de nitrate d'argent, montrant les pics caractéristiques de résonance plasmonique de surface. Voici les résultats obtenus pour les différentes souches testées lors de la biosynthèse des nanoparticules d'argent :

**La souche L3** : Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 200 nm, 360 nm, 253 nm, 301 nm et 246 nm pour les concentrations de 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM et 5 mM. La valeur obtenue à 2 mM se situe dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne formation des AgNPs synthétisées à cette concentration.



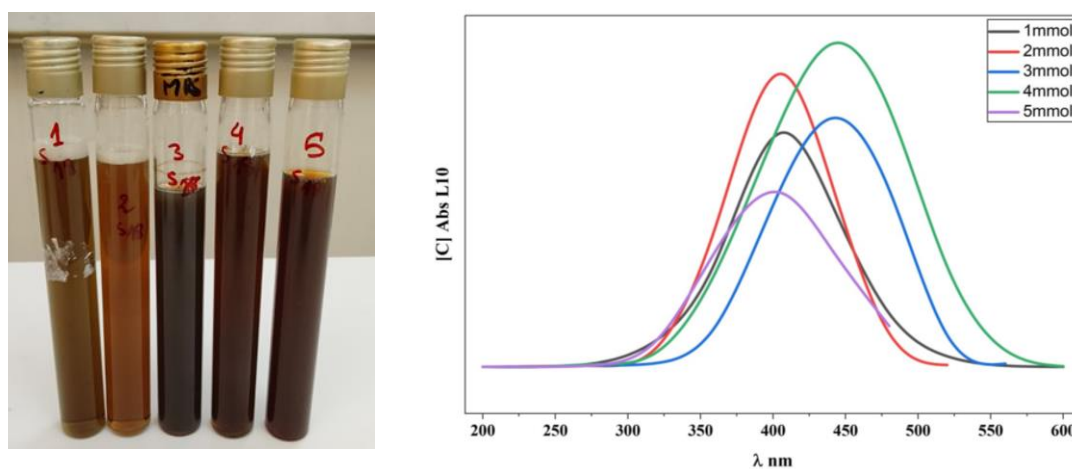
**Figure 9.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L3 à différentes concentrations de nitrate d'argent (1 - 5 mM).

**La souche L6 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 200 nm, 350 nm, 400 nm, 444 nm et 480 nm pour les concentrations de 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM et 5 mM. Les pics obtenus à partir des concentrations de 2 mM à 5 mM se situent dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne formation des AgNPs synthétisées pour les concentrations testées.



**Figure 10.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L6 à différentes concentrations de nitrate d'argent (1 - 5 mM).

**La souche L10 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 406 nm, 455 nm, 473 nm, 440 nm et 534 nm pour les concentrations de 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM et 5 mM. Les pics obtenus indiquent une bonne synthèse et une stabilité des nanoparticules produites aux différentes concentrations testées.



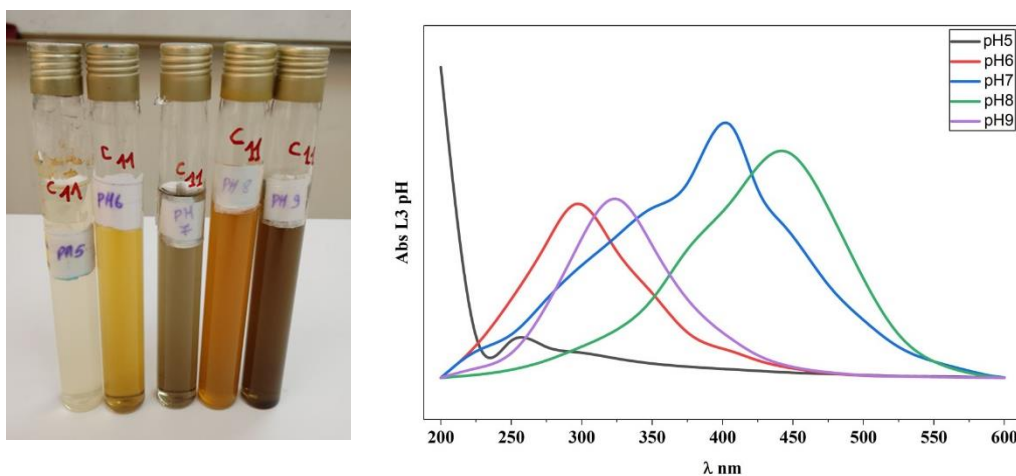
**Figure 11.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L10 à différentes concentrations de nitrate d'argent (1 - 5 mM).

## 4.2 Effet de pH

Le pH est considéré comme l'un des facteurs les plus importants influençant la formation des nanoparticules (Abdelmoneim *et al.*, 2022). Dans cette étude, l'effet de différentes valeurs de pH (de 5 à 9) sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent a été évalué par le changement de couleur, passant du jaune au brun foncé, ainsi que par l'analyse spectrophotométrique UV-visible, afin de déterminer les conditions optimales de production.

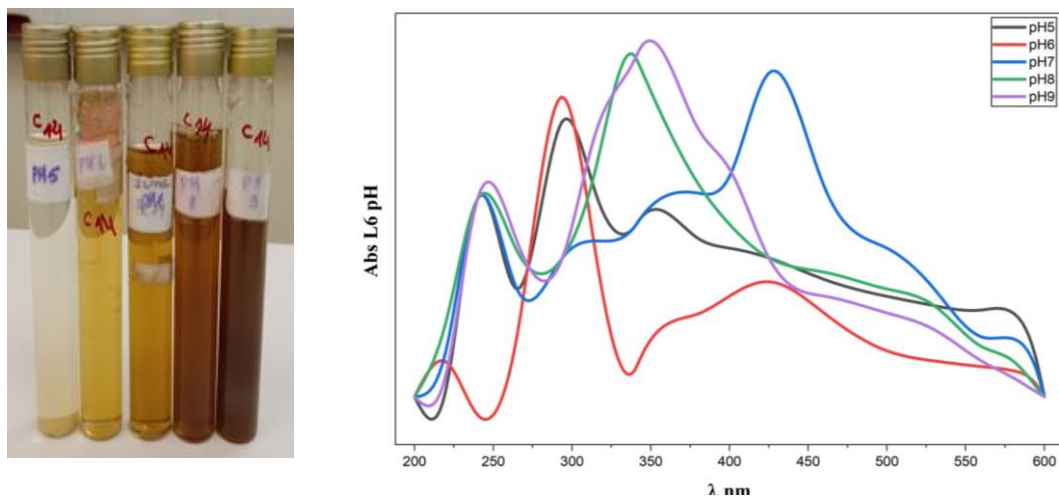
Voici les résultats obtenus pour les différentes souches testées lors de la biosynthèse des nanoparticules d'argent :

**La souche L3 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 200 nm, 296 nm, 406 nm, 443 nm et 324 nm pour les valeurs de pH 5, 6, 7, 8 et 9. Les valeurs obtenues aux pH 7 et 8 se situent dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne synthèse des AgNPs.



