

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée
Thème

**Recherche de propriétés antibactériennes dans les gousses de
*Ceratonia siliqua***

Présenté Par :

- 1) Melle. Souhila Benali
- 2) Melle. Nour el Houda mama Messaoudi

Devant le jury composé de :

Dr. Amina OUADDAH	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent) Examineur 1
Dr. Hadjira Abdellaoui	MAA	UAT.B.B (Ain Temouchent) Examineur2
Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent) Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

On profite de cette occasion à remercier **Dieu le tout puissant** qui nous a donné la patience, la santé et le courage de mener ce travail à terme.

Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadrant, **Mr. Sofiane Mourad BENYAMINA** de nous avoir encadrés et encouragés tout au long de la réalisation de ce mémoire, pour sa patience et ses précieux conseils ainsi que la pertinence de ses remarques. et le temps qu'il a consacré. Nous exprimons nos respectueux dévouements à **Madame Ouaddah**, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

A **Madame Abdellaoui** pour nous avoir accordée de son temps, pour sa précieuse contribution à notre formation et d'avoir aimablement accepté d'examiner ce mémoire.

Nos vifs remerciements du fond du cœur à nos chers parents et à notre famille sans exception pour leurs priers, le soutien moral et leurs encouragements.

Enfin, nos remerciements s'adresse également à nos professeurs qui ont contribué à notre formation durant nos années d'études, leurs générosité et les ingénieurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet qui compte tant pour nous., sans oublier tous nos ami(e)s de la promo 2021.

Messaoudi Nour El houda

Benali Souhila

Sommaire

Introduction générale.....

Synthèse bibliographique

1	Les propriétés biologiques	2
2	Mode d'action des antibiotiques	3
3	Les propriétés antimicrobiennes chez les organismes vivants	4
3.1	Les propriétés antimicrobiennes chez les microorganismes.....	5
3.2	Les propriétés antimicrobiennes chez les animaux	6
3.3	Les propriétés antimicrobiennes des végétaux	8
4	La plante <i>Ceratonia siliqua</i>	11

Matériel et méthodes

1	Collecte du matériel végétal.....	15
2	Préparation des milieux de cultures	16
2.1	Préparation du Bouillon Nutritive (BN) et de la Gélose Nutritive (GN).....	16
2.2	Préparation du milieu Müller Hinton Broth (MHB) et du milieu Müller Hinton Agar (MHA)	16
2.3	Préparation de Mc Farland 0.5	17
3	Purification et culture des souches de référence bactériennes	17
4	Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	17
4.1	Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> sur milieu Müller Hinton Agar par la méthode des disques et des puits	17
4.2.1	Détermination de l'effet biocide / biostatique des gousses sur la croissance des souches bactériennes.....	18
4.3	La Détermination des CMI par la méthode de micro- dilution sur microplaque 96 puits	19

Résultats et discussion

1	Collecte du matériel végétal	20
---	------------------------------------	----

2	Recherches et évaluation des propriétés antibactériennes des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i>	20
2.1	Préparation des suspensions bactériennes des souches de référence (standards Mc Farland 0.5).....	20
2.2	Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> sur milieu Müller Hinton Agar par la méthode des disques et des puits.	21
2.3	Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de <i>Ceratonia siliqua</i> sur milieu liquide Müller Hinton	22
2.4	Détermination de l'effet bactéricide et bactériostatique des gousses sur les souches bactériennes	23
2.5	Détermination des CMI par la méthode de micro- dilution sur microplaque 96 puits.	24
	Discussion générale.....	25
	Conclusion et perspectives	29
	Références bibliographique.....	31
	Résumé	47

Liste d'abréviations

% : pourcentage.

°C : Degré Celsius.

BN : Bouillon nutritif.

BaSO₄ : Baryum.

CMI: concertation minimale inhibitrice.

DO : Densité Optique.

g : gramme.

g/mol : Gramme par mole.

GN : Gélose Nutritive.

h : heure.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : acide sulfurique

L : Litre

L : litre

MHA: Müller-Hinton Agar

MHB: Bouillon Müller-Hinton

mg :Miligramme .

mL : Millilitre .

mm : millimètre

nm:nanomètre.

R : Résistant

S : Sensible

µg : Microgramme.

µl : Micro

Liste des figures

Figure 1: Photo de l'arbre caroube (<i>Ceratoniasiliqua</i> L)	11
Figure 2: photos des gousses de la plante <i>Ceratoniasiliqua</i>	14
Figure 3: Photos des gousses de la plante <i>Ceratoniasiliqua</i> (A) et de la poudre des gousses après broyage de (B).	15
Figure 4 : Stérilisation de l'extrait avec la seringue à micro filtre.....	16
Figure 5: Représentation schématique de la méthode de diffusion sur disque et puits.....	18
Figure 6: Comparaison visuelle entre la turbidité du McFarland 0,5 et la turbidité des 3 souches de référence.....	21
Figure 7: Evaluation des capacités antibactériennes de l'extrait des gousses de <i>Ceratoniasiliqua</i> sur les 3 souches de référence.....	22
Figure 8: Evaluation de l'effet bactéricide ou bactériostatique de l'extrait des gousses de <i>Ceratoniasiliqua</i> sur les 3 souches de référence.	24
Figure 9: Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait des gousses de <i>Ceratoniasiliqua</i> , sur les 3 souches de référence.....	25

Liste de tableau

Tableau 1: Classification botanique de la caroube (<i>Ceratoniasiliqua</i> l.)	12
--	-----------

Introduction générale

Malgré les énormes progrès réalisés en médecine humaine, les maladies infectieuses causées par des microorganismes constituent toujours une menace majeure pour la santé publique (Mishra *et al.*, 2013), et ceci en raison de la grande capacité des microorganismes à développer une résistance aux antibiotiques conventionnels (Segura-Ramírez et Silva Júnior, 2010). Il est donc essentiel de rechercher de nouvelles substances antimicrobiennes provenant d'autres sources, y compris des plantes (Luís *et al.*, 2014).

En effet, les sources végétales et les produits à base de plantes pourraient être une source naturelle nouvelle pour de nouveaux agents antimicrobiens avec un mécanisme d'action potentiellement nouveau (Braga *et al.*, 2005 in Sadiq *et al.*, 2017). De plus, les plantes ont été toujours utilisées en raison de leur disponibilité, elles sont peu coûteuses et possédant des effets secondaires minimes (Ahmad *et al.*, 2017).

Plusieurs espèces végétales ont été étudiées pour leur activité antibactérienne (Christenhusz et Byng, 2016 in Chassagneal .,2021) comme par exemple *Origanum vulgare*, *Origanum majorana*, *Thymus zygis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* et *Clinopodium taxifolium* (Chassagne *et al.*,2021). L'espèce *Ceratoniasiliqua* connue sous le nom de la caroube a été aussi étudiée et elle a montré une bonne activité antibactériennes (Ouis et Hariri .,2018).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de rechercher in vitro des propriétés antibactériennes au niveau des gousses de la plante *Ceratoniasiliqua*. Les propriétés antibactériennes ont été testées vis-à-vis de 3 souches de référence *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aerogenosa* (*P. aerogenosa*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sur milieu Müeller-Hinton Agar (méthode de diffusion par disque et par puits) et sur milieu Müeller-Hinton liquide (méthode de mesure de la DO de croissance bactérienne et la détermination de la concertation minimale inhibitrice (CMI).

Les résultats obtenus montrent la présence de propriétés antibactériennes au niveau des gousses de *Ceratoniasiliqua*. Par contre, il est à noter que cette activité n'a pas été détectée sur milieu Müeller-Hinton Agar mais seulement sur milieu Müeller-Hinton liquide.

Synthèse bibliographique

1 Les propriétés biologiques

Les infections microbiennes, l'inflammation et les dommages oxydatifs sont des symptômes cliniques relativement typiques de nombreuses maladies (**Tian *et al.*, 2018**). Dans ce cas les activités biologiques sont potentiellement importantes (**Nicolaou *et al.*, 2012**) telles que les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires antioxydants et anticancéreuses (**Awad *et al.*, 2014 ; Li *et al.* ,2015 in Tian *et al.* , 2018**). La nature est un précieux réservoir de substances qui peuvent être explorées afin de développer de nouveaux produits pharmaceutiques (**Barbosa *et al.* , 2016**). L'avantage des produits naturels c'est qu'ils possèdent des propriétés chimiques et biologiques importantes avec une moindre toxicité (**Strohl , 2000 ; Rollinger *et al.* , 2006 in Patra *et al.* , 2018**).

Des produits naturels biologiquement actifs produits par des plantes, des animaux, des insectes, des champignons, des bactéries et des protozoaires ont été isolés pour être utilisés dans la découverte de produits pharmaceutiques (**Strohl, 2000 ;Rollinger *et al.*, 2006 in Jouda *et al.* , 2016**).

Les humains ont toujours souffert de nombreuses maladies causées parfois par des infections d'origine microbienne (des bactéries, des champignons, des virus et des parasites) (**Wink ,2015**), telles que la gastro-entérite et les allergies (**Ryskaliyeva *et al.*, 2019**), l'infection au VIH, la tuberculose, le paludisme (**Ocampo *et al.* , 2014**),ou les infections des voies urinaires (**Petri, 1998 ; Costa-Reis *et al.*, 2013 in Cano *et al.*, 2020**).

Depuis toujours, l'homme s'est tourné vers la nature pour trouver des sources précieuses de médicaments (**Fenical, 1997 ; Shen , 2015 in Choudhary *et al.*, 2017**).

Dans l'ensemble les antibiotiques existants pour le traitement des maladies infectieuses sont désormais inefficaces face à la résistance des bactéries (**Peraman *et al.* ,2021**) et ceci en raison de :

- L'utilisation intensive des antibiotiques en médecine humaine, vétérinaire, en aquaculture et en agriculture (**French., 2005 in Borges *et al.*, 2016**).
- L'automédication, la posologie irrégulière ou interrompue ou le partage d'antibiotique (**wall, 2019**).
- Le taux élevé de mutations spontanées et la recombinaison génétique des microorganismes (**Guilhelmelli *et al.*, 2013 in Amorim-Carmo *et al.* ,2019**).

- La rareté des nouveaux antimicrobiens actifs contre les bactéries multi-résistantes (Cowan, 1999 in Dzotam *et al.*, 2015).

2 Mode d'action des antibiotiques

L'un des plus grands défis de santé publique du 21^e siècle est la prévention et le traitement des infections bactériennes (Poolman ,2020). Les maladies causées par des infections bactériennes ont soulevé des préoccupations dans le monde entier (Váradiet al., 2017 in Xu *et al.* , 2019), et elles sont classées parmi les principales causes de décès chez l'homme (Organisation mondiale de la santé 2019 in Vlazaki *et al.*, 2019). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé(2016) la tuberculose qui est considérée comme la première cause de décès parmi les infections bactériennes (2,3% des décès mondiaux), suivie des maladies bactériennes diarrhéiques (2%), de la méningite (0,5%), des maladies bactériennes à transmission sexuelle (syphilis, chlamydia et gonorrhée, 0,2%) et de l'encéphalite (0,2%) (Cano *et al.* ,2020).

Depuis plus de 70 ans, les agents antimicrobiens sont indispensables pour le contrôle des infections bactériennes en médecine humaine et vétérinaire (Schwarz *et al.*, 2016).

Les agents antimicrobiens, tels que les antibactériens, les antifongiques, les antiviraux et les antiparasitaires (Matica *et al.*, 2019), sont toutes substances ayant la capacité de ralentir ou d'inhiber la croissance des microorganismes ou même les tuer (Zhou *et al.*, 2015) comme par exemple, les antibiotiques bactéricides provoquent la mort cellulaire des bactéries et les antibiotiques bactériostatiques qui inhibent la croissance cellulaire des bactéries (Lobritz *et al.* , 2015). Parmi les agents antimicrobiens largement utilisés dans le passé et continueront d'être utilisés on peut citer les antibiotiques, les désinfectants, les conservateurs (Reichel *et al.*, 2014 ; Zhang *et al.*, 2014 ; Altman, 2014 in Zhou *et al.*, 2015), les antiseptiques (Rudramurthy *et al.* , 2016).

Les agents antimicrobiens ont des mécanismes d'action tels que la perturbation de la membrane cellulaire, l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques (ADN / ARN), l'inhibition de la synthèse des protéines par action sur les ribosomes, la perturbation de la régulation des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la paroi cellulaire (Matica *et al.* , 2019).

Par exemple, de nombreux antibiotiques tels que les pénicillines, les céphalosporines, la fosfomycine, la bacitracine, la cyclosérine, la vancomycine inhibent sélectivement la synthèse

de la couche de peptidoglycane (**Awad et al., 2012 in Rudramurthy et al.,2016**), les quinolones agissent en inhibant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV (impliqués par exemple dans la réplication de l'ADN (**Rudramurthy et al., 2016**) ce qui causent la mort des bactéries (**Jubeh et al., 2020**), ainsi, la gentamicine et l'amikacine qui inhibent la biosynthèse des protéines par la liaison irréversible covalente à la sous-unité 30S des ribosomes bactériens (**Davis, 1987 in Zharkova et al., 2019**). De même pour les antifongiques tels que les polyènes et les azoles qui ciblent les stérols et leur biosynthèse, les analogues de la pyrimidine perturbent la biosynthèse des acides nucléiques et les échinocandines interfèrent avec la biosynthèse de la paroi cellulaire (**Dorsaz et al., 2017**).

