

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 Biologiques



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 d'activités biologiques chez des bactéries isolées
à partir de différents sols.**

Présenté Par :

- 1) Melle BEKKOUCHE Nesrine
- 2) Melle BENALI Maroua
- 3) Melle DERRAR Hidayete

Devant le jury composé de :

Dr Ouassila BENHABIB	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr Nassima BRIXI GORMAT	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr Sofiane Mourad BENYAMINA	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2023/2024

Remerciements

*En premier lieu, nous remercions Dieu **ALLAH**, le tout-puissant
Qui nous a donné la patience, la santé et le courage de mener ce travail à terme.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre professeur et encadrant, **Dr Sofiane Mourad BENYAMINA**, d'avoir accepté de nous encadrer et de nous accompagner dans l'achèvement de ce mémoire. Nous exprimons notre vive gratitude pour la qualité de son enseignement, ainsi que pour sa disponibilité associée à son impressionnant dynamisme scientifique. Nous le remercions également chaleureusement pour l'excellence de son encadrement, sa patience, sa rigueur et ses conseils durant tout le travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements aux membres du jury, **Dr Ouassila BENHABIB** Pour l'honneur qu'elle nous fait en présidant nos jurys de soutenance. Nos remerciements vont également au **Dr Nassima BRIXI GORMAT** pour avoir accepté d'être examinatrice de notre travail. Nous tenons à les remercier pour leurs qualités d'enseignement.*

*Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers l'ensemble des techniciens du laboratoire de la Faculté des sciences de la nature et de la vie, notamment **M.Ahmed Drif**, pour leur gentillesse, leur disponibilité et leur aide précieuse tout au long de notre séjour au laboratoire.*

Nos vifs remerciements du fond du cœur à nos chers parents et à notre famille pour leurs prières, leur soutien et leurs encouragements.

*Enfin, nos remerciements s'adressent également à nos professeurs qui ont contribué à notre formation durant nos années d'études sans oublier tous nos ami(e)s de **la promotion 2019/2024**.*

BEKKOUCHE Nesrine
BENALI Maroua
DERRAR Hidayete

Dédicace

D'abord, avant de dédier ce magnifique travail, je remercie Dieu, pour m'avoir aidé à Atteindre ce stade d'étude et Je suis reconnaissante envers moi-même pour cet excellent travail que j'ai accompli, pour avoir cru en moi et être restée forte tout au long de cette période.

*J'ai l'honneur de dédier ce travail à **mes chers parents**, sans qui je ne pourrais jamais imaginer une vie. Merci pour votre sacrifice et votre soutien sans fin pendant toutes mes années d'études. Que Dieu vous garde et vous protège.*

*Je le dédie également à ma sœur **Hadjer Lina**, qui a été une source de force pour moi. Je te souhaite réussite dans ton baccalauréat et à mon petit frère **Walide**, une vie pleine de joie, de réussite et de bonheur.*

*À ma tante **Fadila** et **Rahma** qui m'ont soutenue et n'ont jamais cessé de prier pour moi.*

*À ma très chère copine **Maroua**, je te remercie d'être restée avec moi à chaque étape de nos études, pour tous les moments doux et amers que nous avons traversés ensemble. Je te souhaite une vie pleine de succès.*

*À mon amie de travail, **Hidayate**, je vous souhaite tout le succès, le bonheur et encore plus de joies.*

Merci pour tous les bons moments que nous avons partagés ensemble.

Nesrine

Dédicace

*Je dédie le fruit de ce travail à mon père **Mohamed** et ma mère **Nassera**,
Les plus chers à mon cœur*

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon bien-être, mon éducation et ma formation. Je vous aime et j'implore le Tout-Puissant pour qu'Il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse

*À ma chère **Safaa***

Merci ma petite et unique sœur que j'ai, merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, ton soutien, ton encouragement et ton amour inconditionnel

*À mon âme sœur **Amel***

Merci pour ta présence durant toutes ces longues années de notre amitié, merci pour tes bons conseils, ton soutien moral et ta confiance en moi, dans les périodes les plus difficiles de ma vie.

*À ma chère copine **Nesrine***

Merci pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble, merci pour les merveilleux souvenirs que tu as créés avec moi au cours de ces années. Je te souhaite le meilleur, la réussite et le bonheur.

À mes amis

Merci pour les moments de travail et de plaisir que nous avons partagés. Votre compagnie a rendu cette aventure d'apprentissage encore plus plaisante et mémorable

Maroua

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect, avec D'expérience de ma Reconnaissance, je dédie ma remise de diplôme et ma joie à plusieurs personnes qui ont joué un rôle essentiel dans mon parcours académique et personnel.

*Tout D'abord, A mon Paradis, a la prunelle de mes yeux, a la source de ma joie et mon bonheur, ma Lune et le fil d'espoir qui allumer mon chemin, ma moitié, Maman C'est a vous que je dois mon succès, Merci d'etre la toujours pour Moi
Merci pour votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et votre encouragements constants tout au long de mes études. Votre confiance en moi a été une source inestimable de motivation.*

A celui qui m'a fait une femme, a mon Source de force et de Motivation a mon support qui était Toujours a mes cotés pour me Soutenir et m'encourager Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, J'espère que vous y Trouverez les fruits de votre semence et le Témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père.

*A mes Chers frères Amine, Rahim et Yacine
Mes complices de Toujours, je vous envoie tout mon Amour et ma gratitude, Nos liens sont plus forts que les mots ne peuvent l'exprimer, Vos êtes mes Piliers et je vous aime plus que tout au Monde.*

*A Mes Chères Soeurs Sabrina, Chahinez et Sarah
Avec gratitude et Amour je vous dédie ces mots pour vous Dire combien votre présence est précieuse Pour moi j'oublierai jamais Votre soutien continu dans mes moments difficiles et votre tentative de me redonner espoir malgré les déceptions,
Merci mes Sœurs je vous aime plus que tout au Monde.*

À mes amis, pour leur compréhension, leur aide et leurs moments de joie partagés. Vous avez rendu ce voyage d'apprentissage beaucoup plus agréable.

Enfin, A ma famille Derrar, et je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à mon parcours et à mon succès. Votre influence et votre soutien ont été profondément appréciés.

Hidayete

Sommaire

Remerciements	I
Dédicace	II
LISTE DES FIGURES	III
LISTE DES TABLEAUX	V
LISTE DES ABRIVIATIONS	VI
LISTE DES ANNEXES	IV
Introduction	1
Synthèse bibliographique	2
1. Les propriétés antimicrobiennes.....	3
2. Les propriétés anti-inflammatoires.....	5
3. Les propriétés antioxydantes.....	8
4. Les sources des propriétés antioxydantes.....	10
4.1. Les propriétés antioxydantes provenant des plantes.....	10
4.2. Les propriétés antioxydantes provenant des animaux.....	12
4.3. Les activités antioxydantes provenant des microorganismes.....	13
Matériel et méthodes	16
1. Prélèvement des échantillons à partir des différents sols et isolement et purification des isolats bactériens.....	16
1.1. Prélèvement des échantillons à partir des différents sols.....	16
1.2. Isolement et purification des isolats bactériens.....	17
2. Vérification de la pureté des isolats.....	17
2.1. Observation macroscopique.....	17
2.2. Observation microscopique.....	17
3. Recherche d'activités antioxydantes chez les différents isolats bactériens.....	18
3.1. Recherche des propriétés antioxydantes en boîte sur Gélose Nutritive.....	18
3.1.1. Préparation des suspensions bactériennes selon le standard McFarland 0.5.....	18