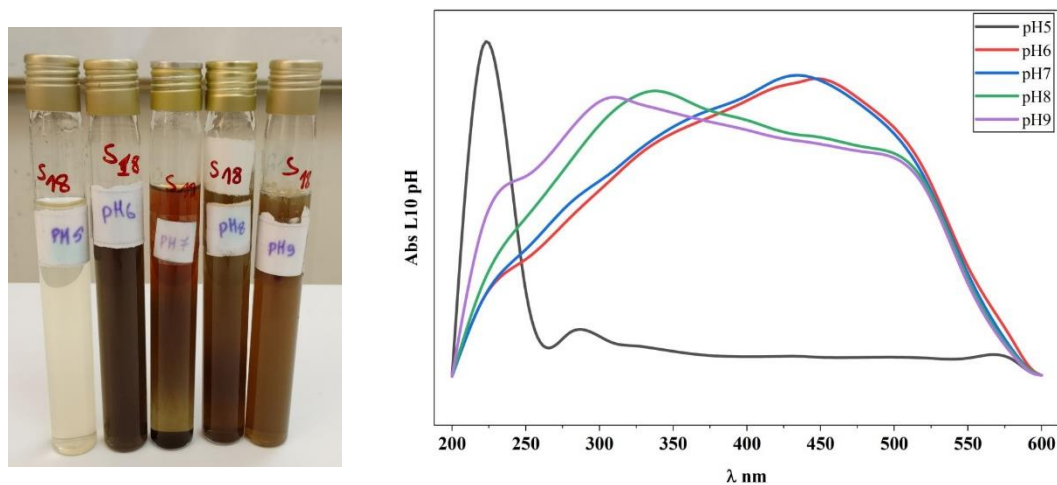
**Figure 12.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisés par la souche L3 à différentes valeurs de pH (5 - 9).

**La souche L6 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 240 nm, 294 nm, 425 nm, 340 nm et 343 nm pour les valeurs de pH 5, 6, 7, 8 et 9. La valeur obtenue au pH 7 se situe dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne synthèse des AgNPs.



**Figure 13.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L6 à différentes valeurs de pH (5 - 9).

**La souche L10 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 221 nm, 444 nm, 438 nm, 335 nm et 309 nm pour les valeurs de pH 5, 6, 7, 8 et 9. Les valeurs obtenues aux pH 6 et 7 se situent dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne synthèse des AgNPs.

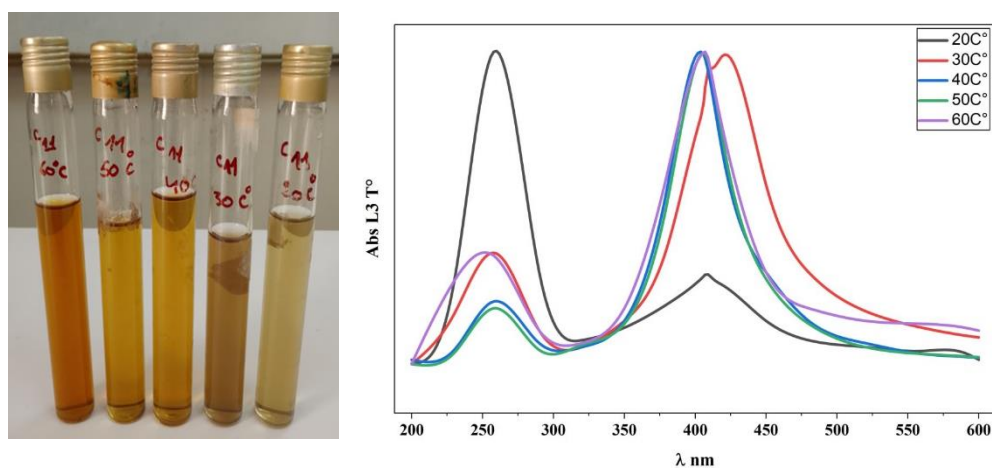


**Figure 16.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L10 à différentes valeurs de pH (5 - 9).

### 4.3 Effet de la température

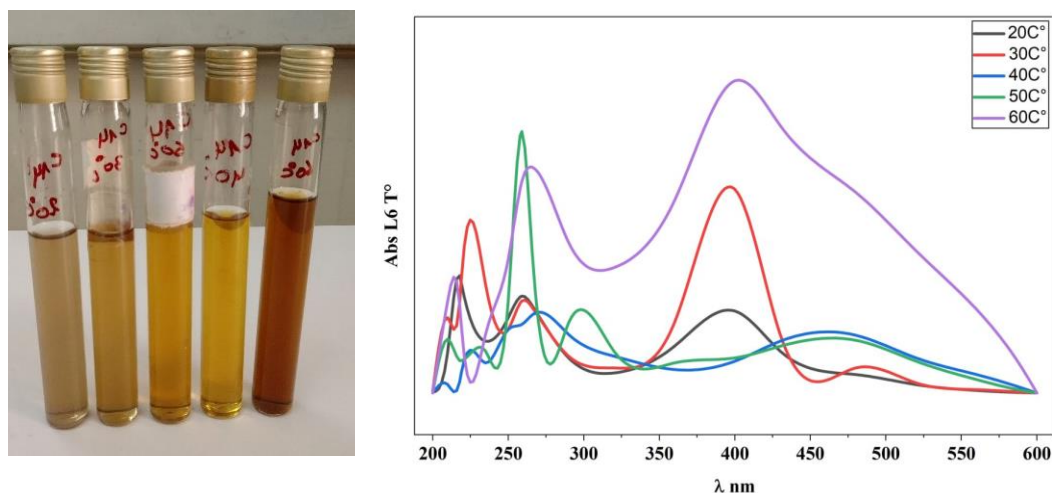
La température est l'un des facteurs importants dans toute réaction chimique et biologique, car elle affecte la vitesse de réaction et joue un rôle majeur dans le contrôle du processus de nucléation lors de la biosynthèse des AgNPs (Abdelmoneim *et al.*, 2022). Dans cette étude, l'effet de différentes valeurs de température (de 20 à 60 °C) sur la biosynthèse des nanoparticules d'argent a été évalué par le changement de couleur, passant du jaune au brun foncé, ainsi que par l'analyse spectrophotométrique UV-visible, afin de déterminer les conditions optimales de production. Voici les résultats obtenus pour les différentes souches testées lors de la biosynthèse des nanoparticules d'argent :

**La souche L3 :** Les résultats de l'analyse par UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 258 nm, 419 nm, 404 nm, 406 nm et 407 nm pour les de températures de 20, 30, 40, 50 et 60 °C. Les valeurs obtenues à 30, 40, 50 et 60 °C se situent dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne synthèse des AgNPs.