Comme cité précédemment, une grande attention devrait être accordée aux produits naturels (**Liu et al., 2017**). Cela a mené à de nombreux travaux afin de découvrir des propriétés antimicrobiennes provenant de différentes sources naturelles : les animaux, les microorganismes et les plantes (**Njateng et al., 2017**).

3 Les propriétés antimicrobiennes chez les organismes vivants

Les infections microbiennes se développent à un niveau alarmant (**Abioye et al., 2017 ; Catteau et al., 2015 in Rodrigues et al.,2019**) et sont devenues une menace clinique importante, avec une morbidité et une mortalité associées significatives (**Lage et al., 2018**). En raison de la capacité des microorganismes à acquérir et à transmettre du matériel de résistance génétique, conduisant à l'évolution constante de micro-organismes multi résistants qui menacent la santé publique (**Kacem et al., 2016 ; Grundmann et al., 2011 in Rodrigues et al.,2019**). La tuberculose, les infections des voies urinaires, la méningite, la dermatite, l'otite moyenne causée par des souches bactériennes et fongiques sont parmi les maladies difficiles (**Sadiq et al.,2016**) à traiter (**Ogawara, 2018**). Les antimicrobiens utilisés comme médicaments englobent un large éventail de substances chimiques peuvent être des produits naturels ou des analogues semi-synthétiques dérivés d'un produit naturel actif (**Manyi-Loh et al.,2018 ; Barbosa et al., 2016**). De plus, il peut s'agir de composés entièrement synthétiques conçus en utilisant des produits naturels comme modèles (**Paterson et Anderson, 2005 ; Koehn et Carter ; Newman et Cragg ; Harvey et al., 2015 ; Gbenou et al., 2013 in Barbosa et al., 2016**).

Cependant, plusieurs problèmes existent dans la découverte des nouveaux antibiotiques et autres agents antimicrobiens (**Basavegowda et al., 2020**), tels que la toxicité, la sélectivité des médicaments et la détection intelligente de la cible (**Saravanakumar et al.,2019**).

Malheureusement, le développement de plusieurs mécanismes de résistance des microorganismes vis-à-vis des antibiotiques a provoqué l'inefficacité des antibiotiques disponibles actuellement et l'industrie pharmaceutique détient peu de nouveaux antibiotiques à proposer (**Kipre et al. ,2017**).

Les principaux avantages de l'utilisation de plantes médicinales sont leur faible coût, leur prix abordable et généralement moins d'effets secondaires (**Cabanillas, 2011**) et n'induisent pas de résistance aux microorganismes, contrairement aux antibiotiques synthétiques (**Tofighir et al. ,2015**). De ce fait, les plantes deviennent une alternative peu coûteuse et efficace (**Baptista et al.2018**).

Plusieurs agents antimicrobiens, destinés à traiter les maladies infectieuses ont été découverts par criblage de composés naturels obtenus à partir de microorganismes, d'animaux et de végétaux (**Barbosa et al., 2016**).

3.1 Les propriétés antimicrobiennes chez les microorganismes

La vie microbienne fascine l'humanité depuis des siècles. (**Toghueo et Boyom, 2020**) Les microorganismes sont utilisés dans divers secteurs comme par exemple la production de carburants alternatifs, de nouvelles cultures pour nourrir la population et aussi pour la production de médicaments destinés à lutter contre les maladies infectieuses émergentes (**Lennon et Locey 2018 in Toghueo et Boyom, 2020**).

Les microorganismes ont toujours été extrêmement importants pour la santé humaine, les bactéries, levures et moisissures permettent la production d'antibiotiques, d'hormones, d'acides aminés et d'autres composés thérapeutiques (**Franco-Duarte et al ,2019**) grâce à leur riche source de métabolites biologiques (**Gunatilaka,2006**).

Les agents antimicrobiens ont été principalement isolés de bactéries et des champignons (**Cowan , 1999 in Hintz et al,2015**).Après la découverte du métabolite fongique en 1928, le pénicilline a marqué le début des produits naturels et pharmaceutiques d'origine microbienne (**Peyrat et al ,2019**), des recherches approfondies ont été lancées pour obtenir de nouveaux médicaments antimicrobiens à partir de différentes sources (**Zorofchian Moghadamtousi et al , 2014**).

Les microorganismes vivants dans le sol peuvent être considérés comme des usines chimiques produisant des métabolites secondaires (**Zakeri et Wright , 2008 in Zakeri et Lu , 2013**).Le

sol abrite plus de 10^9 de microorganismes/gramme (Gunatilaka,2006). Cela a conduit à une recherche étendue sur ces microorganismes pour la découverte des antibiotiques (Wright, 2007 in Zakeri et Lu , 2013), citant par exemple les actinomycètes, le groupe le plus important dans le domaine de la biotechnologie, en tant que producteurs d'antibiotiques (Subramani et Sipkema , 2019 in Messaoudi *et al.*, 2020), ou encore des souches de *Streptomyces* (Waksman *et al.*,1949 in Nicault *et al.*,2021) ou de *Pseudonocardia* (Schultz,1999 ;Currie,2001 ;Ishak *et al.*,2011 ;Cafaro *et al.*, 2011 ;Mueller,2012 ;Caldera *et al.*, 2019 in Efimenko *et al.*, 2020) qui sont utilisées pour la production de composés d'antibiotiques.

Le milieu marin est aussi très prometteur pour la découverte de nouveaux composés bioactifs (Abdelmohsenetal ,2010) par exemple, les cyanobactéries par leur activité antibactérienne peuvent être des sources d'antibiotiques utiles (Barzkar *et al.*,2019) ou le champignon marin *Pestalotia* sp qui a montré une puissante activité antimicrobienne contre le *Staphylococcus aureus* multi-résistant (Zhang et al , 2009).

3.2 Les propriétés antimicrobiennes chez les animaux

Les animaux et leurs produits dérivés ne sont pas seulement utilisés dans les médecines traditionnelles pour traiter des maladies humaines (Mozhui *et al.*, 2021), mais sont également de plus en plus valorisés comme matières premières dans la préparation de médicaments modernes (Altaf *et al* ,2017).

Les composés bioactifs sont des substances qui peuvent être produites biologiquement par des animaux (Lage *et al* , 2018) tels que les peptides antimicrobiens, dont certains d'entre eux ont été identifiés comme une défense de première ligne chez divers organismes hôtes (Hancock et Sahl , 2006 ; Mygind *et al.* , 2005 in Seo *et al* ,2012), comme par exemple les peptides (HNP-1, HNP-2 et HNP-3) des neutrophiles humains, appelés « défensines »,qui ont démontré une effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* (Ganz *et al.*, 1985 ;Guaní-Guerra *et al.*, 2010 ; Lehrer , 2004 in Tornesello *et al.*, 2020). Aussi,les peptides antimicrobiens des poissons du tilapia (*Oreochromis niloticus*) agissent contre les agents pathogènes humains et également contrôle les infections bactériennes telles que l'acné et les infections liées aux cathéters (Pan *et al* ,2017), ou encore, le peptide arénicine, isolé du polychète marin *Arenicola marina* ,présentait une activité antibactérienne significative contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus*

aureus (Kang *et al* ,2015) et le peptide p3bv de l'abeille PLA2 qui a démontré une activité anti-VIH (El-Seedi, *et al* , 2020).

En parallèle, les venins d'animaux ne sont pas composés que de toxines mais aussi de composants pharmacologiquement actifs, y compris des protéines, des peptides et des enzymes ayant des activités biologiques spécifiques (Mohamed Abd El-Aziz *et al* ,2019). Plusieurs protéines et peptides bioactifs ont été signalés à partir du venin de différentes espèces (Utkin , 2015 ;Undheim *et al.* , 2010 ; King ,2011 ;Ruder *et al* , 2013 ;Dutertre *et al.* , 2014 ;Pennington *et al.*,2018 ;Koh et Kini , 2012 ;Waheed *et al.* , 2017 ;Mirshafiey . , 2007in Munawar *et al.*,2018) telles que les serpents, les scorpions, les araignées, les insectes, les amphibiens et les escargots coniques (Mohamed Abd El-Aziz *et al* ,2019).

Des études ont montré que des peptides du venin possédaient une activité antimicrobienne (Amorim-Carmo *et al* 2019). Par exemple, des activités antimicrobiennes des venins de serpents ont été détectées (Koh *et al.* , 2006 ; KasaiKasai *et al.*,2015 ; Gomes *et al.* , 2010 ; Iwanaga, Suzuki, 1979 ; Chellapandi,. 2014 ; Roi , 2011 in Kunalan *et al* ,2018). Le venin extrait du serpent *Ophiophagus hannah* peut empêcher la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Phua *et al.* , 2012 ; San *et al.* ,2010 in Rheubert *et al* ,2020).

Aussi, les molécules antimicrobiennes du venin des araignées *Loxosceles* ont été bien étudiées en raison de leur potentiel biotechnologique (Gremski *et al* ,2014 ;Chaim *et al* , 2011 in Segura-Ramírez et Silva Júnior, 2018).

D'autres animaux ou leurs dérivés peuvent aussi avoir des propriétés antimicrobiennes, par exemple, la graisse et le sang, la chair des oiseaux ont été utilisés pour traitement des infections cutanées (Altaf *et al* , 2017). Le plasma du crocodile est aussi efficace comme substance antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae* (Kommanee *et al* , 2012), aussi le lait de chamelle a des propriétés antimicrobiennes (El-Salam et & El-Shibiny , 2013 ; El-Agamy,2009 in Berhe *et al*,2017), l'activité antimicrobienne serait due à la présence, entre autres, du lysozyme, de la lactoferrine, de la lactoperoxydase et des immunoglobulines (Malacarne *et al* ,2002 ;: Elagamy ,2000 ; : Konuspaveva *et al* ,2007in Berhe *et al* ,2017).

L'acide laurique des graisses de mouche soldat noire possède également une activité antimicrobienne élevée contre les *Bacteroides* pathogènes et les espèces de *Clostridium* (Matsue *et al* ,2019 in Dabbou *et al* ,2020).ou encore, l'urine de vache, de mouton et de chèvre était efficace dans le traitement des maladies de la peau, la syphilis, la tuberculose et des infections buccales (Alves *et al.*,2012; Alves *et al.*,2012; Lohani ,2011; vijaya kumar *et al.*, 2015 in Altaf *et al.*2017).

3.3 Les propriétés antimicrobiennes des végétaux

Bien que les sources les plus importantes d'agents antimicrobiens soient les moisissures, les actinomycètes et les bactéries (Luís *et al* , 2014), l'utilisation des plantes pour le traitement des maladies est une source bien ancienne (Silva *et Fernandes Júnior* , 2010).

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales jouaient un rôle important pour la santé de la population et elle peut représenter une source importante de nouveaux antimicrobiens (Sabo *et Knezevic* , 2019).

Le règne végétal comprend de nombreuses espèces de plantes contenant des substances à valeur médicinale, qui doivent encore être explorée (Ullah *et al.*, 2013). Plus de 300 000 extraits de plantes doivent être criblés pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Sofrata *et al* , 2011 ; Takebe *et al* , 2013 in Karygianni *et al* , 2019).

Les plantes ont développé des mécanismes sophistiqués pour se défendre contre les facteurs de stress biotiques tels que les microorganismes pathogènes et les arthropodes herbivores (Pappas *et al* , 2018).Une question de longue date en biologie végétale est de savoir comment les plantes perçoivent et repoussent les attaques de nombreux agents pathogènes potentiel(Tang *et al* , 2017) et de ravageurs, y compris les virus, les bactéries, les champignons et les oomycètes (Bentham *et al* , 2020).Plusieurs plantes médicinales telles que *Rhamnus prinoides* , *Calpurnia aurea* , *Peterollobium stellatum* , *Melilotuselegans* , *Croton macrostachyus* et *Acokanthera schimperi* ont été testées et approuvées pour leur activité antimicrobienne (Umer *et al.*, 2013 ; Taye *et al.*,2011 in Sisay *et al.*,2019).

Au cours des interactions avec les microorganismes, les plantes produisent plusieurs hormones qui agissent comme des signaux qui déclenchent la production de composés antimicrobiens (Verma *et al.*, 2016 ; Verhage *et al.* , 2010 in Dalio *et al* , 2020). Ces composés appartiennent généralement à l'une des trois grandes classes chimiques connues

pour leur activité biologique: les terpénoïdes, les alcaloïdes et les phénoliques (**Chassagne et al., 2019 ; Belcher et al., 2020 in Chassagne et al , 2021**).

Comme c'est le cas des différents organismes vivants, des peptides de plantes possèdent aussi un effet antimicrobien., Les peptides antimicrobiens sont des molécules essentielles pour la réponse immunitaire innée (**Pushpanathan et al , 2013**), comme par exemple les premiers AMP de plantes découverts sont les thionines purifiées à partir de farine de blé, sont actifs contre les levures, les champignons et les bactéries, ils ont un fort effet inhibiteur sur plusieurs souches de *Listeria monocytogenes* et *Listeria ivanovii* (**Hancock et Chapple , 1999 in Hintz et al , 2015**). De même qu'une défensine du poivron (*Capsicum annuum*) possède une activité inhibitrice contre *Pseudomonas aeruginosa* (**Guillén-Chable et al.,2017 in Sathoff et al.,2020**).

Les maladies infectieuses chez les plantes sauvages est en soi, une indication des mécanismes de défense efficaces qu'elles ont développés (**Hemaiswarya et al., 2008 in Borges et al.,2016**). Ce qui a conduit à l'utilisation de la phytothérapie comme une alternatives très prometteuse (**Ahmad et al, 2017**), du fait qu'elle peut offrir une nouvelle source d'activités antibactériennes, antifongiques et antivirales (**Maiyo et al., 2010 in Noumedem et al., 2013**).