3.2. Test de résistance/sensibilité des isolats bactériens à l' H ₂ O ₂ par la méthode de diffusion par disques.....	18
4. Préparation des cultures et récupération des surnageants bactériens des isolats bactériens	20
4.1. Préparation des pré-cultures bactériennes	20
4. 2. Préparation des cultures bactériennes et récupération des surnageants.....	20
5. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976).....	20
6. Recherche d'activités antioxydantes dans les isolats bactériens	21
6.1. Recherche d'activité catalasique dans les surnageants des isolats bactériens	21
6.2. Recherche d'activités de piégeage du DPPH par les surnageants des isolats bactériens	22
Résultats et discussion.....	24
1. Isolement et purification des isolats bactériens	24
2. Vérification de la pureté des isolats.....	24
2.1. Observation macroscopique	24
2.2. Observation microscopique.....	25
3. Recherche d'activités antioxydantes chez les différents isolats bactériens.....	26
3.1. Recherche des propriétés antioxydantes en boîte sur Gélose Nutritive.....	26
3.1.1. Préparation des suspensions bactériennes selon le standard McFarland 0.5.....	26
3.2. Test de résistance/sensibilité à l' H ₂ O ₂ des isolats bactériens (méthode de diffusion par disques).....	26
4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976).....	31
5. Recherche d'activités antioxydantes dans les isolats bactériens	32
5.1. Recherche d'activité catalasique dans les surnageants des isolats bactériens	32
5.2. Recherche d'activités de piégeage du DPPH par les surnageants des isolats bactériens	41
Conclusion et Perspectives.....	55
Références bibliographiques	57
Annexes	84
Résumé.....	85

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Résumé graphique de l'origine et les activités biologiques des peptides antimicrobiens.....	05
Figure 2: Voie d'action des anti-inflammatoires	07
Figure 3: Relation entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS en anglais Reactive Oxygen Species), les antioxydants et le stress oxydatif.....	09
Figure 4: Prélèvement des échantillons du sol.	16
Figure 5: Représentation schématique de la méthode de diffusion sur disque.....	19
Figure 6: Exemple de comparaison visuelle entre la turbidité du McFarland 0,5 et la turbidité des 4 isolats bactériens.....	26
Figure 7: Exemple d'un résultat de la résistance/sensibilité de l'isolat ISS1 évaluée par la méthode de diffusion par disques.....	27
Figure 8: Courbe étalon de la protéine de référence BSA.....	31
Figure 9: Courbe étalon de l'H ₂ O ₂	33
Figure 10: Pourcentages de dégradation de l'H ₂ O ₂ par les surnageants, des isolats bactériens, à différentes concentrations.....	34
Figure 11: Détermination de l'IC ₅₀ de la dégradation de l'H ₂ O ₂ par les différents surnageants bactériens.....	38
Figure 12: Courbe étalon du DPPH.....	42
Figure 13: Pourcentages d'inhibition du DPPH par les surnageants, des isolats bactériens, à différentes concentrations.....	42
Figure 14: Détermination de l'IC ₅₀ d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens.....	44
Figure 15: Pourcentages d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique, à différentes concentrations.....	48
Figure 16: Détermination de l'IC ₅₀ de l'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.....	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Gamme étalon utilisée pour la préparation du courbe étalon de la BSA.....	21
Tableau 2 : Gamme étalon utilisée pour la préparation du courbe étalon de l'H ₂ O ₂	22
Tableau 3 : Gamme étalon utilisée pour la préparation du courbe étalon du DPPH.....	24
Tableau 4 : Tableau récapitulatif des résultats de l'observation macroscopique des différents isolats bactériens.....	24
Tableau 5 : Tableau récapitulatif des résultats de l'observation microscopique des différents isolats bactériens.....	25
Tableau 6 : Tableau récapitulatif des résultats de la Résistance/Sensibilité des isolats bactériens vis-à-vis des différentes concentrations d'H ₂ O ₂	27
Tableau 7 : Concentration en protéine des surnageants des 8 isolats bactériens.....	32
Tableau 8 : Valeurs des IC ₅₀ de la dégradation de l'H ₂ O ₂ par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL).....	38
Tableau 9 : Valeurs des IC ₅₀ d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL).....	46
Tableau 10 : IC ₅₀ des activités de dégradation de l'H ₂ O ₂ et d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL).....	49

LISTE DES ABRIVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique	NADH : hydrure de nicotinamide adénine dinucléotide
AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens	nm : nanomètres
AINS : anti-inflammatoires non stéroïdiens	SOD : superoxydes dismutase
AH : molécule donneuse de l'atome d'hydrogène.	trs/min : Tours par minute
AMP : les peptides antimicrobiens	UFC/mL : Unité Faisant Colonie
BaCl₂ : chlorure de baryum	µg /mL : Microgramme par millilitre
BN : Bouillon Nutritif	µL : Microlitre
BSA : Protéine Albumine du Sérum Bovin	°C : degrés Celsius
BHT : butylhydroxytoluène	
Cm : Centimètre	
COX : cyclooxygénase	
DO : Densité Optique	
DPPH : 2,2-Di(4-tert-octylPhényl)-1-PicrylHydrazyl) PicrylHydrazyl)	
EAO : Espèces actives de l'oxygène	
ERO : Espèces Réactives de l'oxygène	
ERN : Espèces Réactives de l'Azote	
g : gramme	
GN : Gélose Nutritive	
GSH : glutathion	
GPx : glutathion peroxydase	
HO₂ : radical perhydroxyle	
H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène	
H₂O : molécule d'eau	
HOCl : Acide hypochloreux	
H₂SO₄ : Acide sulfurique	
IC₅₀ : Concentration Inhibitrice Médiane	
LPS : lipopolysaccharide	
L : Litre	
LOOH : l'hydroperoxyde lipidique	
M : Molaire	
mg : Milligramme	
mg/mL : Milligramme par millilitre	
mL : Millilitre	
mm : Millimètre	
mM : millimolaire	

LISTE DES ANNEXES

1. Préparation des milieux de culture	84
2. Préparation de Bouillon Nutritif.....	84
3. Préparation de la Gélose Nutritive	84
4. Préparation de l'eau physiologie	84

Introduction générale

Les métabolites primaires et secondaires produits par différents organismes vivants, comprenant les plantes, les animaux et les bactéries, représentent une source précieuse de produits naturels qui sont caractérisés par leur diversité chimique et leurs activités biologiques variées, offrent un large éventail de propriétés bénéfiques, telles que des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydantes (Hartmann, 1996 ; Takamatsu *et al.*, 2003 ; Demain et Sanchez, 2009 ; Pham *et al.*, 2019). Les activités antioxydantes, en particulier, ont suscité un intérêt considérable dans la recherche, conduisant à l'exploration continue de nouvelles substances aux propriétés similaires (Jaganjac *et al.*, 2021).

L'étude des antioxydants et de leur rôle dans divers domaines, passant de l'ingénierie alimentaire à la médecine et à la pharmacie, suscite un intérêt croissant (Singh *et al.*, 2017). L'évolution des connaissances sur le rôle des antioxydants dans divers domaines s'aligne avec une prise de conscience croissante des conséquences du stress oxydatif, qui découle d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives d'oxygène/azote (ERO/ERN) et les mécanismes de défense antioxydants cellulaires (Waterman *et al.*, 2002 ; Valko *et al.*, 2007 ; Carochi et Ferreira, 2013). Les antioxydants, dérivés d'une multitude d'organismes dont les microorganismes, jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre des ERO et ERN, et protègent ainsi contre les effets néfastes du stress oxydatif (Kuzmanovski *et al.*, 2015) comme les dommages causés aux protéines, à l'ADN et aux lipides, ce qui peut entraîner une altération de la fonction cellulaire, des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, notamment l'hypertension et le diabète, et aussi peuvent provoquer une accélération du vieillissement (Hink *et al.*, 2000 ; Valko *et al.*, 2006 ; Kibel *et al.*, 2020).

Parmi les microorganismes, les bactéries se distinguent comme des productrices majeures d'enzymes antioxydantes importantes telles que les superoxydes dismutases et les catalases, ainsi que de substances antioxydantes telles que les caroténoïdes, les polyphénols, et les peptides bioactifs (Mirończuk-Chodakowska *et al.*, 2018 ; Vladkova *et al.*, 2022). Cette capacité à synthétiser ces composés antioxydants, fait des bactéries des acteurs clés dans la fourniture d'antioxydants naturels (Lertcanawanichakul *et al.*, 2015).