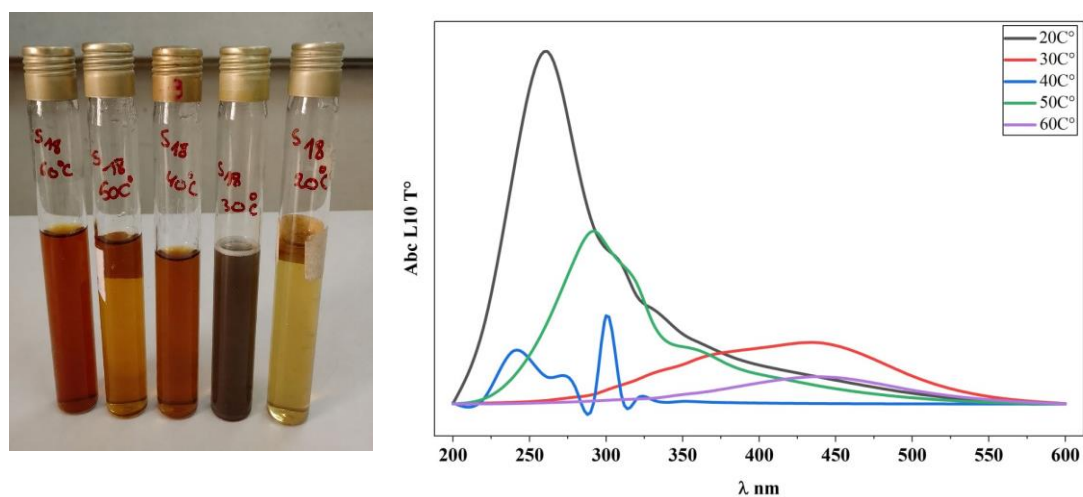
**Figure 14.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L3 à différentes valeurs de Température (20 - 60 °C).

**La souche L6 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 218 nm, 400 nm, 266 nm, 259 nm et 397 nm pour les températures de 20, 30, 40, 50 et 60 °C. Les valeurs obtenues à 30 et 60 °C se situent dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne synthèse des AgNPs.



**Figure 15.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L6 à différentes valeurs de Température (20 - 60 °C).

**La souche L10 :** Les résultats de l'analyse par spectrophotométrie UV-visible ont montré que les longueurs d'onde maximales enregistrées étaient respectivement de 262 nm, 440 nm, 300 nm, 293 nm et 438 nm pour les températures de 20, 30, 40, 50 et 60 °C. Les valeurs obtenues à 30 et 60 °C se situent dans la gamme caractéristique des nanoparticules d'argent, indiquant une bonne synthèse des AgNPs.



**Figure 16.** Changement de couleur et spectres d'absorption UV-Vis des AgNPs biosynthétisées par la souche L10 à différentes valeurs de Température (20 - 60 °C).

À partir des résultats de l'optimisation, les conditions optimales pour chaque souche varient d'un micro-organisme à l'autre, conférant à chacun d'eux des caractéristiques biologiques uniques qui dictent leurs propres exigences environnementales et chimiques.

Concernant la biosynthèse des nanoparticules d'argent par la souche L3, les résultats d'optimisation indiquent que les conditions idéales de production sont obtenues à une concentration en précurseur  $\text{AgNO}_3$  de 2 mM. De plus, cette souche montre une efficacité maximale dans un milieu neutre à légèrement alcalin, avec un pH compris entre 7 et 8, et sous des conditions thermiques flexibles allant de 30 à 60 °C. Ces paramètres favorisent la synthèse des AgNPs.

Pour ce qui concerne la souche L6, le processus de biosynthèse des AgNPs s'avère optimal à une concentration stable de 2 mM à 5 mM. Contrairement à la souche précédente, L6 exige un contrôle strict du potentiel hydrogène, se stabilisant à un pH neutre (pH 7). En revanche, elle présente une excellente tolérance thermique, permettant une réaction efficace sur une large plage de température oscillant entre 30 et 60 °C.

Enfin, la souche L10 se distingue par une plus grande adaptabilité face aux variations de concentration du milieu, avec une plage optimale s'étendant de 1 mM à 5 mM pour la réduction des ions d'argent  $\text{Ag}^+$ . La cinétique de formation des AgNPs par cette souche est maximisée dans des conditions de pH allant de 6 à 7 (milieu légèrement acide à neutre), et ce, pour des températures de réaction maintenues entre 30 et 60 °C.

## **DISCUSSION**

## Discussion

L'observation visuelle de l'incubation du surnageant de culture avec le nitrate d'argent dans l'obscurité a montré un changement de couleur vers le brun foncé. Ce changement est caractéristique de la formation de nanoparticules d'argent (AgNPs), résultant de la réduction des ions d'argent dans la solution. Il est également attribué à l'excitation de la résonance plasmonique de surface (SPR) des AgNPs présentes dans le mélange réactionnel (El-Wafa & Abd El-All, 2018). En revanche, aucun changement de couleur n'a pu être démontré dans les témoins (le surnageant de culture seul ou le milieu contenant uniquement du nitrate d'argent). Cela prouve que les composants biologiques de la souche sont les seuls responsables du processus de réduction, excluant ainsi tout risque de décomposition spontanée du nitrate d'argent. Ces observations ont été précédemment rapportées par de nombreux chercheurs portant sur la biosynthèse d'AgNPs utilisant les surnageants de culture de *Streptomyces* (Saravana Kumar *et al.*, 2015; Abd-Elnaby *et al.*, 2016; Wypij *et al.*, 2018; Ss *et al.*, 2021; Pallavi *et al.*, 2022).

Il a été communément supposé que la biosynthèse des nanoparticules métalliques soit corrélée à la capacité des micro-organismes à tolérer les métaux lourds. Bien que le mécanisme exact ne soit pas encore entièrement compris, il a été suggéré que les extraits microbiens pourraient contenir des biomolécules telles que des polyphénols, des polysaccharides, des protéines, des vitamines et des enzymes ayant le potentiel de réduire les sels d'argent et de les convertir en AgNPs (Abd El-Ghany *et al.*, 2023). De plus, une étude récente a prouvé la capacité du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) à agir comme un agent réducteur unique pour la formation des AgNPs (Hietzschold *et al.*, 2019).

L'indication initiale de la synthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) a été observée par le changement de couleur du mélange réactionnel vers le brun foncé. La confirmation ultérieure a été déterminée par l'obtention de pics d'absorption nets via un spectrophotomètre UV-Vis. (SECOMAM UviLine 9400). La spectroscopie UV-Visible est, en effet, l'une des techniques les plus largement utilisées pour la caractérisation structurale des nanoparticules (Annamalai et Nallamuthu, 2016). La présence d'un pic d'absorbance dans la gamme de 350 nm à 550 nm indique clairement la formation d'AgNPs en solution (Naje, 2017). Cette technique est très couramment utilisée pour obtenir des informations sur la résonance plasmonique des NPs, confirmer leur formation et estimer approximativement leur taille (Alim-Al-Razy *et al.*, 2020).