De ce fait, plusieurs sources végétales ou leurs dérivés (huiles essentielles ou extraits) présentent dans la nature ont été testées ou utilisées pour leur activité antimicrobiennes, comme par exemple :

- Des extraits bruts (méthanol, d'acétone et de chloroforme) de *Datura stramonium* ont présentait des propriétés antimicrobiennes contre *Streptococcus mutans* et *Candida albicans* (**Megersa et al , 2019**).
- Des études sur les extraits de *Hancorniaspeciosa* écorce ont rapporté une activité antimicrobienne contre *S. aureus* et *Helicobacterepylori* (**Mello Moraes et al , 2008 in Santos et al , 2016**).
- Aussi, l'extrait de *Rosadamascena* a montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Tofighi et al , 2015**), les extraits de *Ginkgo* sont utilisés depuis 5000 ans pour traiter les maladies infectieuses pulmonaires telles que la bronchite (**Perry et al. , 1999 in Ražná et al. , 2020**) ou encore l'extrait de *Tripleurospermum disciforme* a des effets antimicrobiens contre *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* (**Tofighi et al , 2015**).

Aussi, l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* a été exploitée comme antibiotique naturel pour le traitement de maladies infectieuses causées par *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Bachir et Benali , 2012 in Ieri et al , 2019) de même que l'huile essentielle de *Menthacitrata* présentait une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerugenosa* et *Escherichia coli* (Chouhan et al., 2017).

Les végétaux possèdent aussi une gamme de substances très variées pour lutter contre les divers agents pathogènes (Asselin,1993), les enzymes telles que les protéases, les chitinases et les glucanases sont avérées toxiques contre les champignons (Doehlemann et Hemetsberger , 2013 in Citores et al ,2016). Aussi, les lysozymes dégradent le peptidoglycane des parois de bactéries, elles sont actives par exemple, contre le peptidoglycane des parois du *Micrococcus luteus* (Asselin,1993).

Les plantes et leurs dérivés possèdent des actions antimicrobiennes avec des modes d'action différents, par exemple, les saponines produites par les plantes agissent sur les microorganismes en formant des complexes avec les stérols de leur membrane ce qui conduit à une destruction des cellules (Morrissey et Osbourn , 1999 in Diaz Carrasco et al. , 2016). Il a été montré aussi que les tanins des plantes peuvent se lier aux parois cellulaires des bactéries, empêchant leur croissance (Jones et al., 1994 in Cowan , 1999) ou encore la cryptolépine, un intercalant d'ADN et un inhibiteur de la topoisomérase (Karou et al., 2005 in Diaz Carrasco et al., 2016).

Parmi les plantes possédant des propriétés biologiques, diverses études ont montré que la caroube (*Ceratoniasiliqua*) possède plusieurs activités biologiques, telles que des activités antioxydante, antitumorale et antibactérienne (Custódio et al. , 2009 ; Meziani et al., 2015 in Ben Ayache et al.,2020). Par exemple, il a été montré que les feuilles de *Ceratoniasiliqua* ont des effets inhibiteurs sur différentes souches d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* (El Hajaji et al.,2010 ; Kivcak et al.,2002 in Mouas et al.,2021), aussi une activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Ceratoniasiliqua* contre *Listeria monocytogenes* et *Pectobacteriumatrosepticum* a été détectée (Aissani et al. ,2012 in Christou et al., 2018).

De plus, les gousses de *Ceratoniasiliqua* possèdent aussi plusieurs propriétés pharmacologiques telles que des propriétés antioxydantes, anti-ulcères et anti-inflammatoires

(Kivcak et al, 2002 ; Rtibi et al., 2015a ; Rtibi et al., 2017a ; Rtibi et al., 2016 in Qasem et al., 2018).

4 La plante *Ceratonia siliqua*

Ceratonia siliqua ou la caroube, est une légumineuse vivace, une plante à feuilles persistantes (Azaizeh et al., 2020) (Figure1) *Ceratoniasiliqua* dérive du mot grec « *Kera* », qui se rapporte à la forme du fruit, et le mot latin *siliqua*, fait référence à la dureté et à la forme des gousses (Papaefstathiou et al., 2018). Le genre *Ceratonia* comprend deux autres espèces, *Ceratonia oreothauma* originaire d'Oumane et *Ceratonia somalensis* originaire du nord de la Somalie (Battle et al, 1997 in Benmahioul et al.,2011).

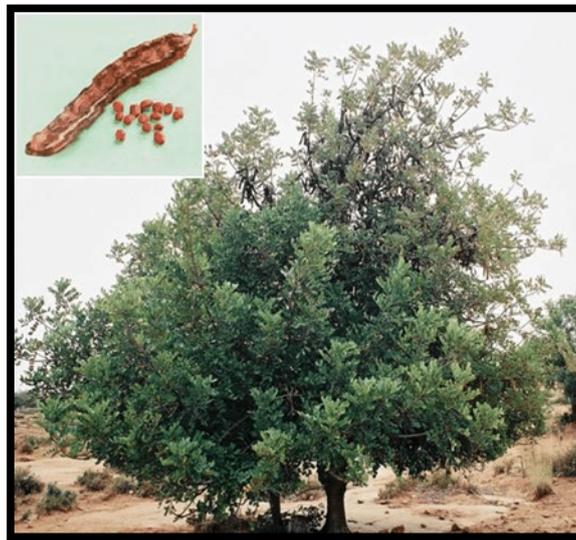


Figure 1: Photo de l'arbre caroube (*ceratonia siliqua* L)(Aziz et Hicham, 2014)

Cette plante appartient à la famille des *Fabacées* (Kyratzis et al., 2021) et à la sous-famille des espèces des *Caesalpinaceae* (Battle et Tous, 1997 in Jadrane et al., 2021) (Tableau 1) et elle est largement cultivée dans la région méditerranéenne avec un grand potentiel économique et environnemental où elle couvre les grandes zones de montagne des régions arides et semi-arides (Othmen et al., 2019 ; Durazzo et al., 2014 in Azaizeh et al., 2020).

La plante du caroubier (les feuilles, fleurs, fruits, bois, écorce et racines) est très demandée et fortement exploitée (Lahssin et al.,2015), notamment en ornementales et en médecines traditionnelles (Batista et al., 1996 ; Tous et al.,1996 ; Barracosa et al., 2007 in Lahssin et al.,2015). La caroube a fait l'objet de plusieurs recherches en vue de son application dans divers secteurs industriels (Papaefstathiou et al. 2018 in Fidan et al.,2020)

Tableau 1: Classification botanique de la caroube (*Ceratoniasiliqua* L.) (Ghédira et Goetz ,2020)

Règne	Végétal
Sous règne	Viridiplantae
Super division	<i>Embryophyta</i>
Division	<i>Trachéophyta</i>
Subdivision	<i>Spermopytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Superordre	<i>Rosanae</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>
Genre	<i>Ceratonia</i> .L
Espèce	<i>Ceratonia siliqua</i> .L

Ceratonia siliqua présente des caractéristiques exceptionnelles et considérée comme l'une des espèces à fort potentiel dans les actions de reboisement pour améliorer et remplacer les espèces sensibles à la sécheresse et dans la réhabilitation des zones marginales du bassin méditerranéen (Batlle , 1997 ; Sandolo et al., 2007 in Boutasknit et al ., 2020).*Ceratonia siliqua* peut, aussi,contribuer dans la lutte contre les effets négatifs du changement climatique(Kokkinofta et al. , 2020) et dans la protection des sols et la lutte contre la désertification (Benmahioul et al.,2011).

C. siliqua présente aussi une multitude de propriétés biologiques (Al-Olayan et al. , 2016 ; Martinez-Rodriguez et al., 2013 ; Rached et al., 2016 ; Rtibi et al., 2017 in Farag et El-Kersh , 2017) par exemple des propriétés anticancéreuses, des activités antidiabétique et anti-diarrhéiques (Christou et al.,2018). Une étude a rapporté qu'une solution à 2% de caroube est capable de bloquer l'hémagglutination et l'adhérence d'*Escherichia coli* sur des cellules

épithéliales intestinales isolées (**Goulas et al., 2016**) et la pulpe du caroubier est préconisée contre la tuberculose pulmonaire (**Benmahioul et al., 2011**).

C. siliqua possède aussi une teneur élevée en antioxydants, en polyphénols et en fibres (**Theophilou et al., 2017**). Ces activités on peut les trouver dans la pulpe et la gousse du fruit de caroube (**la Fuente-Fernández et al., 2020**).

Le fruit, également appelé une gousse de caroube ou des cabosses constituée d'environ 90% de pulpe et 10% de graines (**Wursch et al., 1984 in Antoniou et al., 2020**). Elles sont utilisées comme matière première bon marché pour la fermentation et la production biotechnologique de bioéthanol, d'acides organiques, d'enzymes (**Yatmaz et Turhan, 2018 in HanousekČiča et al., 2020**), ainsi, pour la production d'acide citrique et lactique, du mannitol, de l'acide succinique et de l'éthanol (**Rababah et al., 2013 ; Goulas et al., 2016 in Christou et al., 2018**).

Les gousses sont aussi riches de nombreuses substances bioactives telles que des glucides, des fibres alimentaires, des tanins, des polyphénols (**Papagiannopoulos et al., 2004 in Rtibi et al., 2015**) ainsi qu'en calcium, en phosphore, en potassium, en magnésium et en pectine (**Benmahioul et al., 2011**). Les gousses sont largement utilisés dans plusieurs secteurs tels que le secteur des industries pharmaceutiques par exemple, la production d'éthanol (**Turhan et al., 2010 in Aziz et Hicham, 2014**) et alimentaires par exemple dans les produits de boulangerie, de confiserie, des pâtes et des boissons (**Christou et al., 2018**).

Les gousses de caroube ont été souvent utilisées en médecine traditionnelle, par exemple en Tunisie, elles sont utilisées comme analgésique, anticonstipation, anti-absorbant du glucose, dans la propulsion gastro-intestinale et les activités antidiarrhéiques (**Rtibi et al., 2017 in Ben Ayache et al., 2020**).

Aussi il a été montré que les gousses de caroube possèdent des activités antimicrobiennes, en effet, il a été montré que l'extrait méthanolique des gousses de *C. siliqua* pourrait être un antibactérien prometteur contre certains agents pathogènes comme *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusarium*, *Oxysporum*, *Aspergillus flavus* (**Hsouna et al., 2012**). Aussi, les flavonoïdes qui composent les gousses de *C. siliqua* ont été signalés comme antimicrobiens prometteurs contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (**Linuma et al., 1994 in Hsouna et al., 2012**) et les extraits de méthanol des gousses de *C. siliqua* ont montré une activité antibactérienne qui inhibe la croissance de

Lactobacillus sp, *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aerogenosa* (Abd Razik et



al.,2012).

Figure 2: photos des gousses de la plante *Ceratonia siliqua*.

Dans ce cadre, l'objectif de notre travail est de rechercher des propriétés antibactériennes chez les gousses de *ceratonia siliqua* vis-à-vis de 2 souches de référence *Escherichia coli*, (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aerogenosa*(ATCC 27853).

Matériel
et
méthodes

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie de l'Université Belhadj Bouchaib Ain-Temouchent (UBBAT) durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2020/2021.

L'objectif de ce travail est de rechercher des propriétés antibactériennes chez les gousses de *Ceratonia siliqua* vis-à-vis de 3 souches de référence *E. coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aerogenosa* (ATCC 27853) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

1 Collecte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude, pour la recherche de propriétés antibactériennes, correspond aux gousses de l'espèce *Ceratoniasiliqua* (Caroube), achetées au commercial de la ville d'Ain Témouchent.

Les gousses de *Ceratoniasiliqua* ont été séchées à l'air libre pendant quelques jours, ensuite broyées et tamisées (Figure 3). La poudre obtenue est utilisée pour préparer l'extrait des gousses. Pour cela, 2g de cette poudre sont dissoutes dans 10 mL d'eau distillé et placés sous agitation pendant 3 h pour macération.



Figure 3: Photos des gousses de la plante *Ceratonia siliqua* (A) et de la poudre des gousses après broyage de (B).

Les solutions sont ensuite centrifugées et le surnageant est filtré dans des conditions aseptiques à l'aide d'une seringue et d'un micro filtre (Figure 4). Le filtrat obtenu est récupéré pour être testé pour ses propriétés antibactériennes.



Figure 4 : Stérilisation de l'extrait avec la seringue à micro filtre

2 Préparation des milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés dans cette étude permettent d'une part la culture et la purification des souches de référence des bactéries, et d'autre part le test de la sensibilité/résistance de ces souches de référence à la solution de la poudre des gousses de *Ceratonia siliqua*.

2.1 Préparation du Bouillon Nutritive (BN) et de la Gélose Nutritive (GN)

Le Bouillon Nutritif (BN) et la Gélose Nutritive (GN) sont des milieux utilisés pour cultiver et isoler des bactéries. Le BN est préparée par dissolution de 8 g de la poudre de ce milieu (Conda Nutrient broth) dans 1 L d'eau distillée, tandis que la GN est préparée par dissolution de 23g de la poudre de ce milieu (Conda Nutrient Agar) dans 1L d'eau distillée.