Pour cela, l'objectif de notre étude est de rechercher des propriétés antioxydantes chez des bactéries isolées à partir de différents sols : un sol vierge, un sol d'une zone rhizosphérique, un sol situé à 1 mètre d'une zone rhizosphérique et un sol d'une zone rhizosphérique d'un sol salin.

Synthèse bibliographique

Depuis l'antiquité, et tout au long de l'histoire humaine, divers matériaux de la Nature ont été utilisés par l'homme pour guérir ses maladies et améliorer sa santé (Alves et Alves, 2011).

La nature a toujours été considérée comme une source riche et diversifiée de composés biologiquement actifs, dotés de propriétés biologiques comme par exemple les propriétés antimicrobiennes (Newman et Cragg, 2020), antiparasitaires, antioxydantes (Wink, 2015 ; Grkovic *et al.*, 2020), antidiabétiques, anticancéreuses (Radha et Laxmipriya, 2015) et anti- inflammatoires (Ekiert et Szopa, 2022). Ces propriétés ont un grand potentiel permettant de répondre aux besoins de l'homme dans les différents secteurs tels que le secteur de l'agroalimentaire (Al Fadhly *et al.*, 2022), le secteur pharmaceutique et thérapeutique (Siddiqui *et al.*, 2014) et le secteur cosmétique (Aburjai et Natsheh, 2003).

Par exemple, dans le secteur alimentaire, les propriétés antioxydantes montrent une efficacité dans la prolongation de la durée de conservation des aliments (Rivas-Garcia *et al.*, 2022). Dans le secteur pharmaceutique et thérapeutique, les composés anti-inflammatoires peuvent être utilisés comme médicaments (Rohith et Halami, 2021), les agents antimicrobiens ont également des applications vétérinaires lors de la production animale (Rosengren *et al.*, 2010), et peuvent être utilisées pour le traitement de certaines maladies infectieuses (Rios et Recio, 2005).

Aussi dans le secteur cosmétique, les composés antioxydants possèdent une efficacité antirides accrue et une efficacité blanchissante (Lee *et al.*, 2012). De plus des composés antiinflammatoires peuvent être utilisés comme ingrédients cosmétiques bioferments, favorisant la cicatrisation (Sivamaruthi *et al.*, 2018).

Ces propriétés biologiques peuvent provenir de plusieurs organismes vivants, notamment de plantes, de microorganismes, d'organismes marins, de vertébrés et invertébrés terrestres (Newman, 2000). Les propriétés biologiques peuvent être récupérées directement à partir des organismes vivants ou bien à partir de leurs dérivés comme par exemple les huiles essentielles (Aboughe *et al.*, 2015) ou le miel (Larsen et Ahmed, 2022) et peuvent être issues des métabolites primaires ou secondaires (Elshafie *et al.*, 2023).

Vu leur importance, plusieurs études ont été lancées par différents laboratoires, pour rechercher et caractériser des propriétés biologiques chez différents organismes vivants. Parmi les propriétés biologiques connues et étudiées, on peut citer :

1. Les propriétés antimicrobiennes

Les maladies causées par les infections microbiennes, ont été un obstacle majeur au progrès et à la survie de l'humanité et ceci pendant des siècles. Ces infections microbiennes, sont toujours l'une des principales causes de décès dans le monde (Morens *et al.*, 2004).

Les maladies infectieuses sont généralement provoquées par des microorganismes, tels que les bactéries, les virus et les parasites. La dangerosité de ces derniers, dépend du type et du degré de dommages causés lors de leur entrée dans l'hôte (Cabanis, 2007 ; Schlechte *et al.*, 2023). Ces infections peuvent être causées par différents types microbiens, par exemple, les infections virales comme celle causée par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) (Sulaiman *et al.*, 2021), les infections bactériennes celles causées par la bactérie *Clostridium difficile*, elle peut inclure des graves maladies comme la colite pseudomembraneuse (Bartlett et Gerding, 2008 ; Goldberg *et al.*, 2014) et les infections fongiques comme celles causées par *Aspergillus fumigatus*, elle peut impliquer des infections invasives comme l'aspergillose (Hakkouni et Mansouri, 2018 ; von Lilienfeld-Toal *et al.*, 2019).

Les maladies infectieuses demeurent l'une des principales causes de mortalité, par exemple, juste en Afrique subsaharienne, qui est la région du monde la plus affectée par ces maladies et regroupe à elle seule plus de 90 % des maladies infectieuses et compte 4 millions de décès par an causés par le sida, le paludisme et la tuberculose (Pichard, 2002).

Le monde scientifique découvre de nombreux agents antimicrobiens qui ont provoqué un changement radical dans le traitement des maladies infectieuses (Saga et Yamaguchi, 2009).

Le terme antimicrobien représente tous les éléments naturels, semi-synthétiques ou synthétiques capables de ralentir ou de bloquer la croissance et la reproduction des microorganismes, voire même les tuer (Zhou *et al.*, 2015). Les mécanismes d'action les plus courants, des agents microbiens, sont d'altérer le métabolisme microbien et les processus physiologiques, surtout la traduction, la réplication de l'ADN et la biosynthèse de la paroi cellulaire (Lima *et al.*, 2013 ; Elufisan *et al.*, 2012).

Les agents antimicrobiens peuvent provenir de plantes telles que des herbes, des épices et de leurs composés (Cueva *et al.*, 2010 ; Tajkarimi *et al.*, 2010 ; Negi, 2012), d'animaux comme par exemple les venins (Samy *et al.*, 2017), de microorganismes comme les antibiotiques et les bactériocines (Gyawali et Ibrahim, 2014). De plus, ils peuvent s'incorporer dans une variété de produits tels que les produits biomédicaux (Amariei *et al.*, 2018), les emballages actifs (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2021) et les conservateurs (Aziz et Karboune, 2018).

Les agents antimicrobiens peuvent agir de deux façons différentes, soit comme des biocides qui vont détruire et contrôler les infections et la contamination microbienne, ces agents vont permettre d'éviter la propagation d'une multitude de maladies (Wallet, 2020 ; Jones et Joshi, 2021), soit comme des biostatiques qui vont inhiber la croissance ou la multiplication des micro-organismes (Peršin *et al.*, 2014).

Les agents antimicrobiens peuvent posséder des propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques (Jilo, 2016) et antiparasitaires (Bengone-Ndong et Alvinerie, 2004). Parmi ces agents antimicrobiens, il y a les antibiotiques, qui sont les agents les plus souvent utilisés pour le traitement des infections graves causées par des bactéries, (Muylaert et Mainil, 2013). Cependant, un mauvais usage de ces molécules provoque une résistance qui devient de plus en plus un problème mondial (King *et al.*, 2018).

La résistance aux antimicrobiens représente un problème majeur de santé à l'échelle mondiale et est devenue l'une des principales causes de morbidité et de mortalité (Guilhelmelli *et al.*, 2013), ce qui pousse les scientifiques à rechercher de nouveaux agents antimicrobiens non traditionnels afin de développer de nouveaux médicaments efficaces contre les microorganismes pathogènes (Garcia *et al.*, 2013), en vue de cela, les peptides antimicrobiens (AMP) apparaissent comme des candidats prometteurs pour le contrôle des maladies infectieuses (Harrison *et al.*, 2014), en raison de la constitution d'un mécanisme de défense immunitaire primitif présent dans la grande majorité des organismes vivants (Teixeira *et al.*, 2012) (Figure 1). Ces molécules possèdent diverses propriétés biologiques, allant de la neutralisation directe des agents pathogènes envahisseurs tels que les bactéries, les champignons, les virus et les parasites protozoaires, à la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte (Narayana et Chen, 2015) (Figure1).