La bande de résonance plasmon de surface localisée (LSPR) caractérise le spectre optique des nanoparticules métalliques. La LSPR est une oscillation collective de la densité électronique à l'interface métal/milieu, résultant des interactions entre les photons incidents et les nanoparticules, lesquelles induisent un champ électrique à ladite interface. Le pic de LSPR se produit lorsque la fréquence des photons incidents correspond à la fréquence propre des plasmons de surface ; cela se manifeste par un maximum dans le spectre d'absorption (Alzoubi *et al.*, 2023).

En plus de détecter les changements de l'indice de réfraction du milieu local, d'autres méthodes de détection impliquent l'analyse de l'agrégation des nanomatériaux dispersés. Les particules agrégées apparaissent à des longueurs d'onde plus longues (décalage vers le rouge) et le pic s'élargit. Selon les conditions de l'échantillon, ces agrégats peuvent être suffisamment petits pour ne pas diffuser la lumière ou suffisamment grands pour produire un artefact de diffusion large dans la région UV-Visible. Comme il est connu que les particules diffusent la lumière, on peut souvent observer une large caractéristique d'absorption apparente non linéaire à travers le spectre UV-Visible (Thermo Fisher Scientific, 2015).

Dans cette étude, les spectres d'absorption UV-Vis révèlent la formation de nanoparticules d'argent en présentant un maximum d'absorption de résonance plasmonique de surface (SPR) à 340, 355, 365, 390, 400, 425, 440 et 455 nm. Cela confirme la synthèse des AgNPs à partir du surnageant des souches d'*Actinomycetota*, avec une taille allant de 2 à 100 nm (Singh *et al.*, 2015; El-Wafa & Abd El-All, 2018). Des résultats similaires ont été observés lors de la biosynthèse d'AgNPs en utilisant les filtrats de culture de *Streptomyces* (Al-Dhabi *et al.*, 2018; Fouda *et al.*, 2020; Khalil *et al.*, 2022).

Bien que nous n'ayons pas pu effectuer d'analyses par microscopie électronique pour caractériser directement la morphologie de nos particules, les recherches antérieures sur des souches similaires fournissent des indications précieuses. À cet égard, El-Naggar *et al.* (2016) ont démontré que les AgNPs synthétisées par le surnageant de *Streptomyces* sp. SSHH-1E étaient majoritairement de forme sphérique. El-Wafa & Abd El-All, (2018) ont également révélé que les AgNPs biosynthétisées par *Streptomyces* sp. étaient sphériques avec une taille allant de 20 à 100 nm. De même, Pallavi *et al.* (2021) ont rapporté que les AgNPs biogéniques produites par *Streptomyces* sp. PG12 étaient sphériques, polydispersées et mesuraient entre 20

et 50 nm. D'autres travaux (Guzmán *et al.*, 2009; Sivasankar *et al.*, 2018; Alam *et al.*, 2021; Elsilk *et al.*, 2022) confirment cette tendance vers des formes sphériques pour les nanoparticules issues de *Streptomyces*.

Selon la littérature, les AgNPs sphériques ne présentent qu'une seule bande de résonance plasmon de surface (SPR). Des études antérieures ont révélé que la position du pic LSPR subit un décalage vers le rouge (red shift) de 390 à 460 nm suite à l'augmentation de la taille, ce qui est caractéristique des nanoparticules d'argent monodispersées ayant un diamètre moyen inférieur à 100 nm (Alzoubi *et al.*, 2023).

D'après les études rapportées précédemment, les nanoparticules d'*Actinomyces* possèdent une activité antimicrobienne puissante (Saravana Kumar *et al.*, 2015), dans la présente étude, les AgNPs synthétisés ont également démontré une activité antimicrobienne contre toutes les microorganismes testées. Les résultats ont montré une forte activité antimicrobienne contre *Candida albicans*, suivie d'une activité modérée contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Aspergillus flavus*, et d'une faible activité contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Greenwood, 2007).

L'analyse comparative des différentes souches révèle une variabilité d'efficacité marquée :

La souche L3 : Elle s'est distinguée par le spectre d'action le plus large et l'activité la plus puissante, parvenant à inhiber la croissance de l'ensemble des micro-organismes testés. Elle a enregistré des zones d'inhibition majeures, notamment contre *Candida albicans* (20.67 mm) et *Aspergillus flavus* (13.3 mm), confirmant son fort potentiel biocontrolleur.

La souche L10 : Son efficacité est plus sélective, ne montrant une activité que contre deux pathogènes : la levure *Candida albicans* et la bactérie Gram-positif *Staphylococcus aureus*. Elle reste cependant totalement inactive face à *Pseudomonas aeruginosa* et *Aspergillus flavus*.

La souche L6 : Elle présente l'activité la plus faible de la série, n'agissant exclusivement que sur *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 17.33 mm, tout en étant incapable d'inhiber les autres souches testées. Il est bien connu que l'activité antimicrobienne des nanoparticules métalliques dépend de leur taille et de leur forme ainsi que de leur stabilité. Plusieurs rapports ont révélé que le potentiel antibactérien des AgNPs est plus efficace contre les bactéries à Gram positif comparativement aux bactéries à Gram négatif en raison de leur structure de paroi cellulaire (Pallavi *et al.*, 2022).