2.2 Préparation du milieu Müller Hinton Broth (MHB) et du milieu Müller Hinton Agar (MHA)

Les milieux Müller Hinton Broth (MHB) et le milieu Müller Hinton Agar (MHA) sont considérés comme des milieux de références pour l'étude de la sensibilité et la résistance des bactéries vis-à-vis des agents (EUCASTE, 2014 ; Winn Jr, 2006 in Hudzicki, 2009). Ces milieux répondent conformément aux recommandations du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (Wayne, 2011 in Khanal et al., 2017). Les milieux Müller Hinton sont largement utilisés et ils permettent une bonne croissance de la plupart des agents pathogènes peu exigeants (EUCASTE, 2003).

Le BN est préparée par dissolution de 8 g de la poudre de ce milieu (Conda Nutrient broth) dans 1 L d'eau distillée, tandis que la GN est préparée par dissolution de 23 g de la poudre de ce milieu (Conda Nutrient Agar) dans 1L d'eau distillée.

Le Bouillon Müeller Hinton est préparé par dissolution de 2g de la poudre extrait de viande, 17,5g de l'hydrolysate de caséine et 1.5 g d'amidon soluble dans 1 L d'eau distillé. La préparation du Müller-Hinton Agar (MHA) est réalisée par dissolution de 38g de la poudre de ce milieu (Müeller Hinton Conda) dans 1L d'eau distillée.

2.3 Préparation de Mc Farland 0.5

Les étalons Mc Farland sont des suspensions de Sulfate de Baryum ($BaSO_4$) qui permettent de déterminer une densité bactérienne à l'aide d'une comparaison visuelle (**Hudzicki, 2009**).

Le standard Mc Farland 0.5 correspond à une suspension bactérienne contenant entre 1×10^8 à 2×10^8 UFC/mL (**Hudzicki, 2009**). Pour préparer le standard Mc Farland 0.5, ajouter 0,05 mL $BaCl_2$ à 0,048 M à 99,5 mL de H_2SO_4 à 0,18 M (**Andrews, 2006**).

3 Purification et culture des souches de référence bactériennes

Les 3 souches de références utilisées dans cette étude, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), ont purifiées et mises en cultures sur GN pour une incubation à 37 °C pendant 24h.

4 Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua*

4.1 Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* sur milieu Müeller Hinton Agar par la méthode des disques et des puits

Pour évaluer l'activité antibactérienne des gousses de *Ceratonia siliqua* on adopte la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant la méthode des disques stériles et à la méthode des puits.

Pour cela, 100 μ L de chaque suspension bactérienne (correspondant à une turbidité de 0,5Mc Farland) sont préalablement étaler à l'aide d'un râteau à la surface du milieu Müeller-Hinton Agar.

Ensuite, des disques en papier stérile sont été imprégnés séparément et aseptiquement dans différentes concentrations de solutions des gousses de *Ceratonia siliqua* (200, 100, 50, 25 μ g/ μ L) sont déposés stérilement à la surface du milieu Müeller-Hinton Agar .Pour la méthode

des puits, Des puits sont creusés sur le milieu Mueller-Hinton Agar à l'aide des cloches de Durham stérile, ensuite chaque puits est rempli par une concentration différente de solutions de gousses (25, 50, 100 et 200 µg/µL). (Figure 06)

Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24h. Une zone claire circulaire, entourant les disques ou les puits, dans laquelle la croissance bactérienne est inhibée, signifiée une sensibilité de la souche vis-à-vis de la solution des gousses de *Ceratonia siliqua*. Une absence de cette zone, signifiée que la souche est résistante.

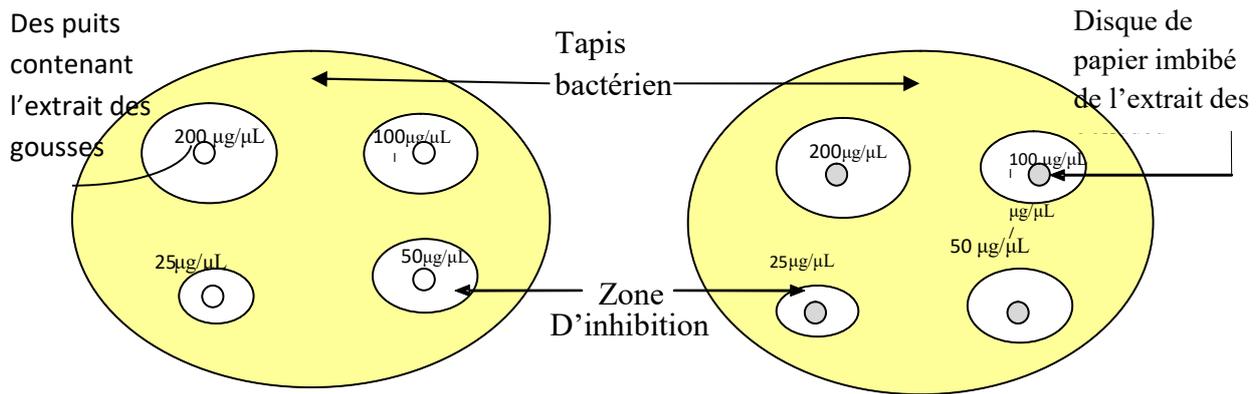


Figure 05 : Représentation schématique de la méthode de diffusion sur disque et puits

4.2 Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* sur milieu liquide Mueller Hinton

Pour rechercher des propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* sur milieu liquide Mueller Hinton, la DO de croissance à 600nm des souches de référence sur ce milieu avec et sans l'ajout des solutions de la poudre des gousses à 1% et 5% a été comparée.

4.2.1 Détermination de l'effet biocide / biostatique des gousses sur la croissance des souches bactériennes

Afin de déterminer si la solution des gousses possède un effet antibactérien biocide ou biostatique, les cultures bactériennes obtenues après 24h d'incubation en présence des solutions de la poudre des gousses à 1% et 5% ont été utilisées pour inoculer le milieu liquide Mueller Hinton de sorte à avoir une DO_{600nm} initiale de 0,1. Après incubation de 24h à 37°C les DO sont mesurées à 600 nm. Une croissance bactérienne indique que la solution de la poudre des gousses a un effet biostatique, par contre l'absence de croissance indique que la solution de la poudre des gousses a un effet biocide.

Des tubes contrôles sont préparés à partir des cultures des souches de référence qui n'ont pas été en contact avec la solution de la poudre des gousses.

4.3 La Détermination des CMI par la méthode de micro- dilution sur microplaque 96 puits

Les méthodes de dilution sont utilisées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des agents antimicrobiens et sont des méthodes de référence pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens (EUCAST, 2003).

La CMI est définie comme la concentration la plus faible de l'agent antimicrobien qui empêche la croissance visible d'un microorganisme (Wiegand et al., 2008).

Dans cette étude, les CMI ont été déterminées sur des microplaques stériles à 96 puits comme décrit par Güllüce et al. (2007) in Benali et al. (2020) 100 µL du milieu Müeller Hinton liquide (additionné du Bleu de Bromothymol à concentration finale de 80 mg/L) ont été déposés stérilement dans toutes les cupules de la plaque, 100 µL de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* testée a été ajouté dans le 2 et le 3 puits, ensuite, le contenu du 3^{ème} puits a été bien mélangé en réalisant des va-et-vient avec une micropipette. Puis les 100 µL des gousses et du BMH du 3^{ème} puits ont été récupérés et transférés dans la colonne 4. Ensuite de la même manière réaliser une série de dilutions successives pour le reste des puits. Tous les puits seront inoculés par 100 µL des suspensions bactériennes correspondant à une turbidité de 0,5 Mc Farland dans toute les puis à l'exception des puits des colonnes 1 et 2. Incuber la microplaque à 37°C pendant 18 à 24 heures. La lecture se fait à l'œil nu, la croissance bactérienne se traduit par un virage de couleur du bleu de bromothymol.

Résultats

et

discussion

2 Collecte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude pour rechercher des propriétés antibactériennes sont des gousses de la plante *Ceratonia siliqua* (caroubes) achetées au commerce de la ville d'Ain-Temouchent.

3 Recherches et évaluation des propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua*

Pour la recherche et l'évaluation, *in vitro*, des propriétés antibactériennes des gousses de la plante *Ceratonia siliqua*, 3 souches de référence : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (Gram⁻) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 2592) (Gram⁺) ont été utilisées.

Les tests de la recherche des propriétés antibactériennes des gousses de la plante *Ceratonia siliqua* ont été effectués sur milieu Müeller Hinton Agar (MHA) (méthode de diffusion par disque et par puits) et Müeller Hinton liquide (MHB) (mesure de DO de croissance bactérienne).

3.1 Préparation des suspensions bactériennes des souches de référence (standards Mc Farland 0.5)

L'inoculum bactérien qui va servir àensemencer le milieu MHA pour rechercher des propriétés antibactériennes des gousses de la plante *Ceratonia siliqua* a été préparé en réalisant des suspensions de colonies bien séparées des 3 souches de référence dans de l'eau physiologique. Ces suspensions bactériennes sont ensuite ajustées , visuellement, pour avoir une turbidité égale à celle de Mc Farland 0.5 (Figure 07).



Figure 6: Comparaison visuelle entre la turbidité du McFarland 0,5 et la turbidité des 3 souches de référence.

1 : Tube de McFarland 0,5, 2 : Tube de *S.aureus*, 3 : Tube de *P.aeruginosa*, 4 : Tube de *E. coli*.

3.2 Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* sur milieu Mueller Hinton Agar par la méthode des disques et des puits.

Pour la technique de diffusion en milieu gélosé, plus couramment appelée la méthode des disques est reconnue comme fiable et reproductible, le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. Les propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* ont été recherchées par teste de l'effet de 4 concentrations (25, 50, 100 et 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) de la solution de la poudre gousses de *Ceratonia siliqua* sur la croissance des 3 souches de référence. L'activité antibactérienne et la sensibilité/résistance des souches de référence sont déterminées en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite après 24 h d'incubation à 37°C.

Les zones d'inhibition sont interprétées selon leur diamètre et notées sensible (S) ou résistante (R) à l'antimicrobien testé. Une bactérie est dite résistante si le diamètre d'inhibition est inférieure ou égal 8 mm l'inverse, elle est dite sensible si le diamètre est compris entre 9 et 14 mm et très sensible quand le diamètre est compris entre 15 et 19 mm puis extrêmement sensible si le diamètre est supérieur ou égal à 20 mm (Jules *et al.*, 2017).

Les résultats obtenus par les tests de diffusion par disque et par puits sur milieu solide n'a pas révélé d'activité antibactérienne de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* vis-à-vis des souches de référence testées *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

3.3 Recherche de propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* sur milieu liquide Mueller Hinton

Afin de rechercher si l'extrait des gousses possède un effet antibactérien, le milieu liquide à Mueller Hinton a été inoculé avec des cultures bactérienne des souches de référence en présence des solutions de la poudre des gousses à une concentration finales de 1% et 5%.

Après incubation de 24h à 37°C les DO sont mesurées à 600 nm et les résultats de croissance, avec et sans addition de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* , ont été comparés.

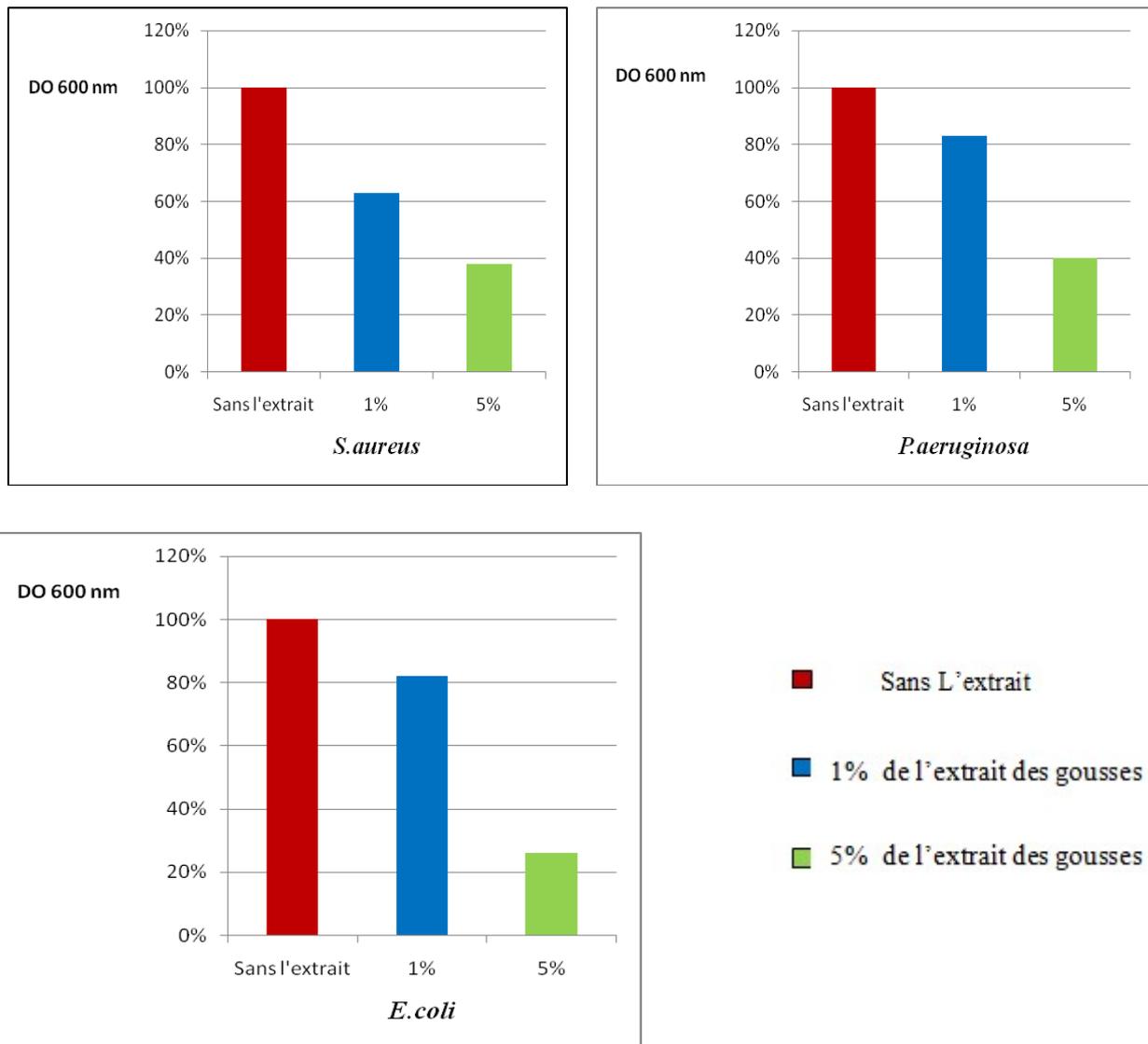


Figure 7: Evaluation des capacités antibactériennes de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence.