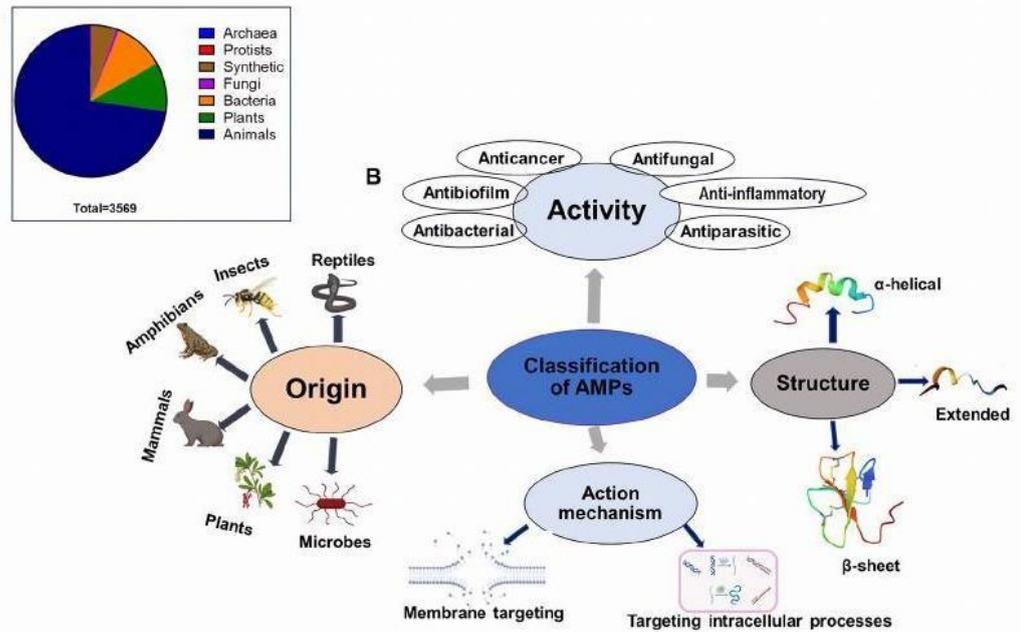


Figure 1 : Résumé graphique de l'origine et les activités biologiques des peptides antimicrobiens (Wang et wang, 2016).

Les agents antimicrobiens fonctionnent en ciblant spécifiquement les fonctions microbiennes vitales. Chaque agent antimicrobien agit de manière différente pour tuer/inhiber les microorganismes nuisibles (Abushaheen *et al.*, 2020). Les mécanismes d'action bien connus des agents antimicrobiens comprennent l'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire, l'inhibition de la synthèse des protéines, l'interférence avec la synthèse des acides nucléiques, l'inhibition des voies métaboliques intermédiaires et la perturbation de la membrane cytoplasmique (Tenover, 2006).

2. Les propriétés anti-inflammatoires

L'inflammation est un processus caractérisé par l'activation de cellules immunitaires et non immunitaires qui protègent l'hôte contre les bactéries, les virus, les toxines et les infections en éliminant les agents pathogènes et en favorisant la réparation et la récupération des tissus (Furman *et al.*, 2019).

L'inflammation fait partie du mécanisme de défense de l'organisme. C'est le processus par lequel le système immunitaire identifie et élimine les agents nocifs et étrangers et amorce ainsi le processus de guérison (pahwa *et al.*, 2018).

Selon la durée de la maladie, l'inflammation peut être divisée en deux

catégories: l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique. L'inflammation aiguë est la réponse initiale à des stimuli nocifs et persiste pendant quelques jours ou semaines (Zhao *et al.*, 2021), elle peut se déclencher suite à des blessures, des infections et des irritations et elle permet d'aider à restaurer l'homéostasie des tissus (Leitch *et al.*, 2008). La majorité des cellules inflammatoires infiltrantes sont des granulocytes (Savill *et al.*, 1989 ; Xu *et al.*, 2003 ; Kumar *et al.*, 2004). Si le stimulus pro-inflammatoire n'est pas éliminé pendant le processus d'inflammation aiguë, cela entraînera l'apparition d'une inflammation chronique (Boyle *et al.*, 2014 ; Feehan et Gilroy, 2019).

La persistance de facteurs inflammatoires et les lésions tissulaires sont les facteurs clés de l'inflammation chronique (Boyle *et al.*, 2014 ; Feehan et Gilroy, 2019) qui est connue sous le nom d'inflammation à long terme qui persiste sur des périodes prolongées allant de plusieurs mois à plusieurs années. Elle est induite par des infections virales intracellulaires chroniques, telles que l'infection à *Mycobacterium tuberculosis* (Snell et Brooks, 2017), exposition à long terme à des substances non dégradables mais potentiellement toxiques, comme la silicose (Pollard, 2016).

Par conséquent, la découverte d'une nouvelle génération d'agents thérapeutiques à utiliser dans la résolution de l'inflammation est souhaitable. Le traitement de l'inflammation implique certains mécanismes qui peuvent être utilisés comme cibles thérapeutiques (Liu *et al.*, 2017).

De nos jours, de nombreux agents anti-inflammatoires sont utilisés pour soulager les douleurs du quotidien, ainsi que pour traiter les symptômes de nombreuses maladies, comme l'arthrose et le psoriasis (Charlier et Michaux, 2003 ; Jahnavi *et al.*, 2019).

En général, les effets anti-inflammatoires des médicaments peuvent inclure principalement, une action sur les récepteurs et les voies de signalisation, régulant la réponse des tissus cibles aux médiateurs inflammatoires, inverser l'effet du milieu sur le tissu cible, produire des médiateurs anti-inflammatoires..... etc (Medzhitov, 2010).

Il existe différentes catégories des agents anti-inflammatoires, dont les principaux sont les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Barnes, 1998).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ont un effet inhibiteur sur les prostaglandines (PG) qui font partie d'une famille de lipides qui dérivent d'acides gras polyinsaturés comme l'acide arachidonique ils sont souvent associés à l'inflammation (Jara-Gutiérrez et Baladrón, 2021) et les protéines inflammatoires, telles que les corticostéroïdes (Lima et Alvim, 2018) (Figure 2). De leur côté, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) leur principal mécanisme d'action est l'inhibition de l'enzyme cyclooxygénase (COX) qui est une enzyme clé du métabolisme de l'acide arachidonique qui intervient dans la production des prostaglandines (Inotai *et al.*, 2010 ; Golden *et al.*, 2018 ; Song *et al.*, 2021). Les AINS inhiber la synthèse des prostanoides primaires et empêchant l'acide arachidonique d'atteindre le site actif des (COX) (Blain *et al.*, 2000) (Figure 2).

La plupart des médicaments anti-inflammatoires utilisés en pratique clinique sont de plus en plus remplacés en raison de leurs effets indésirables potentiels (Sharma *et al.*, 2020). Pour cela, plus récemment, la recherche et le développement de systèmes modèles et l'évaluation de l'efficacité de divers composés ont conduit à l'identification de plusieurs composés anti-inflammatoires d'origine naturelle (Cheung *et al.*, 2016 ; Tian *et al.*, 2018 ; Kapoor *et al.*, 2019).

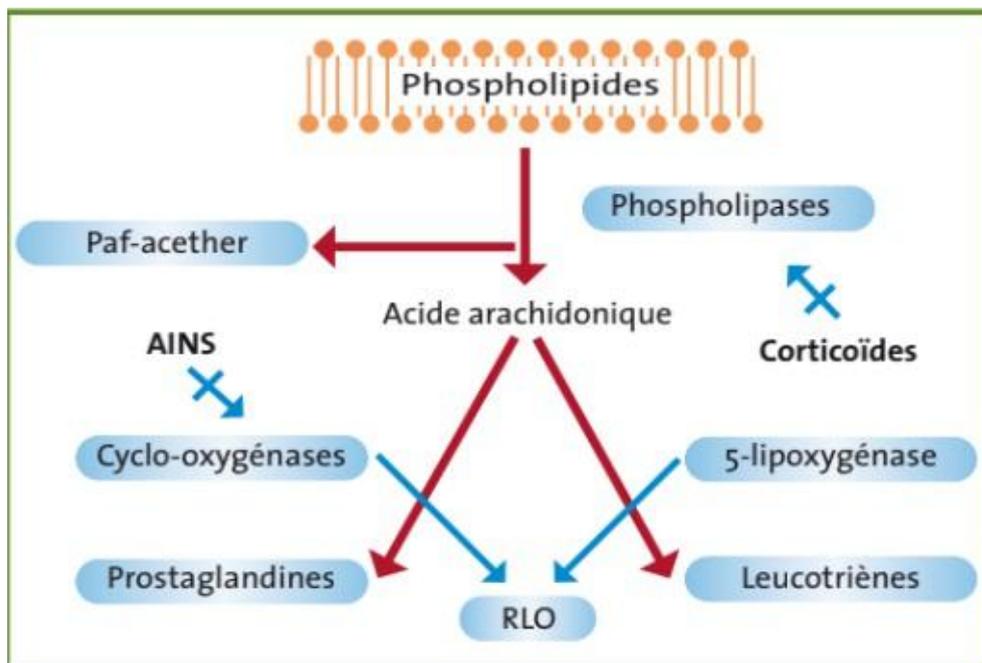
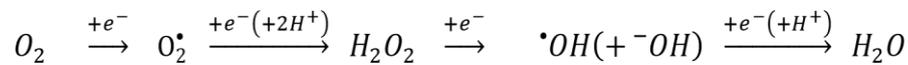