Nos résultats corroborent plusieurs études antérieures portant sur les *Actinomycetota*. À titre d'exemple, les bio-AgNPs synthétisées par une souche acidophile d' *Actinomycetota*, isolée d'un sol forestier de *Picea sitchensis*, ont montré une inhibition significative de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus* (Railean-Plugaru *et al.*, 2016). Selon Alam *et al.* (2021) les AgNPs Biosynthèse à partir d'*Actinomycetota* marines ont révélé une efficacité contre *P. aeruginosa*. Par ailleurs, les nanoparticules d'argent produites par les souches *Streptomyces rochei* MHM13 (Abd-Elnaby *et al.*, 2016), *Streptomyces violaceus* MM72 (Sivasankar *et al.*, 2018) et la souche marine *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-89 (Al-Dhabi *et al.*, 2018) ont toutes révélé une activité antimicrobienne potentielle contre des pathogènes cliniquement importants, notamment *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Les chercheurs suggèrent trois mécanismes principaux pour l'activité antimicrobienne des AgNPs, à savoir : la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), le processus de libération d'ions, et les mécanismes non oxydatifs. L'efficacité d'un mécanisme non oxydatif, ou "mort par contact", dépend de la surface de contact et du rapport surface/volume. Certains auteurs ont démontré qu'une surface spécifique élevée permet d'accentuer l'effet antimicrobien. De plus, l'état de charge des nanoparticules a également un impact significatif sur leur affinité avec les membranes cellulaires bactériennes et sur leur pénétration ultérieure à l'intérieur des bactéries (Guzmán *et al.*, 2009). L'exposition des micro-organismes aux AgNPs provoque des changements irréversibles dans la structure de la paroi cellulaire entraînant sa rupture et affecte l'intégrité de la bicouche lipidique, la perméabilité de la membrane cellulaire et la régulation appropriée de l'activité de transport à travers le plasma. L'augmentation de la perméabilité membranaire peut entraîner des effets plus prononcés tels que la perte par fuite des contenus cellulaires. Les AgNP peuvent en outre pénétrer à l'intérieur de la cellule microbienne et interagissent avec les structures cellulaires et les biomolécules telles que les protéines, les lipides et l'ADN ce qui conduit finalement à la mort de la cellule (Wypij *et al.*, 2018; Ss *et al.*, 2021). En outre, Plusieurs modes d'action possibles ont été élucidés concernant l'activité antifongique des AgNPs. Cette activité pourrait être attribuée à leur fixation à la paroi cellulaire et à leur ancrage dans les membranes, causant des dommages aux protéines de surface ainsi que le blocage des pompes à protons. Par ailleurs, l'accumulation extracellulaire des AgNPs libère de manière dynamique des ions  $Ag^+$  qui pénètrent dans la cellule, entraînant une accumulation des ROS. Ces dernières affectent les réactions de transport d'électrons, déclenchant ainsi l'apoptose (Barros *et al.*, 2021).

Ces changements morphologiques induits par les AgNPs, notamment chez *C. albicans*, ont été observés au microscope électronique à balayage (MEB) par (from Marine & Sciences, 2018) alors que les cellules non traitées présentaient une forme sphérique, une paroi cellulaire lisse et une membrane plasmique intacte. Cependant, après traitement avec les AgNPs, il est observé des dommages membranaires ainsi que la formation de pores (puits), entraînant une fuite des composants intracellulaires et finalement, la mort de la cellule. Par ailleurs, plusieurs études confirment cette efficacité inhibitrice. Les AgNPs biosynthétisées par *Streptomyces hygroscopicus* inhibent de manière significative la croissance de *Candida albicans* (Sadhasivam *et al.*, 2010). De même, celles synthétisées via *Streptomyces* sp. VITPK1 ont montré une activité anticandidale marquée contre *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. krusei*, avec une zone d'inhibition maximale observée chez *C. albicans* (Sanjenbam *et al.*, 2014). Dans la même lignée, Abd El-Ghany *et al.* (2023) ont prouvé que les AgNPs biogéniques produits par des *Actinomycètes* rares du sol exercent une activité antifongique efficace contre *Aspergillus flavus* et *Aspergillus ochraceus*.

Les résultats de l'optimisation montrent que la biosynthèse des nanoparticules d'argent dépend fortement des paramètres physicochimiques. En effet, chaque souche présente des conditions optimales spécifiques liées à son activité métabolique et enzymatique. Concernant la concentration en  $\text{AgNO}_3$ , les essais menés avec la souche L3 montrent que l'augmentation de la concentration de 1 mM à 2 mM a entraîné une hausse de la synthèse des AgNPs. En revanche, celle-ci a diminué lorsque la concentration est passée de 3 mM à 5 mM. Ainsi, la concentration de 2 mM a été sélectionnée comme optimale. Comme l'explique cette étude, l'excès de  $\text{AgNO}_3$  entraîne une diminution de la production, car le dépassement du niveau optimal dénature les protéines, ce qui freine le processus de réduction et inhibe la synthèse (Javed *et al.*, 2020). Cette idée est également confirmée par le fait que les souches n'ont pas pu tolérer les quantités excessives d'ions  $\text{Ag}^+$  dans le milieu (Mechouche *et al.*, 2022). En ce qui concerne les souches L10 et L6, les résultats de l'optimisation ont montré qu'une augmentation de la concentration en  $\text{AgNO}_3$  entraîne une hausse de la biosynthèse des nanoparticules d'argent, comme cela a été rapporté dans l'étude de Mechouche *et al.* (2022).

Pour le pH, les études d'optimisation ont révélé que le pH 7.0 constituait la valeur optimale commune de toutes les souches pour la production maximale d'AgNPs. Dans le détail, la souche L10 a montré une activité optimale dans une plage de pH 6.0 à 7.0, la souche L3 s'est stabilisée à un pH neutre de 7.0, tandis que la souche L6 s'est développée efficacement dans un intervalle

allant du pH neutre au pH alcalin pH 7.0 à 8.0. Globalement, les résultats ont indiqué que le milieu neutre pH 7.0 était le plus adapté à la biosynthèse des AgNPs par rapport aux milieux nettement acides ou alcalins, car le taux de réduction des ions argent y était maximal (Abdelmoneim *et al.*, 2022). Cependant, d'autres chercheurs ont rapporté de manière divergente que des conditions strictement acides (Thamilselvi & Radha, 2013) ou alcalines (Iqtedar *et al.*, 2019) constituaient les conditions optimales pour la biosynthèse des AgNPs, selon les agents biologiques utilisés.

En ce qui concerne la température, les résultats obtenus avec la souche L3 montrent qu'entre 30 et 60 °C, l'augmentation de la température entraîne une hausse progressive de la biosynthèse des nanoparticules d'argent. Ces résultats concordent avec ceux de Mechouche *et al.* (2022), où ils ont constaté qu'au-delà de cette plage, notamment entre 60 et 90 °C, une température trop élevée favorise la synthèse et l'agglomération des AgNPs. Quant aux souches L6 et L10, les résultats montrent que les températures optimales pour la biosynthèse sont 30 et 60 °C. Plusieurs études confirment que la température optimale de la biosynthèse se situe à 30 °C (Baygar & Ugur, 2017). De ce fait, l'étude de Mechouche *et al.* (2022) démontre d'autre part qu'une température de 30 °C s'est avéré optimale pour la synthèse de NPs métalliques stables. Ainsi, 60 °C a été sélectionné comme température optimale, ce qui correspond aux résultats de l'étude de Javed *et al.* (2020).

Enfin, cette étude confirme que les *Actinomycetota* sont des agents bioréducteurs naturels puissants et constituent une alternative prometteuse pour la synthèse verte des NPs. La formation réussie de ces bio-AgNPs, validée par spectroscopie UV-visible, a permis d'obtenir des nanoparticules dotées de propriétés antimicrobiennes ouvrant des perspectives sérieuses dans la lutte contre les pathogènes multi-résistants. Il convient de souligner que l'accès à des techniques de caractérisation plus avancées permettrait d'approfondir l'étude de leurs propriétés physico-chimiques et d'affiner davantage les comparaisons. Néanmoins, l'appui des études antérieures nous a permis de confronter nos résultats et d'avancer des interprétations solides ainsi que certaines corrélations prometteuses.