Les résultats de ce test (Figure 08) montrent la présence de propriétés antibactériennes chez les gousses *Ceratonia siliqua* vis-à-vis des 3 souches de référence. On remarque aussi que les capacités antibactériennes des gousses augmentent avec l'augmentation de la concentration (concentrations testées 1 et 5%). En effet, ces résultats montrent que la croissance des 3 souches de référence a diminué en présence des gousses à 1 % et elle a considérablement diminué en présence des gousses à 5%.

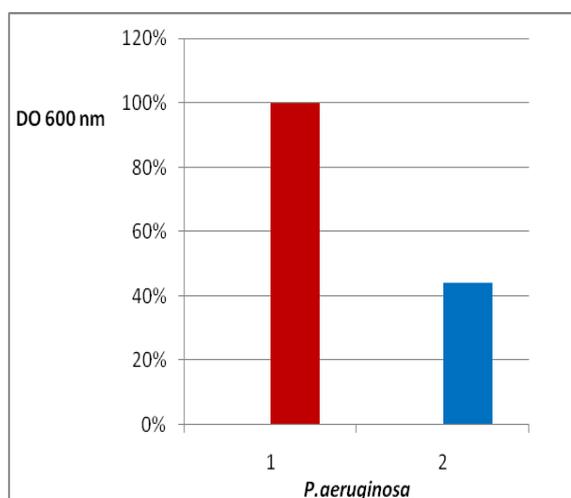
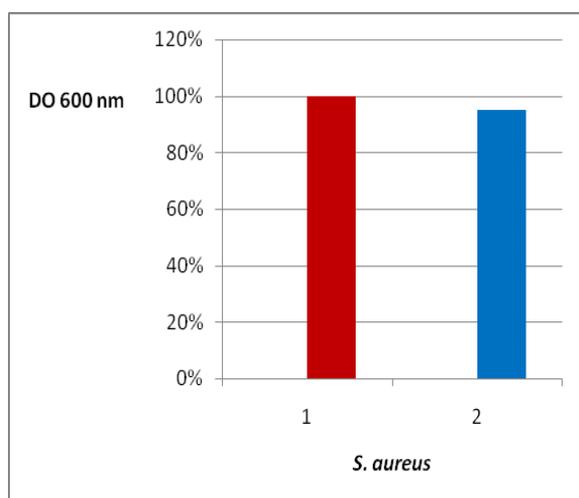
Les résultats de l'évaluation de la DO de croissance des 3 souches de référence en présence des gousses montrent que :

- La souche *S. aureus* a perdu 37% et 62% de sa croissance en présence des gousses, respectivement, à 1% et 5%.
- La souche *P. aerogenosa*, a perdu 17% et 60% de sa croissance en présence des gousses, respectivement, à 1% et 5%.
- La souche *E. coli*, a perdu 18% et 74% de sa croissance en présence des gousses, respectivement, à 1% et 5%.

Ces résultats montrent que l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* possède des propriétés antibactériennes qui ont affectées la croissance des 3 souches de référence.

3.4 Détermination de l'effet bactéricide et bactériostatique des gousses sur les souches bactériennes

Ce 2^{ème} test sur milieu liquide permet de déterminer si l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* à 1% possède un effet inhibiteur bactéricide et bactériostatique sur les souches de référence.



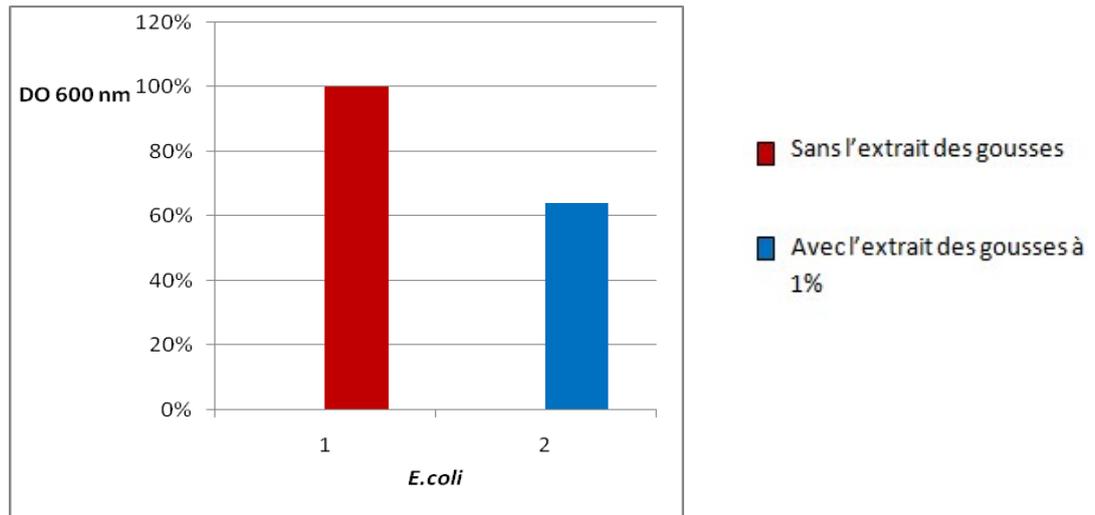


Figure 8: Evaluation de l'effet bactéricide ou bactériostatique de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence.

Le test de détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique des gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence afin de voir si ces souches avaient juste leur croissance qui a été inhibée (effet bactériostatique) ou bien elles sont mortes (effet bactéricide), a été effectué par comparaison entre les DO des cultures bactériennes de 24h obtenues après inoculation du milieu liquide Mueller Hinton soit avec des pré-cultures des souches de référence incubées en présence de 1% des solutions des gousses ou sans la présence des solutions des gousses.

Les résultats obtenus (Figure 9) montrent que pour la souche *S.aureus* la croissance a repris normalement à 95% ce qui signifie que l'extrait des gousses avait seulement un effet bactériostatique sur cette souche. Par contre les 2 souches *P.aeruginosa*, et *E. coli*, n'ont pas repris une croissance normale et elles n'ont gardé, respectivement, que 44% et 46% de leur croissance, ce qui signifie que l'extrait des gousses avait un certain effet bactéricide.

3.5 Détermination des CMI par la méthode de micro-dilution sur microplaque 96 puits.

La détermination de la CMI a été réalisée par la technique de dilution en milieu liquide, en utilisant une microplaque stérile de 96 puits.

Les résultats obtenus (Figure 10) montrent que la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la solution des gousses de *Ceratonia* est de 820 µg/mL pour la souche *S.aureus* 270 µg/mL pour la souche *P.aeruginosa* et 91 µg/mL pour la souche *E.coli*.

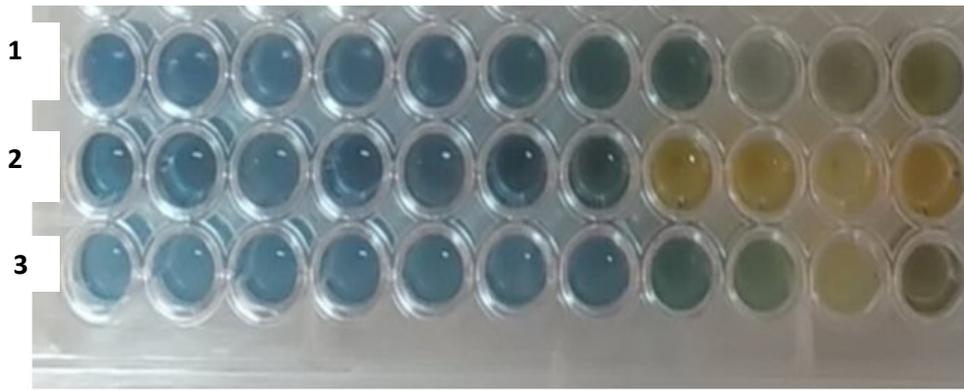


Figure 9: Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua*, sur les 3 souches de référence.

(1) *P.aeruginosa*, (2) *S.aureus*, (3) *E.coli*

Des études ont été déjà faites pour détermination de la CMI de *Ceratonia Siliqua* comme par exemple **Aissani et al (2012)** ont montré que la CMI de l'extrait méthanolique des feuilles de caroube sur *E.coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* été supérieure à 900 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ces résultats montrent que cette CMI est inférieure aux CMI qu'on a trouvées pour les gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence, ce qui montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de caroube testé par **Aissani et al (2012)** possède une activité antibactérienne plus faible que celle de notre extrait.

Aussi **Ibrahim et al., (2013)** ont testées l'activité antibactérienne des extraits méthanolique de *Ceratonia siliqua* (feuilles, tiges et gousses) et les résultats ont montré que pour *E. coli* la CMI est de 15,29 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et pour *P. aeruginosa* elle est de 24,745 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ces résultats montrent que ces CMI sont inférieures aux CMI qu'on a trouvées pour les gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence, ce qui montrent que les extraits méthanolique de *Ceratonia siliqua* (feuilles, tiges et gousses) testés par **Ibrahim et al., (2013)** possèdent une activité antibactérienne plus élevée que celle de notre extrait.

Discussion générale

Tout au long de l'histoire, les humains ont utilisé les plantes comme source de médicaments (**Chassagne et al.2021**), pour le traitement d'une plusieurs maladies, y compris les maladies infectieuses (**Górniak et al., 2019 in Nigussie et al.,2021**). Ces maladies infectieuses restent de plus en plus fréquentes chez l'homme avec le développement d'une

résistance des microorganismes vis-à-vis des médicaments (Ahoua et al., 2015) Il est donc absolument nécessaire de rechercher de nouveaux agents antibactériens (Rao et al., 2017).

Pour cela, l'objectif de notre travail était de rechercher des propriétés antibactériennes chez des gousses de la plante *Ceratonia siliqua* achetées au niveau du commerce de la ville d'Ain -Témouchent.

Pour ce travail de recherche de propriétés antibactériennes, différentes méthodes ont été utilisées : la méthode de diffusion sur disques et puits sur milieu solide Müeller-Hinton Agar, la méthode de mesure de la DO de croissance sur milieu Müeller-Hinton liquide et la méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice sur microplaque. Ces tests ont été effectués sur 3 souches de référence *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogénosa* et *Echerichia coli*.

Les résultats obtenus dans cette étude concernant l'activité antibactérienne des gousses de *Ceratonia siliqua* par la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant la méthode des disques stériles et à la méthode des puits n'a présenté aucune activité antibactérienne décelable vis-à-vis des 3 souches de référence.

En revanche, les résultats d'évaluation d'activité antibactérienne réalisées sur milieu liquide, à permet de visualiser une action antibactérienne des gousses de *Ceratonia siliqua* à 1% et à 5% sur les 3 souches de référence. L'extrait des gousses à 1%a présenté une action bactériostatique contre la souche *Staphylococcus aureus* et une action bactéricide sur les souches *Echerichia coli* et *Pseudomonas aerogénosa*.

Pour ce qui est de la comparaison entre les résultats des tests sur milieu liquide et sur milieu solide, on remarque que dans la méthode sur milieu liquide, les propriétés antibactérienne de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* est détectée, ce qui n'est pas le cas dans la méthode de diffusion par disque et par puits sur milieu solide.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a montré que les CMI de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* est de 820µg/mL pour la souche *S.aureus* 270µg/mL pour la souche *P.aeruginosa* et 91 µg/mL pour la souche *E.coli*..

.D'après ces résultats obtenus, les tests sur milieu liquide permettent de mieux apprécier les capacités antibactériennes d'une solution que sur milieu solide. Nos résultats montrent que les tests quantitatifs de détermination des capacités antibactériennes sur milieu

liquide (mesure de la DO de croissance sur milieu Müeller-Hinton liquide et la détermination de la CMI) sont plus adaptés pour rechercher et évaluer une activité antibactérienne.

Ceci a été aussi démontré par **Haase et al.,(2017)** qui ont réalisé une étude qui visait à comparer des résultats obtenus avec des méthodes d'évaluation différentes (la DO de croissance sur milieu liquide et la méthode de diffusion par disque) et ils ont discuté l'adéquation des méthodes pour évaluer les propriétés antibactériennes. Aussi, **Wiegand et al., (2008)** ont déduit que les méthodes de dilution sont considérées comme des méthodes de référence pour tester, *in vitro*, la sensibilité.