Figure 2 : Voie d'action des anti-inflammatoires (Turpin et Weber, 2011).

3. Les propriétés antioxydantes

L'oxygène est une molécule indispensable à la survie des organismes vivants, cependant elle est susceptible d'entraîner des effets dommageables et causer de graves dommages aux cellules des organismes *via* la formation de radicaux libres et des espèces actives de l'oxygène (EAO). Cela se produit lorsque l'oxygène va subir une réduction tétravalente au cours de la respiration cellulaire (Gardés-Albert *et al.*, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007 ; Weng, 2018), comme montré dans la réaction 1.

Réaction 1



O_2 : Le dioxygène $O_2^{\bullet -}$: l'anion superoxyde, H_2O_2 : le peroxyde d'hydrogène,
 $\bullet OH$: Le radical hydroxyle, H_2O : la molécule d'eau.

Les espèces actives de l'oxygène (EAO) est un terme couramment mentionné en biologie et en médecine, qui sont des molécules possédant des électrons non appariés dans leur structure, ce qui leur donne une réactivité élevée capables de modifier et d'endommager des molécules (Hajhashemi *et al.*, 2010 ; Poprac *et al.*, 2017 ; Ruan *et al.*, 2020). Les EAO comprennent plusieurs molécules comme par exemple l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($\bullet OH$), l'oxygène singulet (1O_2), le radical peroxy (ROO^{\bullet}), le radical alcoyle (RO^{\bullet}), l'hydroperoxyde lipidique (LOOH), le peroxyde d'azote ($ONOO^-$), l'acide hypochloreux (HOCl) et l'ozone (O_3) (Li *et al.*, 2016). À des concentrations faibles/modérées, les EAO exercent des effets bénéfiques dans l'organisme et fonctionnent comme d'importants régulateurs physiologiques des voies de signalisation intracellulaires (Finkel, 2011 ; Poprac *et al.*, 2017).

Cependant, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la production de EAO et la capacité du système de défense à les détoxifier et à les neutraliser activement, l'excès de ces EAO conduit à l'apparition d'un stress oxydatif (Haj hashemi *et al.*, 2010) (Figure 3), qui aura comme conséquence l'augmentation de l'oxydation des protéines, la peroxydation des lipides, l'oxydation des acides nucléiques (Ravula et Yenugu, 2021). Chez l'homme par exemple, les dommages oxydatifs causés par l'accumulation de EAO contribuent au développement de diverses maladies, telles que le cancer, le diabète, les

maladies cardiovasculaires, les troubles neurodégénératifs et plusieurs maladies oculaires (Ruan *et al.*, 2020).

Les cellules des organismes vivants sont équipées d'un système de défense antioxydant complexe pour surveiller les niveaux de EAO et pour protéger les cellules dans les conditions de stress oxydatif (Brieger *et al.*, 2012).

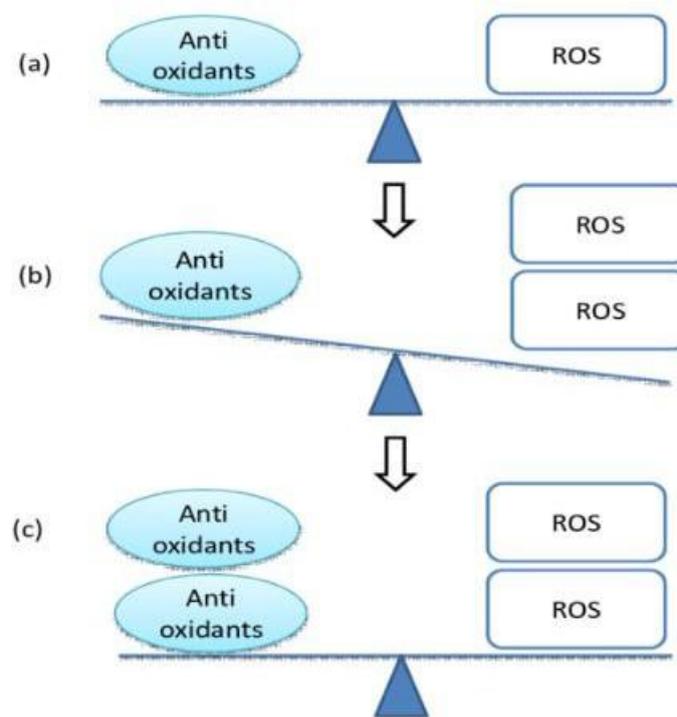


Figure 3: Relation entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS en anglais Reactive Oxygen Species), les antioxydants et le stress oxydatif (Agarwal *et al.*, 2005).

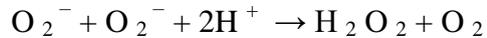
- (a) : la condition d'homéostasie est maintenue par l'équilibre entre les antioxydants et les EAO ;
- (b) : déséquilibre créé entre les antioxydants et EAO qui provoque le stress oxydatif ;
- (c) : un équilibre est créé par l'augmentation des antioxydants (absence du stress oxydatif).

Pour faire face aux EAO, les différents organismes vivants vont produire des molécules dotées d'activités antioxydantes. En 1995, les antioxydants ont été définis par Halliwell et Gutteridge comme toute substance qui constitue un mécanisme de défense du corps contre les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène, qui sont généralement produites par différentes activités physiologiques (Shebis *et al.*, 2013 ; Alamzeb *et al.*, 2023).

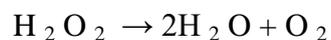
Les antioxydants peuvent être classés en plusieurs catégories différentes, les

antioxydants synthétiques ou naturels, les antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques, les antioxydants endogène ou exogène (Mirończuk-Chodakowska *et al.*, 2018).

Les antioxydants synthétiques sont des molécules composées de différentes structures chimiques créées par des spécialistes (Pokorný, 2007) tels que le butylhydroxytoluène (BHT) (Rani *et al.*, 2021) et les antioxydants naturel sont trouvés dans les matières végétales telles que les fruits, les légumes, les herbes et les épices (Dimitrios, 2006 ; Bansal *et al.*, 2013 ; Jiang et Xiong, 2016). Les chercheurs concentrent désormais leurs efforts sur la recherche de sources naturelles présentant une activité antioxydante suffisante (Rani *et al.*, 2021 ; Alamzeb *et al.*, 2023). Dans ces sources, on trouve les antioxydants enzymatiques, comme par exemple les catalases, la glutathion peroxydase (GPx) et la superoxyde dismutase (SOD) (Ighodaro et Akinloye, 2018) et les antioxydants non-enzymatiques, tels que les vitamines, comme par exemple l'acide ascorbique (la vitamine C), les minéraux, les caroténoïdes et les flavonoïdes (Lobo *et al.*, 2010 ; Petrou *et al.*, 2018 ; Goschorska *et al.*, 2020).