## **CONCLUSION**

## Conclusion

En conclusion, ce travail de recherche a permis de mettre en évidence le potentiel remarquable et écoresponsable des isolats d'*Actinomycetota* dans le domaine de la nanobiotechnologie, plus précisément pour la biosynthèse verte de nanoparticules d'argent. Les analyses par spectrophotométrie UV-Visible ont confirmé la formation des AgNPs à travers l'apparition des pics caractéristiques de la résonance plasmonique de surface, attestant ainsi de la réussite du processus de biosynthèse. Les résultats obtenus confirment que les souches testées agissent comme des agents bioréducteurs et stabilisateurs efficaces, capables de synthétiser des nanomatériaux par voie intra et extracellulaire selon un procédé simple et facilement industrialisable. De plus, les essais d'optimisation ont démontré que le rendement de production dépend fortement des paramètres physicochimiques, notamment la concentration en nitrate d'argent, la température et le pH. Cette synthèse biologique apparaît ainsi comme un mécanisme finement régulé et dépendant de la souche. Les conditions optimales varient d'une souche à une autre en fonction de leurs caractéristiques biologiques et de leur activité enzymatique spécifique. Toutefois, un pH neutre (7,0), associé à une température modérée comprise entre 30 et 60 °C et à une concentration optimale en AgNO<sub>3</sub>, constitue les conditions les plus favorables pour maximiser le rendement tout en préservant l'intégrité des protéines enzymatiques responsables de la réduction. Sur le plan biologique, les AgNPs biosynthétisées ont confirmé leur activité antimicrobienne, avec une efficacité variable selon les souches pathogènes testées, une sensibilité maximale observée chez la levure pathogène *Candida albicans* et une résistance relative chez *Pseudomonas aeruginosa*. Parmi les isolats évalués, la souche L3 s'est particulièrement distinguée par un spectre d'action large et une activité antimicrobienne importante. Ces conclusions scientifiques soutiennent ainsi l'utilisation de ces nanoparticules vertes comme une alternative thérapeutique innovante et crédible face à la problématique mondiale croissante de la résistance aux antimicrobiens.

Afin d'approfondir et de valoriser les acquis de cette étude, plusieurs axes de recherche peuvent être envisagés pour l'avenir :

1. Caractérisation structurale approfondie : compléter l'analyse UV-Visible par d'autres techniques de pointe, telles que la microscopie électronique à balayage ou à transmission (MEB/MET), afin de déterminer la taille exacte et la morphologie des AgNPs, ainsi que la diffraction des rayons X (DRX) pour confirmer leur nature cristalline.

2. Identification moléculaire : procéder à l'identification génétique des souches les plus performantes, en particulier la souche L3, par le séquençage de l'ARN ribosomique 16S afin de déterminer précisément leur position taxonomique.
3. Élaboration du mécanisme enzymatique : identifier et purifier les enzymes extracellulaires, notamment les nitrates réductases, impliquées dans le processus de bioreduction de l'argent.
4. Évaluation de la cytotoxicité et de l'innocuité : réaliser des tests de toxicité cellulaire in vitro sur des lignées cellulaires humaines ou animales afin d'évaluer la biocompatibilité et la sécurité de ces nanoparticules avant toute application médicale ou pharmaceutique.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références Bibliographiques

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

Abd El-Ghany, M. N., Hamdi, S. A., Korany, S. M., Elbaz, R. M., Emam, A. N., & Farahat, M. G. J. M. (2023). Biogenic silver nanoparticles produced by soil rare actinomycetes and their significant effect on *Aspergillus*-derived mycotoxins. *11*(4), 1006.

Abdelmoneim, H. M., Taha, T. H., Elnouby, M. S., & AbuShady, H. M. J. M. c. f. (2022). Extracellular biosynthesis, OVAT/statistical optimization, and characterization of silver nanoparticles (AgNPs) using *Leclercia adecarboxylata* THHM and its antimicrobial activity. *21*(1), 277.

AboElmaaty, S., Shati, A., Alfaifi, M., Elbehairi, S., Sheraba, N., Hassan, M., & Gabr, E. (2023). Biofilm inhibitory activity of actinomycete-synthesized AgNPs with low cytotoxic effect: experimental and in silico study. *Microorganisms* *11* (1): 102. In.

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L., & Ikram, S. J. J. o. a. r. (2016). A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise. *7*(1), 17-28.

Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A.-K. M., Arasu, M. V., Duraipandiyar, V. J. J. o. P., & Biology, P. B. (2018). Green biosynthesis of silver nanoparticles produced from marine *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-89 and their potential applications against wound infection and drug resistant clinical pathogens. *189*, 176-184.

Alam, A., Tanveer, F., Khalil, A. T., Zohra, T., Khamlich, S., Alam, M. M., Salman, M., Ali, M., Ikram, A., & Shinwari, Z. K. J. A. V. L. (2021). Silver nanoparticles biosynthesized from secondary metabolite producing marine actinobacteria and evaluation of their biomedical potential. *114*(10), 1497-1516.

Alim-Al-Razy, M., Asik Bayazid, G., Rahman, R. U., Bosu, R., & Shamma, S. S. (2020). Silver nanoparticle synthesis, UV-Vis spectroscopy to find particle size and measure resistance of colloidal solution. *Journal of Physics: Conference Series*,

Alzoubi, F., Ahmad, A. A., Aljarrah, I. A., Migdadi, A., & Al-Bataineh, Q. M. J. J. o. M. S. M. i. E. (2023). Localize surface plasmon resonance of silver nanoparticles using Mie theory. *34*(32), 2128.

Arsalan, A., & Younus, H. J. I. j. o. b. m. (2018). Enzymes and nanoparticles: Modulation of enzymatic activity via nanoparticles. *118*, 1833-1847.

Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., van Wezel, G. P. J. M., & reviews, m. b. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *80*(1), 1-43.

Barros, D., Pradhan, A., Pascoal, C., & Cássio, F. J. E. P. (2021). Transcriptomics reveals the action mechanisms and cellular targets of citrate-coated silver nanoparticles in a ubiquitous aquatic fungus. *268*, 115913.