De nombreuses études ont montré l'activité antibactérienne des gousses de *Ceratonia siliqua* (caroube). **Hsouna et al. (2012)** ont montré que les extraits méthanoliques des polyphénols des gousses de la caroube induisaient des zones d'inhibition de diamètre compris entre 10 et 22 mm dans le cas d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteridis* et *Staphylococcus aureus*. Ces résultats indiquent que toutes les souches testées se sont révélées sensibles aux actions inhibitrices de l'extrait méthanolique de *Ceratonia siliqua*.

Par contre, les travaux de **Kivcak et al. (2002) in Amin et al. (2006)** ont montré que l'extrait éthanolique de caroube n'avait aucun effet sur la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'effet antibactérien des gousses de *Ceratonia siliqua* est probablement dû à leurs richesses en plusieurs classes de métabolites secondaires (composés chimiques) qui exercent des activités biologiques (**Karim et Azlan, 2012**).

Les gousses de caroube contiennent de grandes quantités de composés polyphénoliques (**Rababah et al.,2013 in Christou et al.,2018**). Il a été suggéré que les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, exercent leurs effets antibactériens de trois manières à savoir, la destruction directe des bactéries, l'activation synergique des antibiotiques et l'atténuation de la pathogénicité bactérienne (**Cushnie et Lamb, 2011 in Xie et al., 2017**).

Meziani et al., (2015) ont montrés que l'activité antibactérienne observée dans l'extraits des feuilles de caroube pourrait s'expliquer par la présence de composés biologiquement actifs. Aussi, **Abdulkareem et al.,(2020)** et **Abd Razik et al., (2012)** ont reporté que la forte activité antimicrobienne du *Ceratonia siliqua* contre les microorganismes testés pourrait être attribuée

à la présence d'hydrocarbures, du monoterpène et d'oxygéné monoterpène, connus pour leur potentiels antibactériens.

Conclusion
et
perspectives

Dans ce travail, des propriétés antibactériennes des gousses de la plante *Ceratonia siliqua* achetées au niveau du commerce d'Ain-Temouchent vis-à-vis de 3 souches de référence (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) ont été recherchées.

Pour cela, différents tests d'évaluation et de recherche qualitative et quantitative du potentiel antibactérien ont été effectués sur milieu Müeller-Hinton Agar (la méthode de diffusion par disque et par puits) et sur milieu Müeller-Hinton liquide (la méthode de mesure de la DO à 600 nm et la détermination de la concentration minimale inhibitrice de la croissance des souches de référence).

Pour le test sur milieu Müeller-Hinton Agar, la méthode de diffusion par disque et par puits n'a pas permis de détecter des propriétés antibactériennes des gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence, aucune zone d'inhibition n'a été détectée.

Les résultats de mesure de la DO à 600 nm montrent la présence des propriétés antibactériennes au niveau des gousses, en effet, la croissance des 3 souches de référence a été affectée en présence de gousses à une concentration de 1% et surtout à plus affectée à une concentration de 5%. L'extrait des gousses à 1% a présenté un effet bactériostatique sur la souche *Staphylococcus aureus* et un effet bactéricide sur les souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats de la détermination de la CMi de l'extrait des gousses de la plante *Ceratonia siliqua*, montrent que cette dernière est de 820 µg/mL pour la souche *S.aureus*, 270 µg/mL pour la souche *P.aeruginosa* et 91 µg/mL pour la souche *E.coli*.

Ces résultats préliminaires ont montré l'efficacité des gousses de *Ceratonia siliqua* sur 3 souches de référence *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. La plante *Ceratonia siliqua* est une source naturelle qui peut être utilisée comme source alternative aux antimicrobiens chimiques. La poursuite de la recherche et de l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des gousses de *Ceratonia siliqua* permet de compléter cette étude par :

- ✓ La recherche d'autres propriétés antimicrobiennes (propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales) efficaces contre d'autres types de microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme.
- ✓ La recherche si l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* ne peut pas avoir un effet synergique avec d'autres antimicrobiens.

Conclusion et perspectives

- ✓ L'identification des molécules conférant à ces gousses les propriétés antimicrobiennes.

Références
bibliographique

- Abd Razik, B. M., Hasan, H. A., & Murtadha, M. K. (2012). The study of antibacterial activity of *Plantago major* and *Ceratonia siliqua*. *The Iraqi postgraduate medical journal*, 11(1), 130-5.
- Abdelmohsen, U. R., Pimentel-Elardo, S. M., Hanora, A., Radwan, M., Abou-El-Ela, S. H., Ahmed, S., & Hentschel, U. (2010). Isolation, phylogenetic analysis and anti-infective activity screening of marine sponge-associated actinomycetes. *Marine drugs*, 8(3), 399-412.
- Abdulkareem, R. S., Al-Hayali, W. R. Y., & Ibrahim, I. I. (2020). Antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* L. extract against diarrheagenic E-coli. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(12), 2139-2141.
- Ahmad, R., Ahmad, N., Naqvi, A. A., Shehzad, A., & Al-Ghamdi, M. S. (2017). Role of traditional Islamic and Arabic plants in cancer therapy. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(2), 195-204.
- Ahoua, A. R. C., Konan, A. G., Bonfoh, B., & Koné, M. W. (2015). Antimicrobial potential of 27 plants consumed by chimpanzees (*Pan troglodytes* versus Blumenbach) in Ivory Coast. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-12.
- Aissani, N., Coroneo, V., Fattouch, S., & Caboni, P. (2012). Inhibitory effect of carob (*Ceratonia siliqua*) leaves methanolic extract on *Listeria monocytogenes*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(40), 9954-9958.
- Al-Abd, N. M., Nor, Z. M., Mansor, M., Azhar, F., Hasan, M. S., & Kassim, M. (2015). Antioxidant, antibacterial activity, and phytochemical characterization of *Melaleuca cajuputi* extract. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-13.
- Altaf, M., Javid, A., Umair, M., Iqbal, K. J., Rasheed, Z., & Abbasi, A. M. (2017). Ethnomedicinal and cultural practices of mammals and birds in the vicinity of river Chenab, Punjab-Pakistan. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 13(1), 1-24.
- Alzoreky, N. S., & Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International journal of food microbiology*, 80(3), 223-230.

Références bibliographiques

- Amin, A., El-Sayed, A., Foad, M., & Rashwan, O. (2006). Antimicrobial effect of some Egyptian plants. *Egyptian Journal of Nutrition and Health*, 1(1), 1-31.
- Amorim-Carmo, B., Daniele-Silva, A., Parente, A., Furtado, A. A., Carvalho, E., Oliveira, J. W., ... & Fernandes-Pedrosa, M. F. (2019). Potent and broad-spectrum antimicrobial activity of analogs from the scorpion peptide stigmurin. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 623
- Andrews, J. M. (2007). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 6). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(1), 20-41.
- Antoniou, C., Kyratzis, A., Roupael, Y., Stylianou, S., & Kyriacou, M. C. (2020). Heat-and Ultrasound-Assisted Aqueous Extraction of Soluble Carbohydrates and Phenolics from Carob Kibbles of Variable Size and Source Material. *Foods*, 9(10), 1364
- Asselin, A. (1993). Quelques enzymes végétales à potentiel antimicrobien. *Phytoprotection*, 74(1), 3-18.
- Azaizeh, H., Abu Tayeh, H. N., Schneider, R., Klongklaew, A., & Venus, J. (2020). Production of lactic acid from carob, banana and sugarcane lignocellulose biomass. *Molecules*, 25(13)2956.
- Aziz, H. A. S. I. B., & Hicham, E. B. (2014). Optimization of production of carob pulp syrup from different populations of Moroccan carob (*Ceratonia siliqua* L.). *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 4(3), 855-863.
- Baptista, A., Gonçalves, R. V., Bressan, J., & Pelúzio, M. D. C. G. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts and fractions of cashew (*Anacardium occidentale* L.), cajui (*Anacardium microcarpum*), and pequi (*Caryocar brasiliense* C.): a systematic review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018
- Barbosa, L. C. A., Filomeno, C. A., & Teixeira, R. R. (2016). Chemical variability and biological activities of *Eucalyptus* spp. essential oils. *Molecules*, 21(12), 1671.

Références bibliographiques

- Barzkar, N., Jahromi, S. T., Poorsaheli, H. B., & Vianello, F. (2019). Metabolites from marine microorganisms, micro, and macroalgae: immense scope for pharmacology. *Marine drugs*, *17*(8), 464.
- Basavegowda, N., Patra, J. K., & Baek, K. H. (2020). Essential oils and mono/bi/tri-metallic nanocomposites as alternative sources of antimicrobial agents to combat multidrug-resistant pathogenic microorganisms: an overview. *Molecules*, *25*(5), 1058
- Ben Ayache, S., Behija Saafi, E., Emhemmed, F., Flamini, G., Achour, L., & Muller, C. D. (2020). Biological activities of aqueous extracts from carob plant (*Ceratonia siliqua* L.) by Antioxidant, analgesic and proapoptotic properties evaluation. *Molecules*, *25*(14), 3120.
- Benali, T., Habbadi, K., Khabbach, A., Marmouzi, I., Zengin, G., Bouyahya, A., ... & Hammani, K. (2020). GC–MS Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Achillea Odorata* Subsp. *Pectinata* and *Ruta Montana* Essential Oils and Their Potential Use as Food Preservatives. *Foods*, *9*(5), 668.
- Benmahioul, B., Kaid-Harche, M., & Daguin, F. (2011). Le caroubier, une espèce méditerranéenne à usages multiples. *Forêt méditerranéenne*, *32*, 1.
- Bentham, A. R., De la Concepcion, J. C., Mukhi, N., Zdrzałek, R., Draeger, M., Gorenkin, D., ... & Banfield, M. J. (2020). A molecular roadmap to the plant immune system. *Journal of Biological Chemistry*, *295*(44), 14916-14935.
- Berhe, T., Seifu, E., Ipsen, R., Kurtu, M. Y., & Hansen, E. B. (2017). Processing challenges and opportunities of camel dairy products. *International journal of food science*, *2017*.
- Borges, A., Abreu, A. C., Dias, C., Saavedra, M. J., Borges, F., & Simões, M. (2016). New perspectives on the use of phytochemicals as an emergent strategy to control bacterial infections including biofilms. *Molecules*, *21*(7), 877
- Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Douira, A., ... & Meddich, A. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi mediate drought tolerance and recovery in two contrasting carob (*Ceratonia siliqua* L.) ecotypes by regulating stomatal, water relations, and (in) organic adjustments. *Plants*, *9*(1), 80

Références bibliographiques

- Cabanillas, B. J. (2011). Caractérisation de principes actifs antileishmaniens isolés de Piperaceae et Zingiberaceae médicinales péruviennes (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Cano, A., Ettcheto, M., Espina, M., López-Machado, A., Cajal, Y., Rabanal, F., ... & Souto, E. B. (2020). State-of-the-art polymeric nanoparticles as promising therapeutic tools against human bacterial infections. *Journal of Nanobiotechnology*, 18(1), 1-24
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., ... & Quave, C. L. (2021). A systematic review of plants with antibacterial activities: a taxonomic and phylogenetic perspective. *Frontiers in pharmacology*, 11, 2069.
- Choudhary, A., Naughton, L. M., Montánchez, I., Dobson, A. D., & Rai, D. K. (2017). Current status and future prospects of marine natural products (MNPs) as antimicrobials. *Marine drugs*, 15(9), 272.
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- Christou, C., Agapiou, A., & Kokkinofa, R. (2018). Use of FTIR spectroscopy and chemometrics for the classification of carobs origin. *Journal of advanced research*, 10, 1-8.
- Citores, L., Iglesias, R., Gay, C., & Ferreras, J. M. (2016). Antifungal activity of the ribosome-inactivating protein BE 27 from sugar beet (*Beta vulgaris* L.) against the green mould *Penicillium digitatum*. *Molecular plant pathology*, 17(2), 261-271.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582
- Dabbou, S., Ferrocino, I., Gasco, L., Schiavone, A., Trocino, A., Xiccato, G., ... & Nucera, D. M. (2020). Antimicrobial effects of Black Soldier Fly and Yellow Mealworm fats and their impact on gut microbiota of growing rabbits. *Animals*, 10(8), 1292
- Dalio, R. J., Maximo, H. J., Roma-Almeida, R., Barretta, J. N., José, E. M., Vitti, A. J., ... & Pascholati, S. F. (2020). Tea Tree Oil Induces Systemic Resistance against

- Fusarium wilt in Banana and Xanthomonas Infection in Tomato Plants. *Plants*, 9(9), 1137.
- De la Fuente-Fernández, M., González-Hedström, D., Amor, S., Tejera-Muñoz, A., Fernández, N., Monge, L., ... & Granado, M. (2020). Supplementation with a Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Fruit Extract Attenuates the Cardiometabolic Alterations Associated with Metabolic Syndrome in Mice. *Antioxidants*, 9(4), 339.
 - Diaz Carrasco, J. M., Redondo, L. M., Redondo, E. A., Dominguez, J. E., Chacana, A. P., & Fernandez Miyakawa, M. E. (2016). Use of plant extracts as an effective manner to control *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis in poultry. *BioMed Research International*, 2016.
 - Dorsaz, S., Snäkä, T., Favre-Godal, Q., Maudens, P., Boulens, N., Furrer, P., ... & Sanglard, D. (2017). Identification and mode of action of a plant natural product targeting human fungal pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(9), e00829-17.
 - Dzutov, J. K., Touani, F. K., & Kuete, V. (2015). Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-8.
 - Efimenko, T. A., Glukhova, A. A., Demiankova, M. V., Boykova, Y. V., Malkina, N. D., Sumarukova, I. G., ... & Efremenkova, O. V. (2020). Antimicrobial Activity of Microorganisms Isolated from Ant Nests of *Lasius niger*. *Life*, 10(6), 91.
 - El-Seedi, H., El-Wahed, A., Yosri, N., Musharraf, S. G., Chen, L., Moustafa, M., ... & Khalifa, S. (2020). Antimicrobial properties of *Apis mellifera*'s bee venom. *Toxins*, 12(7), 451.
 - European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). (2003). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8), ix-xv.