Réaction 2



Réaction 3

Plusieurs études démontrent que les antioxydants jouent un rôle crucial dans le maintien de la santé humaine, dans la prévention et le traitement des maladies, en raison de leur capacité à réduire le stress oxydatif (Shahidi et Zhong, 2008). Elles ont affirmé aussi leurs implications dans divers domaines, de l'ingénierie alimentaire à la médecine et à la pharmacie, ce qui présente un intérêt majeur pour la communauté scientifique (Munteanu et Apetrei, 2021). C'est pour cette raison, nous nous sommes intéressés, dans notre étude, à la recherche de cette propriété.

4. Les sources des propriétés antioxydantes

4.1. Les propriétés antioxydantes provenant des plantes

La recherche de nouveaux composés antioxydants est toujours d'actualité afin de découvrir de nouveaux composés, et le règne végétal a été généreux en fournissant une telle activité à des centaines de produits naturels divers (Stoner *et al.*, 2004). Par

exemple, les plantes médicinales, les légumes, les épices et les fruits ont été étudiées pour leur potentiel en tant que sources d'antioxydants naturels (Brglez Mojzer *et al.*, 2016 ; Wang *et al.*, 2018 ; Lourenço *et al.*, 2019).

Les minéraux, les vitamines, les caroténoïdes, les anthocyanes, les phénols et les fibres, entre autres, représentent quelques composées d'antioxydants naturels (Sikora *et al.*, 2008 ; Jia *et al.*, 2016 ; Bunaciu *et al.*, 2016).

Les fruits sont largement recommandés par les diététiciens et les nutritionnistes en raison de leur richesse en vitamines, minéraux et fibres alimentaires, ce qui détermine leur valeur nutritionnelle en antioxydants, par exemple, les fruits à baies sont particulièrement riches en vitamine C, caroténoïdes et polyphénols, ce qui leur confère une concentration élevée en antioxydants (Sikora *et al.*, 2008 ; Jideani *et al.*, 2021). Un autre exemple typique des fruits riches en antioxydants est l'acérole, en raison de sa richesse en composés phénoliques et en pigments caroténoïdes et surtout de sa grande teneur en acide ascorbique (vitamine C), ces derniers composés qui le rendent un puissant antioxydant et marquant un grand potentiel agro-industriel (Bourafai-Aziez *et al.*, 2022). Il existe d'autres fruits qui ont été identifiés avec des propriétés antioxydantes élevées telles que la grenade, le raisin, l'orange, la prune, entre autres (Rice-Evans et Miller, 1995; Halvorsen *et al.*, 2002).

Diverses études sur les questions nutritionnelles ont révélé qu'une alimentation riche en légumes est indispensable (Boeing *et al.*, 2012), car les légumes constituent d'importantes sources de nutriments, de fibres alimentaires et de composés phytochimiques qui agissent comme un système de défense antioxydant (Duthie *et al.*, 2018), par exemple la patate douce et le navet sont des sources riches de vitamine E (Hounsome et Hounsome, 2011), le brocoli aussi est une source importante en vitamine C (Banel et Hu, 2009 ; Ayadi *et al.*, 2022). Enfin d'autres études expérimentales ont également montré que les isoflavones phytochimiques du soja présentent des propriétés anticancérigènes en partie *via* leurs activités antioxydantes (Thyagarajan et Sahu, 2018).

Aussi, les herbes et les épices sont des cibles les plus importantes pour rechercher des antioxydants naturels, leur richesse en une grande variété de composés phénoliques permet de les utiliser comme compléments alimentaires qui possèdent de puissantes activités antioxydantes (Srinivasan, 2014). Par exemple, l'étude de Carlsen *et al.* (2010) a montré une teneur élevée des antioxydants naturels dans le clou de girofle, la

menthe poivrée, le piment de la Jamaïque, la cannelle, l'origan, le thym, la sauge, le romarin et le safran. Ces activités antioxydantes sont le plus souvent dues à la présence des flavonoïdes, des terpénoïdes, des lignanes, des sulfures, des polyphénols, des caroténoïdes, des coumarines, des saponines et des stérols végétaux (Embuscado, 2015).

4.2. Les propriétés antioxydantes provenant des animaux

Chez les animaux, comme chez l'homme, le stress oxydatif peut être provoqué par de nombreuses situations et par conséquent de nombreuses molécules biologiques peuvent être oxydées par des espèces radicalaires générées lors de ce stress oxydatif (Durand *et al.*, 2013). En contre partie, ces organismes disposent d'un arsenal de molécules antioxydantes endogènes (Fujii *et al.*, 2022) comme celle des acides aminés, peptides et protéines (Sikora *et al.*, 2008). En effet l'activité antioxydante de ces composés est principalement liée aux acides aminés qui possèdent des groupements thiols (Yamamoto *et al.*, 1998 ; Decker *et al.*, 2000).

Le système antioxydant à groupement thiol, est représenté principalement par le glutathion (GSH), qui est un tripeptide (γ -glutamylcystéinyglycine), largement distribué chez les animaux (Luberda, 2005) sa fonction de base chez ces organismes est de conférer une protection contre l'oxydation (Decker *et al.*, 2000). Donc, il est crucial pour les organismes animaux qui subissent périodiquement un stress oxydatif (Luberda, 2005), par exemple, la recherche Storey *et al.* (1996) a montré un réservoir important de glutathion dans les tissus de l'escargot espèce d'*Otala lactea*.

Les insectes est un autre exemple d'organismes vivants possédant un taux élevé d'enzymes antioxydantes (Chandna *et al.*, 2004), comme les lépidoptères de l'espèce de *Bombyx mori* qui contiennent une teneur élevée en catalase (Suman *et al.*, 2009), cette enzyme est considérée comme la principale enzyme impliquée dans l'élimination du stress oxydatif (Ahmad *et al.*, 1989).

Concernant les mammifères, des taux aussi importants d'autres types d'antioxydants naturels, notamment la superoxyde dismutase, les caroténoïdes, l' α -tocophérol et l'acide urique, se trouvent dans les tissus de ces organismes (Cutler *et al.*, 1991). Par exemple, les résultats de l'étude de Kovačeva *et al.* (2007) montrent que l'activité du superoxyde dismutase est élevée chez les lapins et les cobayes et qu'une activité élevée de la glutathion peroxydase se trouve chez les vaches.

Le milieu marin est aussi une source de composés bioactifs aux propriétés uniques (Lui *et al.*, 2013 ; Anjum *et al.*, 2016). Les poissons marins, les crustacés et les éponges, entre autres, sont des sources de composés bioactifs comme les peptides bioactifs, qui possèdent un large spectre de bioactivités, notamment des propriétés antioxydantes (Gautam *et al.*, 2023). Par exemple, les crustacés constituent une excellente source de composés bioactifs précieux tels que les peptides bioactifs, les dérivés de chitine et les caroténoïdes (Olatunde et Benjakul, 2022).

4.3. Les activités antioxydantes provenant des microorganismes

Les molécules bioactives naturelles produites par des microorganismes sont devenues célèbres ces dernières années grâce à la capacité de ces microorganismes à survivre dans différents habitats extrêmes et synthétiser aussi de nouveaux composés bioactifs dotés d'une variété d'activités biologiques, notamment d'activités antioxydantes (Hernández-Almanza *et al.*, 2021). comme les caroténoïdes, les polyphénols, les vitamines et les stérols (Rani *et al.*, 2021).

Parmi les microorganismes qui produisent différents composés antioxydants : les bactérie, les *archaea* (Mishra *et al.*, 2015), les champignons (de Castro *et al.*, 2020), les protozoaires (Manilal, 2019) et les microalgues (Blunt *et al.*, 2015).

Les *archaea* sont aussi dotés des propriétés antioxydantes comme les *archaea* hyperthermophiles sont caractérisées par la production des enzymes antioxydantes qui jouent un rôle crucial dans la protection des cellules vivantes contre les dommages oxydatifs, et elles sont aussi caractérisé une forte production de caroténoïdes (Giani *et al.*, 2019) Par exemple, les deux genres de *Haloarchaeon Halorhabdus utahensis* et *Haloarcula* sp sont considérées comme un bon producteur de caroténoïdes, ce qui leur confère une bonne activité antioxydante (Lizama *et al.*, 2021; Serino *et al.*, 2023).