- Baygar, T., & Ugur, A. J. I. n. (2017). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Streptomyces griseorubens* isolated from soil and their antioxidant activity. *11*(3), 286-291.
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. J. F. i. m. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *7*, 1831.
- Das, R. K., Pachapur, V. L., Lonappan, L., Naghdi, M., Pulicharla, R., Maiti, S., Cledon, M., Dalila, L. M. A., Sarma, S. J., & Brar, S. K. J. N. f. E. E. (2017). Biological synthesis of metallic nanoparticles: plants, animals and microbial aspects. *2*(1), 18.
- Demain, A. L., & Sanchez, S. J. T. J. o. a. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *62*(1), 5-16.
- Demydov, P., Lopatynskiy, A., Hudzenko, I., & Chegel, V. J. S. P. Q. E. O. (2021). The approaches for localized surface plasmon resonance wavelength position tuning. Short review. *24*, 304-311.
- Dikshit, P. K., Kumar, J., Das, A. K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., Gupta, P. K., & Kim, B. S. J. C. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles: applications and limitations. *11*(8), 902.
- El-Naggar, N. E.-A., Mohamedin, A., Hamza, S. S., & Sherief, A.-D. J. J. o. N. (2016). Extracellular Biofabrication, Characterization, and Antimicrobial Efficacy of Silver Nanoparticles Loaded on Cotton Fabrics Using Newly Isolated *Streptomyces* sp. SSHH-1E. *2016*(1), 3257359.
- El-Seedi, H. R., El-Shabasy, R. M., Khalifa, S. A., Saeed, A., Shah, A., Shah, R., Iftikhar, F. J., Abdel-Daim, M. M., Omri, A., & Hajrahand, N. H. J. R. a. (2019). Metal nanoparticles fabricated by green chemistry using natural extracts: Biosynthesis, mechanisms, and applications. *9*(42), 24539-24559.
- El-Wafa, W. M. A., & Abd El-All, W. S. M. (2018). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Egyptian *Streptomyces*–WNE Isolate and Evaluation Their Antibacterial Activity Alone and in Combination with Antibiotic.
- Elsilk, S. E., Khalil, M. A., Aboshady, T. A., Alsalmi, F. A., & Ali, S. S. J. M. (2022). *Streptomyces rochei* MS-37 as a novel marine actinobacterium for green biosynthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications. *27*(21), 7296.
- Fadhil, A., Elamin, K. M., Mohammed, A. F. A., Mahmoud, S. A., & Wathoni, N. J. O. (2025). Study of Various Forms of Propolis Nanoparticles and Their Antibacterial Effectiveness. 100276.
- Fahimmunisha, B. A., Ishwarya, R., AlSalhi, M. S., Devanesan, S., Govindarajan, M., Vaseeharan, B. J. J. o. D. D. S., & Technology. (2020). Green fabrication, characterization and antibacterial potential of zinc oxide nanoparticles using *Aloe socotrina* leaf extract: A novel drug delivery approach. *55*, 101465.
- Fouda, A., Hassan, S. E.-D., Abdo, A. M., & El-Gamal, M. S. J. B. T. E. R. (2020). Antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities of spherical silver nanoparticles synthesized by endophytic *Streptomyces* spp. *195*(2), 707-724.

- from Marine, N. J. A. S. R. J. f. E., Technology,, & Sciences. (2018). Biosynthesis, Characterization, Optimization of Silver Nanoparticles from Marine *S. griseoflavus* and Their Role in Improving Antibiotic Susceptibility of Multidrug Resistance Pathogenic Fungi. *46*(1), 160-177.
- Greenwood, D. (2007). Antimicrobial chemotherapy. Oxford University Press.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Kwon, D.-N., & Kim, J.-H. J. N. r. l. (2014). Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *9*(1), 373.
- Guzmán, M. G., Dille, J., & Godet, S. J. I. J. C. B. E. (2009). Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *2*(3), 104-111.
- Helmlinger, J., Sengstock, C., Groß-Heitfeld, C., Mayer, C., Schildhauer, T. A., Köller, M., & Epple, M. J. R. a. (2016). Silver nanoparticles with different size and shape: equal cytotoxicity, but different antibacterial effects. *6*(22), 18490-18501.
- Hietzschold, S., Walter, A., Davis, C., Taylor, A. A., Sepunaru, L. J. A. S. C., & Engineering. (2019). Does nitrate reductase play a role in silver nanoparticle synthesis? Evidence for NADPH as the sole reducing agent. *7*(9), 8070-8076.
- Iqtedar, M., Aslam, M., Akhyar, M., Shehzaad, A., Abdullah, R., Kaleem, A. J. P. B., & Biotechnology. (2019). Extracellular biosynthesis, characterization, optimization of silver nanoparticles (AgNPs) using *Bacillus mojavensis* BTCB15 and its antimicrobial activity against multidrug resistant pathogens. *49*(2), 136-142.
- Javed, B., Nadhman, A., & Mashwani, Z.-u.-R. J. M. r. e. (2020). Optimization, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles against plant bacterial pathogens phyto-synthesized by *Mentha longifolia*. *7*(8), 085406.
- Jeevanandam, J., Chan, Y. S., & Danquah, M. K. J. C. R. (2016). Biosynthesis of metal and metal oxide nanoparticles. *3*(2), 55-67.
- Jiravova, J., Tomankova, K. B., Harvanova, M., Malina, L., Malohlava, J., Luhova, L., Panacek, A., Manisova, B., Kolarova, H. J. F., & toxicology, c. (2016). The effect of silver nanoparticles and silver ions on mammalian and plant cells in vitro. *96*, 50-61.
- Kato, Y., & Suzuki, M. J. C. (2020). Synthesis of metal nanoparticles by microorganisms. *10*(7), 589.
- Khalil, M. A., El-Shanshoury, A. E.-R. R., Alghamdi, M. A., Sun, J., & Ali, S. S. J. F. i. M. (2022). *Streptomyces catenulae* as a novel marine actinobacterium mediated silver nanoparticles: characterization, biological activities, and proposed mechanism of antibacterial action. *13*, 833154.
- Kharissova, O. V., Kharisov, B. I., Oliva Gonzalez, C. M., Méndez, Y. P., & López, I. J. R. S. o. s. (2019). Greener synthesis of chemical compounds and materials. *6*(11).
- Kreuter, J. J. I. j. o. p. (2007). Nanoparticles—a historical perspective. *331*(1), 1-10.