- Farag, M. A., & El-Kersh, D. M. (2017). Volatiles profiling in *Ceratonia siliqua* (Carob bean) from Egypt and in response to roasting as analyzed via solid-phase microextraction coupled to chemometrics. *Journal of advanced research*, 8(4), 379-385.
- Fidan, H., Stankov, S., Petkova, N., Petkova, Z., Iliev, A., Stoyanova, M., ... & Ercisli, S. (2020). Evaluation of chemical composition, antioxidant potential and functional properties of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Journal of food science and technology*, 57(7), 2404-2413.
- Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., S Kaushik, K., Salehi, B., Bevilacqua, A., ... & Rodrigues, C. F. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130.
- Ghédira, K., & Goetz, P. (2020). Caroubier: *Ceratonia siliqua* (L.)(Fabaceae).
- Goulas, V., Stylos, E., Chatziathanasiadou, M. V., Mavromoustakos, T., & Tzakos, A. G. (2016). Functional components of carob fruit: Linking the chemical and biological space. *International journal of molecular sciences*, 17(11), 1875.
- Gunatilaka, A. L. (2006). Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *Journal of natural products*, 69(3), 509-526.
- Haase, H., Jordan, L., Keitel, L., Keil, C., et Mahltig, B. (2017). Comparison of methods for determining the effectiveness of antibacterial functionalized textiles. *PLoS One*, 12(11), e0188304.
- Haddouchi, F., Zerhouni, K., Sidi-Yekhelef, A., & Chaouche, T. M. (2016). Evaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de liège*, 85, 152-159.
- Hanousek Čiča, K., Mrvčić, J., Srećec, S., Filipan, K., Blažić, M., & Stanzer, D. (2020). Physicochemical and aromatic characterization of carob macerates produced by different maceration conditions. *Food science & nutrition*, 8(2), 942-954.
- Hintz, T., Matthews, K. K., & Di, R. (2015). The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. *BioMed research international*, 2015.

- HSOUNA, A. B., Alayed, A. S., & Abdallah, E. M. (2012). Evaluation of antimicrobial activities of crude methanolic extract of pods of *Ceratonia siliqua* L. against some pathogens and spoilage bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 6(14), 3480-3484.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol.
- Ibrahim, A. H., Abd El-Baky, R. M., Desoukey, S. Y., Abd-Lateff, A., & Kamel, M. S. (2013). Bacterial growth inhibitory effect of *Ceratonia siliqua* L. plant extracts alone and in combination with some antimicrobial agents. *J. Adv. Biotechnol. Bioeng*, 1(1), 3-13.
- Ieri, F., Cecchi, L., Giannini, E., Clemente, C., & Romani, A. (2019). GC-MS and HS-SPME-GC× GC-TOFMS determination of the volatile composition of essential oils and hydrosols (By-products) from four *Eucalyptus* species cultivated in Tuscany. *Molecules*, 24(2), 226.
- Jadrane, I., Dounas, H., Kouisni, L., Aziz, F., & Ouahmane, L. (2021). Inoculation with selected indigenous mycorrhizal complex improves *Ceratonia siliqua*'s growth and response to drought stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 825-832.
- Jouda, J. B., Mbazoa, C. D., Sarkar, P., Bag, P. K., & Wandji, J. (2016). Anticancer and antibacterial secondary metabolites from the endophytic fungus *Penicillium* sp. CAM64 against multi-drug resistant Gram-negative bacteria. *African health sciences*, 16(3), 734-743.
- Jules, K. N. G., Witabouna, K. M., Kouadio, G. N., & Fernique, K. K. (2017). Evaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* L.(Anacardiaceae) sur la croissance in-vitro de souches d'entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et tri phytochimique [Evaluation of the antibacterial activity of leaves *Spondias mombin* L.(Anacardiaceae) on the in vitro growth of producing Enterobacteriaceae of beta-lactamases at extended. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 20(2), 431-440.
- Kang, H. K., Seo, C. H., & Park, Y. (2015). Marine peptides and their anti-infective activities. *Marine drugs*, 13(1), 618-654.

- Karim, A. A., & Azlan, A. (2012). Fruit pod extracts as a source of nutraceuticals and pharmaceuticals. *Molecules*, *17*(10), 11931-11946.
- Karygianni, L., Cecere, M., Argyropoulou, A., Hellwig, E., Skaltsounis, A. L., Wittmer, A., ... & Al-Ahmad, A. (2019). Compounds from *Olea europaea* and *Pistacia lentiscus* inhibit oral microbial growth. *BMC complementary and alternative medicine*, *19*(1), 1-10.
- Khanal, P. R., Satyal, D., Bhetwal, A., Maharjan, A., Shakya, S., Tandukar, S., & Parajuli, N. P. (2017). Renaissance of conventional first-line antibiotics in *Salmonella enterica* clinical isolates: assessment of MICs for therapeutic antimicrobials in enteric fever cases from Nepal. *BioMed research international*, *2017*.
- Kipre, B. G., Guessennd, N. K., Koné, M. W., Gbonon, V., Coulibaly, J. K., & Dosso, M. (2017). Antibacterial activity of the stem bark of *Tieghemella Heckelii* Pierre ex. A Chev against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC complementary and alternative medicine*, *17*(1), 1-5.
- Kokkinofta, R., Yiannopoulos, S., Stylianou, M. A., & Agapiou, A. (2020). Use of Chemometrics for Correlating Carobs Nutritional Compositional Values with Geographic Origin. *Metabolites*, *10*(2), 62.
- Kommanee, J., Preecharram, S., Daduang, S., Temsiripong, Y., Dhiravisit, A., Yamada, Y., & Thammasirirak, S. (2012). Antibacterial activity of plasma from crocodile (*Crocodylus siamensis*) against pathogenic bacteria. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, *11*(1), 1-8.
- Kunalan, S., Othman, I., Syed Hassan, S., & Hodgson, WC (2018). Caractérisation protéomique de deux venins de serpent malaisiens médicalement importants, *Calloselasma rhodostoma* (Malayan Pit Viper) et *Ophiophagus hannah* (King Cobra). *Toxines*, *10* (11), 434.
- Kyratzis, A. C., Antoniou, C., Papayiannis, L. C., Graziani, G., Roupael, Y., & Kyriacou, M. C. (2021). Pod Morphology, Primary and Secondary Metabolite Profiles in Non-grafted and Grafted Carob Germplasm Are Configured by Agro-Environmental Zone, Genotype, and Growing Season. *Frontiers in plant science*, *11*, 2199.

Références bibliographiques

- Lage, O. M., Ramos, M. C., Calisto, R., Almeida, E., Vasconcelos, V., & Vicente, F. (2018). Current screening methodologies in drug discovery for selected human diseases. *Marine drugs*, 16(8), 279.
- Lahssini, S., Hajib, S., Lahlaoui, H., Alaoui, H. M., Khattabi, A., & d'Ingénieurs, E. N. F. (2015). Modelling spatial distribution of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in Azilal Province, Morocco. *Journal of Geography and Geology*, 7(4).
- Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C. N., Tang, G. Y., & Li, H. B. (2017). Antibacterial and antifungal activities of spices. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1283.
- Lobritz, M. A., Belenky, P., Porter, C. B., Gutierrez, A., Yang, J. H., Schwarz, E. G., ... & Collins, J. J. (2015). Antibiotic efficacy is linked to bacterial cellular respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27), 8173-8180.
- Luís, Â., Neiva, D., Pereira, H., Gominho, J., Domingues, F., & Duarte, A. P. (2014). Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols. *Molecules*, 19(10), 16428-16446.
- Manyi-Loh, C., Mamphweli, S., Meyer, E., & Okoh, A. (2018). Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications. *Molecules*, 23(4), 795.
- Matica, M. A., Aachmann, F. L., Tøndervik, A., Sletta, H., & Ostafe, V. (2019). Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 5889.
- Megersa, M., Jima, T. T., & Goro, K. K. (2019). The Use of medicinal plants for the treatment of toothache in Ethiopia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Messaoudi, O., Wink, J., & Bendahou, M. (2020). Diversity of Actinobacteria Isolated from Date Palms Rhizosphere and Saline Environments: Isolation, Identification and Biological Activity Evaluation. *Microorganisms*, 8(12), 1853.
- Meziani, S., Oomah, B. D., Zaidi, F., Simon-Levert, A., Bertrand, C., & Zaidi-Yahiaoui, R. (2015). Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts

against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microbial pathogenesis*, 78, 95-102.0

- Mishra, A., Sharma, A. K., Kumar, S., Saxena, A. K., & Pandey, A. K. (2013). *Bauhinia variegata* leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *BioMed Research International*, 2013.
- Mohamed Abd El-Aziz, T., Soares, A. G., & Stockand, J. D. (2019). Snake venoms in drug discovery: valuable therapeutic tools for life saving. *Toxins*, 11(10), 564.
- Mouas, T. N., Kabouche, Z., & Boufoula, R. (2021, May). *Ceratonia siliqua* L. A Promising Functional Food for Chronic Diseases Related to Gastrointestinal System: Diabetes, and Lactose Intolerance. In *Presented at the 1st International Electronic Conference on Agronomy* (Vol. 3, p. 17).
- Mozhui, L., Kakati, L. N., & Meyer-Rochow, V. B. (2021). Entomotherapy: a study of medicinal insects of seven ethnic groups in Nagaland, North-East India. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 17(1), 1-22.
- Munawar, A., Ali, SA, Akrem, A., & Betzel, C. (2018). Peptides de venin de serpent : outils de biodécouverte. *Toxines* , 10 (11), 474.
- Nicault, M., Zaiter, A., Dumarcay, S., Chaimbault, P., Gelhaye, E., Leblond, P., & Bontemps, C. (2021). Elicitation of Antimicrobial Active Compounds by *Streptomyces*-Fungus Co-Cultures. *Microorganisms*, 9(1), 178.
- Nicolaou, K. C., Hale, C. R., Nilewski, C., & Ioannidou, H. A. (2012). Constructing molecular complexity and diversity: total synthesis of natural products of biological and medicinal importance. *Chemical Society Reviews*, 41(15), 5185-5238.
- Nigussie, D., Davey, G., Tufa, T. B., Brewster, M., Legesse, B. A., Fekadu, A., & Makonnen, E. (2021). Antibacterial and antifungal activities of Ethiopian medicinal plants: a systematic review. *Frontiers in pharmacology*, 12.
- Njateng, G. S. S., Du, Z., Gatsing, D., Mouokeu, R. S., Liu, Y., Zang, H. X., ... & Kuate, J. R. (2017). Antibacterial and antioxidant properties of crude extract, fractions and compounds from the stem bark of *Polyscias fulva* Hiern (Araliaceae). *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-8.

Références bibliographiques

- Noumedem, J. A., Mihasan, M., Lacmata, S. T., Stefan, M., Kuate, J. R., & Kuete, V. (2013). Antibacterial activities of the methanol extracts of ten Cameroonian vegetables against Gram-negative multidrug-resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 1-9.
- Ocampo, P. S., Lázár, V., Papp, B., Arnoldini, M., Abel zur Wiesch, P., Busa-Fekete, R., ... & Bonhoeffer, S. (2014). Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(8), 4573-4582.
- Ogawara, H. (2018). Comparison of strategies to overcome drug resistance: learning from various kingdoms. *Molecules*, 23(6), 1476.
- Ouis, N., & Hariri, A. (2018). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of *Ceratonia siliqua*. *Banat's Journal of Biotechnology*, 9(17).
- Pan, C. Y., Tsai, T. Y., Su, B. C., Hui, C. F., & Chen, J. Y. (2017). Study of the antimicrobial activity of tilapia piscidin 3 (TP3) and TP4 and their effects on immune functions in hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.). *PloS one*, 12(1), e0169678.
- Papaefstathiou, E., Agapiou, A., Giannopoulos, S., & Kokkinofa, R. (2018). Nutritional characterization of carobs and traditional carob products. *Food science & nutrition*, 6(8), 2151-2161
- Pappas, M. L., Liapoura, M., Papantoniou, D., Avramidou, M., Kavroulakis, N., Weinhold, A., ... & Papadopoulou, K. K. (2018). The beneficial endophytic fungus *fusariumsolani* strain k alters tomato responses against spider mites to the benefit of the plant. *Frontiers in plant science*, 9, 1603.
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., del Pilar Rodriguez-Torres, M., Acosta-Torres, L. S., ... & Shin, H. S. (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-33.
- Peraman, R., Sure, S. K., Dusthacker, V. A., Chilamakuru, N. B., Yiragamreddy, P. R., Pokuri, C., ... & Chinni, S. (2021). Insights on recent approaches in drug discovery strategies and untapped drug targets against drug resistance. *Future journal of pharmaceutical sciences*, 7(1), 1-25.