Les champignons possèdent un large éventail de métabolites notamment les flavonoïdes, les phénols, les stéroïdes... etc, qui ont des activités antioxydantes et sont fortement exploités par le secteur thérapeutique, pharmacologique et médicinal (Hameed *et al.*, 2017) comme par exemple certaines souches de *Mucor circinelloides* qui sont d'excellentes productrices de β -carotène, de lycopène, de lipides et de composants bioactifs comme l'acide γ -linoléique (Tang *et al.*, 2015 ; Zhang *et al.*, 2016).

Concernant les bactéries, elles possèdent la capacité de produire de nombreux métabolites extracellulaires qui ont également des activités antioxydantes (Tan *et al.*, 2019) par exemple, la violacéine, un pigment violet, est reconnue comme un puissant antioxydant principalement produit par *Chromobacter violaceum* et *Pseudoalteromonas* (Cauz *et al.*, 2019). Une autre étude de Kurjogi *et al.* (2019) a révélé aussi la production de pigment jaune par *Staphylococcus aureus* qui a démontrée sa capacité à prévenir le stress oxydatif. les cyanobactéries produisent aussi de nombreux métabolites secondaires bioactifs, notamment des caroténoïdes, des phénoliques et des phycobiliprotéines (Knoot *et al.*, 2019 ; Morone *et al.*, 2022).

Plusieurs études montrent que lorsque les bactéries rencontrent un environnement stressant, une fuite d'électrons de la chaîne respiratoire se produirait, induisant un niveau élevé d'espèces réactives de l'oxygène (Fubini et Hubbard, 2003 ; Sies, 2015). Donc, plusieurs mécanismes peuvent être utilisés par ces bactéries pour résister aux dommages du stress oxydatif causés par les EAO, comme la production d'enzymes détoxifiantes (Staerck *et al.*, 2017), telles que les superoxydes dismutases et les catalases (Clements *et al.*, 1999).

Les actinomycètes qui sont aussi des bactéries à Gram positif, elles se caractérisent par leur capacité à produire une variété de métabolites présentant un large spectre d'activités antioxydantes (Rani *et al.*, 2021), par exemple les études de Tan *et al.* (2017) ont mis en évidence l'activité antioxydante chez les souches de *Streptomyces* sp. MUM212 et *Streptomyces* sp. MUM265, leurs recherches ont conclu que ces deux souches renferment des composés phénoliques qui inhibent la peroxydation lipidique et réduisent les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Une autre recherche de Praptiwi *et al.* (2019) ont signalé la présence d'organofluorés, doté d'une puissante activité antioxydante, dans la souche TC1 de *Streptomyces* sp.

Concernant les interactions plantes-microorganismes, les microorganismes ont aussi besoin d'une défense antioxydante, par exemple l'interaction symbiotique entre les légumineuses et les *Rhizobia* conduit à la formation d'un nodule où s'effectue la fixation de l'azote, au cours de cette association la plante apporte de l'énergie aux *Rhizobia* et crée un environnement micro-aérobie favorable à l'activité nitrogénase. En contre partie, ces bactéries apportent de l'azote à la plante (Marino *et al.*, 2009). Des grandes quantités d'ERO sont générées au cours de la durée de vie des nodules et une présence significative

d'enzymes antioxydantes a été remarquée chez les deux partenaires symbiotiques (Udvardi, 2001).

L'étude de Rodrigues *et al.* (2013) a montré le rôle crucial de ces rhizobiums pour maintenir les niveaux adéquats d'ERO. En effet, elle a révélé que le genre *Bradyrhizobium* sp est capable de retarder le stress oxydatif au sein des plantes. Une autre étude expérimentale de Liu et al. (2019) a démontré que la symbiose du rhizobium pourrait induire l'activité des enzymes antioxydantes, atténuant par conséquent le stress oxydatif de la luzerne. Enfin, une étude récente de Park *et al.* (2024) a démontré que le *Rhizobium leguminosarum* bv Pourrait générer d'excellents biomatériaux pour les industries cosmétiques, alimentaires et pharmaceutiques, en raison de son excellente activité antioxydante.

D'autre coté l'interaction entre les microorganismes pathogènes et leurs hôtes végétales est complexe, cette complexité résulte d'une bataille dans laquelle l'agent pathogène cherche à envahir et la plante cherche à se défendre et la plante va produire de fortes concentrations d'espèces actives de l'oxygène (EAO), ce qui peut s'avérer toxique pour les agents pathogènes envahisseurs (Doke, 1983 ; Wojtaszek, 1997). En contrepartie, l'agent pathogène doit subir des modifications susceptibles d'offrir une protection relative contre des concentrations élevées d'EAO (Mehdy, 1994). Par exemple, les *Pseudomonas* possèdent la superoxyde dismutase (SOD), ce qui leur permet de fournir une première ligne de défense contre les EAO (da Cruz Nizer *et al.*, 2021).

Dans cette partie bibliographique l'importance des propriétés biologiques et plus particulièrement l'importance des propriétés antioxydantes a été démontré. Aussi, l'importance des propriétés antioxydantes chez les bactéries a été démontrée. Ceci rend l'évaluation et le criblage de substances naturelles ayant ces activités antioxydantes, une nouvelle tendance de recherche en biologie et en biotechnologie. Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de rechercher des propriétés antioxydantes chez les bactéries isolées à partir de différents sols.

Matériel et méthodes

Ce travail a été effectué au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'Université Belhadj Bouchaib-Ain Témouchent (UBBAT), durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2023/2024.

L'objectif de notre étude est de rechercher des propriétés antioxydantes chez des bactéries isolées à partir de différents sols.

1. Prélèvement des échantillons à partir des différents sols et isolement et purification des isolats bactériens

1.1. Prélèvement des échantillons à partir des différents sols

Les isolats bactériens utilisés dans ce travail ont été isolés à partir des échantillons de différents sols: un échantillon d'un sol vierge, d'un sol d'une zone rhizosphérique, d'un sol situé à 1 mètre d'une zone rhizosphérique (ces 3 sols sont situés au niveau d'un site au niveau de l'Université d'Ain Témouchent), et enfin d'une zone rhizosphérique d'un sol salin situé dans la commune Hammam BouHadjar.

Les échantillons du sol sont prélevés à une profondeur de 5 cm, ils sont mis, ensuite, dans des boîtes de Petri (Figure 4) pour être acheminés vers le laboratoire pour réaliser l'isolement et la purification des bactéries.



Figure 4 : Prélèvement des échantillons du sol.

1.2. Isolement et purification des isolats bactériens

La préparation des dilutions consiste à préparer la solution mère du sol 0,9 g du sol est suspendu dans 9 mL de l'eau physiologie stérile (Voir Annexe) en tubes à essai et homogénéisé à l'aide d'un vortex. À partir de cette solution mère des dilutions décimales sont préparées jusqu'à 10^{-5} (Finance *et al.*, 1985).

Ensuite, 100 μ L de la dilution 10^{-3} et la dilution 10^{-5} sont étalés à la surface de la Gélose Nutritive (GN) (Voir Annexe). Ensuite, ces boîtes sont incubées à 30 °C pendant 24 h.

Après l'incubation, deux colonies bien distinctes sont prélevées et ensemencées sur GN. Ensuite, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 24 h. Les colonies obtenues sont ensuite purifiées par repiquages successifs.

Afin de conserver les isolats bactériens, un ensemencement sur GN inclinée en tubes à essai est effectué. Après incubation à 30 °C pendant 24 h, les tubes sont conservés à 4 °C.

La pureté des colonies isolées est vérifiée par observation macroscopique et microscopique.

2. Vérification de la pureté des isolats

2.1. Observation macroscopique

Après l'étape de la purification, une description macroscopique des colonies des isolats bactériens a été faite selon leur taille, leur forme, leur couleur, leur contour, leur aspect, leur opacité et leur élévation.