- Lee, L.-H., Goh, B.-H., & Chan, K.-G. J. F. i. M. (2020). Actinobacteria: prolific producers of bioactive metabolites. In (Vol. 11, pp. 1612): Frontiers Media SA.
- Mařátková, O., Michailidu, J., Miřkovská, A., Kolouchová, I., Masák, J., & řejková, A. J. B. a. (2022). Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods. *58*, 107905.
- Mechouche, M. S., Merouane, F., Messaad, C. E. H., Golzadeh, N., Vasseghian, Y., & Berkani, M. J. E. R. (2022). Biosynthesis, characterization, and evaluation of antibacterial and photocatalytic methylene blue dye degradation activities of silver nanoparticles from *Streptomyces tuirus* strain. *204*, 112360.
- Moulay Omar Ikram Wafaa et Zahouani Ibtissam. (2024). Recherche dans des sols sahariens d'actinobactéries possédant des activités antifongiques. Mémoire de Master en Microbiologie appliquée, Université de Ghardaïa, Ghardaïa, Algérie.
- Mukha, I. P., Eremenko, A., Smirnova, N., Mikhienkova, A., Korchak, G., Gorchev, V., Chunikhin, A. Y. J. A. b., & microbiology. (2013). Antimicrobial activity of stable silver nanoparticles of a certain size. *49(2)*, 199-206.
- Naje, A. N. J. I. J. o. S. (2017). Surface plasmon resonance study of Ag nanoparticles colloidal. *2090-2097*.
- Nanda, A., Saravanan, M. J. N. N., Biology, & Medicine. (2009). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *5(4)*, 452-456.
- Narayanan, K. B., Sakthivel, N. J. A. i. c., & science, i. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *156(1-2)*, 1-13.
- Nayak, D., Ashe, S., Rauta, P. R., Kumari, M., Nayak, B. J. M. S., & C, E. (2016). Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. *58*, 44-52.
- Pallavi, S., Bhat, M., & Nayaka, S. J. I. J. P. P. S. (2021). Microbial synthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces* sp. PG12 and their characterization, antimicrobial activity and cytotoxicity assessment against human lung (A549) and breast (MCF-7) cancer cell lines. *13*, 94-102.
- Pallavi, S., Rudayni, H. A., Bepari, A., Niazi, S. K., & Nayaka, S. J. S. j. o. b. s. (2022). Green synthesis of Silver nanoparticles using *Streptomyces hirsutus* strain SNPGA-8 and their characterization, antimicrobial activity, and anticancer activity against human lung carcinoma cell line A549. *29(1)*, 228-238.
- Pravallika, P. L., Mohan, G. K., Rao, K. V., & Shanker, K. J. M. L. (2019). Biosynthesis, characterization and acute oral toxicity studies of synthesized iron oxide nanoparticles using ethanolic extract of *Centella asiatica* plant. *236*, 256-259.
- Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., Wypij, M., Szultka-Mlynska, M., Rafinska, K., Golinska, P., Dahm, H., & Buszewski, B. J. J. o. A. M. (2016). Study of silver nanoparticles synthesized by acidophilic strain of Actinobacteria isolated from the of *Picea sitchensis* forest soil. *120(5)*, 1250-1263.

- Saad, E., Salem, S. S., Fouda, A., Awad, M. A., El-Gamal, M. S., Abdo, A. M. J. J. o. R. R., & Sciences, A. (2018). New approach for antimicrobial activity and bio-control of various pathogens by biosynthesized copper nanoparticles using endophytic actinomycetes. *11(3)*, 262-270.
- Sadhasivam, S., Shanmugam, P., Yun, K. J. C., & Biointerfaces, S. B. (2010). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Streptomyces hygroscopicus* and antimicrobial activity against medically important pathogenic microorganisms. *81(1)*, 358-362.
- Salem, S. S., & Fouda, A. J. B. t. e. r. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *199(1)*, 344-370.
- Sanjenbam, P., Gopal, J., & Kannabiran, K. J. J. d. m. m. (2014). Anticandidal activity of silver nanoparticles synthesized using *Streptomyces* sp. VITPK1. *24(3)*, 211-219.
- Saravana Kumar, P., Balachandran, C., Duraipandiyan, V., Ramasamy, D., Ignacimuthu, S., & Al-Dhabi, N. A. J. A. N. (2015). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticle using *Streptomyces* sp. 09 PBT 005 and its antibacterial and cytotoxic properties. *5(2)*, 169-180.
- Shahverdi, A. R., Fakhimi, A., Shahverdi, H. R., Minaian, S. J. N. N., Biology, & Medicine. (2007). Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *3(2)*, 168-171.
- Shnoudeh, A. J., Hamad, I., Abdo, R. W., Qadumii, L., Jaber, A. Y., Surchi, H. S., & Alkelany, S. Z. (2019). Synthesis, characterization, and applications of metal nanoparticles. In *Biomaterials and bionanotechnology* (pp. 527-612). Elsevier.
- Singh, P., Garg, A., Pandit, S., Mokkapati, V., & Mijakovic, I. J. N. (2018). Antimicrobial effects of biogenic nanoparticles. *8(12)*, 1009.
- Singh, P., Kim, Y.-J., Zhang, D., & Yang, D.-C. J. T. i. b. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *34(7)*, 588-599.
- Singh, R., Shedbalkar, U. U., Wadhvani, S. A., Chopade, B. A. J. A. m., & biotechnology. (2015). Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. *99(11)*, 4579-4593.
- Sivasankar, P., Seedeivi, P., Poongodi, S., Sivakumar, M., Murugan, T., Sivakumar, L., Sivakumar, K., & Balasubramanian, T. J. C. p. (2018). Characterization, antimicrobial and antioxidant property of exopolysaccharide mediated silver nanoparticles synthesized by *Streptomyces violaceus* MM72. *181*, 752-759.
- Składanowski, M., Wypij, M., Laskowski, D., Golińska, P., Dahm, H., & Rai, M. J. J. o. C. S. (2017). Silver and gold nanoparticles synthesized from *Streptomyces* sp. isolated from acid forest soil with special reference to its antibacterial activity against pathogens. *28(1)*, 59-79.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. J. J. o. n. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *15(1)*, 65.
- Ss, P., Bhat, M., & Nayaka, S. J. C. C. L. (2021). Microbial synthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces* Sp. Pg12 and their characterization, antimicrobial activity and cytotoxicity assessment against human lung (A549) and breast (Mcf-7).

Tang, S., & Zheng, J. J. A. h. m. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *7*(13), 1701503.

Thamilselvi, V., & Radha, K. J. A. J. M. B. E. S. (2013). Comparative study for biosynthesis of silver nanoparticles from *Pseudomonas putida* NCIM 2650. *15*, 717-723.

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

Wang, L., Hu, C., & Shao, L. J. I. j. o. n. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. 1227-1249.

Wypij, M., Czarnecka, J., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M., Golinska, P. J. W. J. o. M., & Biotechnology. (2018). Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Streptomyces xinghaiensis* OF1 strain. *34*(2), 23.

| **ANNEXE**



Ghardaïa le : 25/06/2026

## Rapport : Correction du mémoire

Enseignant (e) ( s) Chargé (e) de la correction :

Nom et prénom de l'encadreur et Signature	Nom et prénom de l'examineur et Signature	Nom et prénom de président et Signature
BELGHIT Said 	BOURAS Noureddine 	MAIDI Leila 

### Thème :

Recherche des Actinomycetota contribuant à la biosynthèse des nanoparticules d'argent pour des applications antimicrobiennes.

Après les corrections apportées au mémoire, L (es) 'étudiant (s) (es) :

- ABBAS Maria
- TEBBAKH Bouchra

Est (sont) autorisé (es) à déposer le manuscrit au niveau du département.

Président du jury