Références bibliographiques

- Peyrat, L. A., Tsafantakis, N., Georgousaki, K., Ouazzani, J., Genilloud, O., Trougakos, I. P., & Fokialakis, N. (2019). Terrestrial microorganisms: cell factories of bioactive molecules with skin protecting applications. *Molecules*, 24(9), 1836
- Poolman, J. T. (2020). Expanding the role of bacterial vaccines into life-course vaccination strategies and prevention of antimicrobial-resistant infections. *npj Vaccines*, 5(1), 1-12
- Pushpanathan, M., Gunasekaran, P., & Rajendhran, J. (2013). Antimicrobial peptides: versatile biological properties. *International journal of peptides*, 2013. Antimicrobial peptides: versatile biological properties
- Qasem, M. A., Noordin, M. I., Arya, A., Alsalahi, A., & Jayash, S. N. (2018). Evaluation of the glycemic effect of Ceratonia siliqua pods (Carob) on a streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rat model. *PeerJ*, 6, e4788.
- Rao, H., Lai, P., & Gao, Y. (2017). Chemical composition, antibacterial activity, and synergistic effects with conventional antibiotics and nitric oxide production inhibitory activity of essential oil from *Geophila repens* (L.) IM Johnst. *Molecules*, 22(9), 1561
- Ražná, K., Sawinska, Z., Ivanišová, E., Vukovic, N., Terentjeva, M., Stričík, M., ... & Kačániová, M. (2020). Propriétés du Ginkgo biloba L. : caractérisation antioxydante, activités antimicrobiennes et empreintes digitales des marqueurs génomiques à base de microARN. *Revue internationale des sciences moléculaires*, 21 (9), 3087.
- Rheubert, J. L., Meyer, M. F., Strobel, R. M., Pasternak, M. A., & Charvat, R. A. (2020). Predicting antibacterial activity from snake venom proteomes. *PloS one*, 15(1), e0226807
- Rodrigues, A. B., Almeida-Apolonio, A. A. D., Alfredo, T. M., Dantas, F. G. D. S., Campos, J. F., Cardoso, C. A. L., ... & Oliveira, K. M. P. D. (2019). Chemical Composition, Antimicrobial Activity, and Antioxidant Activity of *Ocotea minarum* (Nees & Mart.) Mez. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Rtibi, K., Jabri, M. A., Selmi, S., Souli, A., Sebai, H., El-Benna, J., ... & Marzouki, L. (2015). Gastroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) against ethanol-induced oxidative stress in rat. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-8

Références bibliographiques

- Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, *21*(7), 836
- Ryskaliyeva, A., Henry, C., Miranda, G., Faye, B., Konuspayeva, G., & Martin, P. (2019). Alternative splicing events expand molecular diversity of camel CSN1S2 increasing its ability to generate potentially bioactive peptides. *Scientific reports*, *9*(1), 1-13.
- Sabo, V. A., & Knezevic, P. (2019). Antimicrobial activity of Eucalyptus camaldulensis Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Industrial crops and products*, *132*, 413-429.
- Sadiq, A., Ahmad, S., Ali, R., Ahmad, F., Ahmad, S., Zeb, A., ... & Siddique, A. N. (2016). Antibacterial and antifungal potentials of the solvents extracts from Eryngium caeruleum, Notholirion thomsonianum and Allium consanguineum. *BMC complementary and alternative medicine*, *16*(1), 1-8.
- Sadiq, M. B., Tarning, J., Aye Cho, T. Z., & Anal, A. K. (2017). Antibacterial activities and possible modes of action of Acacia nilotica (L.) Del. against multidrug-resistant Escherichia coli and Salmonella. *Molecules*, *22*(1), 47.
- Santos, U. P., Campos, J. F., Torquato, H. F. V., Paredes-Gamero, E. J., Carollo, C. A., Estevinho, L. M., ... & Dos Santos, E. L. (2016). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties as well as the phenolic content of the extract from Hancornia speciosa Gomes. *PLoS One*, *11*(12), e0167531
- Saravanakumar, K., Chelliah, R., Hu, X., Oh, D. H., Kathiresan, K., & Wang, M. H. (2019). Antioxidant, anti-lung cancer, and anti-bacterial activities of Toxicodendron vernicifluum. *Biomolecules*, *9*(4), 127
- Sathoff, A. E., Lewenza, S., & Samac, D. A. (2020). Plant defensin antibacterial mode of action against Pseudomonas species. *BMC microbiology*, *20*(1), 1-11.
- Schwarz, S., Shen, J., Kadlec, K., Wang, Y., Michael, G. B., Feßler, A. T., & Vester, B. (2016). Lincosamides, streptogramins, phenicols, and pleuromutilins: mode of

action and mechanisms of resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(11), a027037

- Segura-Ramírez, P. J., & Silva Júnior, P. I. (2018). *Loxosceles gaucho* spider venom: an untapped source of antimicrobial agents. *Toxins*, 10(12), 522.
- Seo, J., Ren, G., Liu, H., Miao, Z., Park, M., Wang, Y., ... & Cheng, Z. (2012). In vivo biodistribution and small animal PET of ⁶⁴Cu-Labeled antimicrobial peptoids. *Bioconjugate chemistry*, 23(5), 1069-1079.
- Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous Animals and Toxins including tropical diseases*, 16(3), 402-413
- Sisay, M., Bussa, N., Gashaw, T., & Mengistu, G. (2019). Investigating In Vitro Antibacterial Activities of Medicinal Plants Having Folkloric Repute in Ethiopian Traditional Medicine. *Journal of evidence-based integrative medicine*, 24, 2515690X19886276.
- Tang, D., Wang, G., & Zhou, J. M. (2017). Receptor kinases in plant-pathogen interactions: more than pattern recognition. *The Plant Cell*, 29(4), 618-637.
- Theophilou, I. C., Neophytou, C. M., & Constantinou, A. I. (2017). Carob and its Components in the Management of Gastrointestinal Disorders. *J. Hepatol Gastroenterol*, 1(005).
- Tian, C., Zhang, P., Yang, C., Gao, X., Wang, H., Guo, Y., & Liu, M. (2018). Extraction process, component analysis, and in vitro antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of total flavonoid extracts from *abutilon theophrasti* medic. leaves. *Mediators of inflammation*, 2018.
- Tofighi, Z., Molazem, M., Doostdar, B., Taban, P., Shahverdi, A. R., Samadi, N., & Yassa, N. (2015). Antimicrobial activities of three medicinal plants and investigation of flavonoids of *Tripleurospermum disciforme*. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 225.

Références bibliographiques

- Toghueo, R. M. K., & Boyom, F. F. (2020). Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. *3 Biotech*, *10*(3), 1-35 .
- Tornesello, A. L., Borrelli, A., Buonaguro, L., Buonaguro, F. M., & Tornesello, M. L. (2020). Antimicrobial peptides as anticancer agents: Functional properties and biological activities. *Molecules*, *25*(12), 2850.
- Ullah, M. O., Haque, M., Urmi, K. F., Zulfiker, A. H. M., Anita, E. S., Begum, M., & Hamid, K. (2013). Anti-bacterial activity and brine shrimp lethality bioassay of methanolic extracts of fourteen different edible vegetables from Bangladesh. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, *3*(1), 1-7.
- Vlazaki, M., Huber, J., & Restif, O. (2019). Integrating mathematical models with experimental data to investigate the within-host dynamics of bacterial infections. *Pathogens and disease*, *77*(8),
- Wall, S. (2019). Prevention of antibiotic resistance—an epidemiological scoping review to identify research categories and knowledge gaps. *Global Health Action*, *12*(sup1), 1756191.
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature protocols*, *3*(2), 163-175.
- Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, *2*(3), 251-286.
- Xie, Y., Chen, J., Xiao, A., & Liu, L. (2017). Antibacterial activity of polyphenols: Structure-activity relationship and influence of hyperglycemic condition. *Molecules*, *22*(11), 1913.
- Xu, C., Akakuru, O. U., Zheng, J., & Wu, A. (2019). Applications of iron oxide-based magnetic nanoparticles in the diagnosis and treatment of bacterial infections. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *7*, 141.
- Zakeri, B., & Lu, T. K. (2013). Synthetic biology of antimicrobial discovery. *ACS synthetic biology*, *2*(7), 358-372

Références bibliographiques

- Zhang, Y., Mu, J., Feng, Y., Kang, Y., Zhang, J., Gu, P. J., ... & Zhu, Y. H. (2009). Broad-spectrum antimicrobial epiphytic and endophytic fungi from marine organisms: isolation, bioassay and taxonomy. *Marine drugs*, 7(2), 97-112.
- Zharkova, M. S., Orlov, D. S., Golubeva, O. Y., Chakchir, O. B., Eliseev, I. E., Grinchuk, T. M., & Shamova, O. V. (2019).. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 128 .
- Zhou, G., Shi, Q. S., Huang, X. M., & Xie, X. B. (2015). The three bacterial lines of defense against antimicrobial agents. *International journal of molecular sciences*, 16(9), 21711-21733
- Zorofchian Moghadamtousi, S., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed research international*, 2014.

Résumé

Les infections causées par des microorganismes constituent un réel danger qui menace la santé l'homme. Pour les contrer, l'homme a toujours recherché, dans différentes sources naturelles des propriétés antibactériennes. Un grand nombre des plantes présentent des propriétés antibactériennes importantes. Actuellement, le caroubier (*Ceratonia siliqua*) est considéré comme l'une des plantes les plus intéressantes connue pour ses propriétés biologiques, telles que les propriétés antibactériennes.

Afin de vérifier l'action antibactérienne des gousses la plante *Ceratoniasiliqua* sur des souches de référence *Escherichia coli*, *Pseudomoas aerogeosa* et *Staphylococcus aureus*, des tests de recherche et d'évaluation, *in vitro*, d'activités antibactériennes ont été effectués sur milieu solide (méthode de diffusion par disque et par puits) et sur milieu liquide (mesure de la DO de croissance et détermination de la CMI).

Les résultats obtenus que sur milieu solide aucune activité antibactérienne n'a été détectée. En revanche, les résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne sur milieu liquide a permis de montrer une activité antibactérienne de l'extrait des gousses de *Ceratonia siliqua* sur les 3 souches de référence. Les résultats de la détermination de la CMI de l'extrait des gousses de la plante *Ceratonia siliqua*, montrent que cette dernière est de 820 µg/mL pour la souche *P.aeruginosa*, de 274 µg/mL pour la souche *E.coli* et de 246 µg/mL pour la souche *S.aureus*.

Mots-clés : *Ceratonia siliqua*, activité antibactérienne, CMI, *Escherichia coli*, *Pseudomoas aerogeosa*, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Infections caused by microorganisms are a real danger that threatens human health. To counter them, man has always been sought after in various natural sources for antibacterial properties. Many of the plants exhibit important antibacterial properties. Currently, the carob tree (*Ceratonia siliqua*) is considered one of the most interesting plants known for its biological properties, such as antibacterial properties. In order to verify the antibacterial action of the pods of the *Ceratonia siliqua* plant on reference strains *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa* and *Staphylococcus aureus*, research and evaluation tests, in vitro, of antibacterial activities were carried out on solid medium (method of diffusion by disc and per well) and on liquid medium (measurement of the growth OD and determination of the MIC).

The results obtained that on solid medium no antibacterial activity was detected. On the other hand, the results of evaluation of the antibacterial activity on liquid medium made it possible to show an antibacterial activity of the extract of the pods of *Ceratonia siliquas* on the 3 strains reference. The results of the determination of the MIC of the extract of the pods of the *Ceratonia siliqua* plant, show that the latter is 820 µg / mL for the *P.aeruginosa strain*, 274 µg / mL for the *E.coli* strain and 246 µg / mL for the strain *S. aureus*.

Keywords: *Ceratonia siliqua*, antibacterial activity, MIC, *Escherichia coli*, *Pseudomoas aerogeosa*, *Staphylococcus aureus*.

ملخص

تعد العدوى التي تسببها الكائنات الحية الدقيقة خطرًا حقيقيًا يهدد صحة الإنسان. لمواجهة هذا ، لطالما تم البحث عن الإنسان في العديد من المصادر الطبيعية لخصائصه المضادة للبكتيريا. تُظهر العديد من النباتات خصائص مهمة مضادة للبكتيريا ، (حاليًا من أكثر النباتات إثارة للاهتمام والمعروفة بخصائصها البيولوجية ، *Ceratonia siliqua* وتعتبر شجرة الخروب) مثل الخصائص المضادة للبكتيريا.

من أجل التحقق من التأثير المضاد للبكتيريا لقرون نبات *Ceratonia siliqua* على السلالات المرجعية *Escherichia coli* و *Pseudomonas aerogenosa* و *Staphylococcus aureus* ، تم إجراء اختبارات البحث والتقييم في المختبر للأنشطة المضادة للبكتيريا على وسط صلب (طريقة الانتشار عن طريق القرص و حسب بئر) وعلى الوسط السائل (قياس النمو OD وتحديد MIC).

لنتائج التي تم الحصول عليها في الوسط الصلب، لم يتم الكشف عن أي نشاط مضاد للجراثيم. جعلت نتائج تقييم النشاط المضاد للبكتيريا على الوسط السائل من الممكن إظهار النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص قرون *Ceratonia siliqua* على السلالات المرجعية الثلاثة. تظهر نتائج تحديد MIC لمستخلص قرون نبات *Ceratonia siliqua* أن الأخير هو 820 ميكروغرام / مل لسلالة *P.aeruginosa* ، و 274 ميكروغرام / مل لسلالة *E.coli* و 246 ميكروغرام / مل لسلالة بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية *S.aureus* .

الكلمات المفتاحية: *Ceratonia siliqua* ، نشاط مضاد للجراثيم ، MIC ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aerogenosa* ، *Staphylococcus aureus* .