2.2. Observation microscopique

Cette observation microscopique des bactéries isolées a été effectuée suite à une coloration de Gram. Elle va servir à déterminer la morphologie, la forme et le Gram des isolats.

3. Recherche d'activités antioxydantes chez les différents isolats bactériens

3.1. Recherche des propriétés antioxydantes en boîte sur Gélose Nutritive

3.1.1. Préparation des suspensions bactériennes selon le standard McFarland 0.5

Les étalons McFarland sont utilisés comme modèles de turbidité dans la préparation de suspensions bactériennes. La norme 0.5 sur l'échelle de McFarland est équivalente à une suspension bactérienne contenant entre 1×10^8 et 2×10^8 UFC/mL d'*Escherichia coli*.

Cette norme de McFarland 0.5 a une application particulière dans la préparation d'inoculas bactériens et elle permet une comparaison visuelle de la densité bactérienne (Hudziki, 2009 ; Guzmí *et al.*, 2018).

La préparation du standard McFarland se base sur le mélange de 0.05 mL de chlorure de baryum (BaCl_2) à 0,048 M avec 9,95 mL de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,18 M, en mélangeant soigneusement l'étalon McFarland pour assurer qu'il est uniformément suspendu (Andrews, 2006).

Des colonies de chaque isolat étudié sont suspendues dans des tubes à essai contiennent 10 mL de l'eau physiologie et vortexés jusqu'à ce que leur turbidité soit équivalente à la turbidité du standard McFarland 0.5.

La comparaison visuelle est effectuée contre une feuille blanche contenant des lignes noires (Kuper *et al.*, 2009).

3.2. Test de résistance/sensibilité des isolats bactériens à l' H_2O_2 par la méthode de diffusion par disques

À fin de déterminer la résistance à l' H_2O_2 des 8 isolats bactériens étudiés. Un test a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu solide utilisée par Konan *et al.* (2014).

À partir des suspensions préparées précédemment par comparaison avec le standard 0,5 de McFarland, 100 μL de chacune sont étalés sur des boîtes de Petri contenant de la GN. Ensuite, des disques de papier stérile imprégnés dans une solution d' H_2O_2 à différentes concentrations (25 mM, 50 mM et 100 mM) et dans de l'eau

distillée (qui va servir de contrôle à ce test), sont déposés séparément à la surface de la GN, de manière à avoir un contact direct avec les bactéries. Enfin, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 24 h.

L'apparition d'une zone claire autour des disques signifie une sensibilité des souches étudiées vis-à-vis de la concentration d' H_2O_2 . Par contre, l'absence d'une zone claire indique une résistance de l'isolat. Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques (Voir Figure 5) est mesuré à l'aide d'une règle pour déterminer si les isolats bactériens sont sensibles ou résistants à la concentration de l' H_2O_2 testée :

- Si le diamètre d'inhibition est inférieur ou égal à 8 mm : bactéries résistantes
- Si le diamètre est entre 9 et 14 mm : bactéries sensibles
- Si le diamètre est entre 15 et 19 mm : bactéries très sensibles
- Si le diamètre supérieur ou égal à 20 mm : bactérie extrêmement sensible (Kouadio *et al.*, 2017).

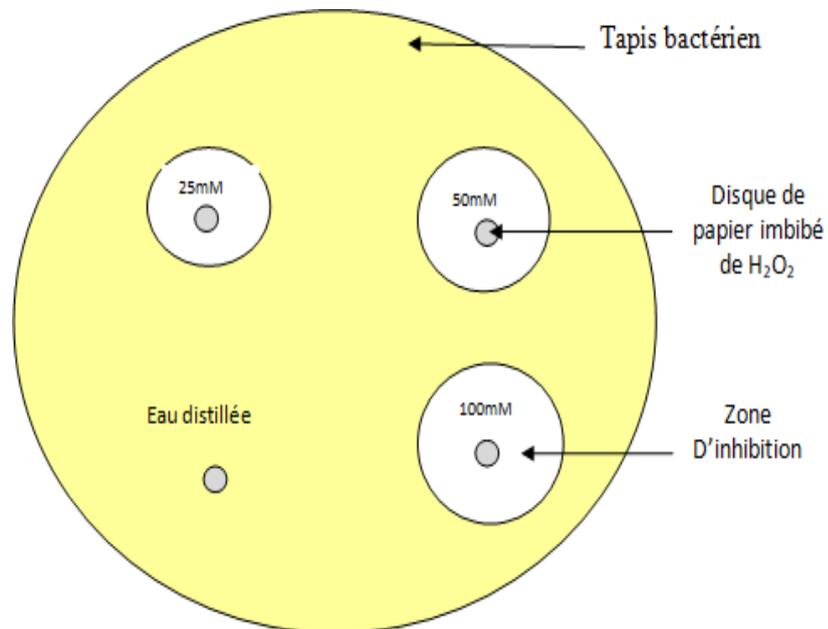


Figure 5 : Représentation schématique de la méthode de diffusion sur disque.

4. Préparation des cultures et récupération des surnageants bactériens des isolats bactériens

4.1. Préparation des pré-cultures bactériennes

Des pré-cultures de chaque isolat bactérien ont été préparées par ensemencement des colonies précédemment purifiées dans des tubes contenant 10 mL de Bouillon Nutritif (BN) (Voir Annexe). Ces tubes sont incubés par la suite à 30 °C pendant 24 h.

4. 2. Préparation des cultures bactériennes et récupération des surnageants

Après incubation des pré-cultures, leur Densité Optique (DO) est mesurée à 600 nm. Ensuite, flacons contenant 50 mL de BN sont ensemencés par ces pré-cultures de sorte à avoir une DO initiale de 0,01. Ces suspensions bactériennes sont incubées à 30 °C pendant 24 h pour obtenir les cultures bactériennes qui vont permettre de récupérer les surnageants.

Les surnageants sont récupérés à partir des cultures bactériennes obtenues précédemment par centrifugation à 6000 tours/min pendant 5 min et leur teneur en protéine est déterminée.

Les surnagants obtenus sont utilisés pour la recherche des propriétés antioxydantes chez les différents isolats.

5. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)

La détermination rapide et précise de la teneur en protéines d'un échantillon est une étape importante dans la recherche de plusieurs activités biologiques (Reinmuth-Selzle *et al.*, 2022).

Parmi les tests colorimétriques largement utilisés pour déterminer la quantité des protéines totales il y a le test de Bradford (1976). Ce test rapide et sensible pour évaluer les concentrations de protéines, se base sur le fait que le colorant Coomassie Brilliant Blue G-250 possède une absorbance maximale à 595 nm, après avoir été lié à des protéines en solution (Kielkopf *et al.*, 2020). La liaison du colorant à la protéine se fait en environ 2 minutes et reste stable pendant une heure (Bradford, 1976).

La protéine Albumine du Sérum Bovin ou Bovine Serum Albumin (BSA) est souvent utilisée comme référence lors de la quantification des protéines et qui permet la production d'une courbe étalon (Bible *et al.*, 1999). Pour cela, une courbe étalon $DO_{595\text{ nm}} = f([BSA])$ a été préparée en utilisant une solution mère de la protéine de référence BSA à une concentration de 1 mg/mL. A partir de la solution mère de BSA, une gamme de solutions étalons à différentes concentrations (0,05. 0,1. 0,25. 0,5. 1 mg/mL) à été préparée (Tableau 1)

Ensuite, 0,2 mL du réactif de Bradford ont été ajoutés à 0,8 mL de chacune des concentrations. Le mélange est ensuite laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 5 min. La DO est ensuite mesurée à 595 nm afin d'établir la courbe étalon $DO_{595\text{ nm}} = f([BSA])$.

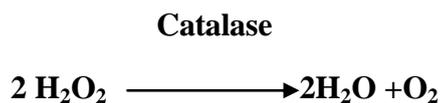
Tableau 1 : Gamme étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de la BSA

Concentration de la gamme de solutions étalons (mg/mL)	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1
Volume BSA à 1 mg/mL (mL)	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1
Eau distillée (mL)	1	0,95	0,9	0,75	0,5	0

6. Recherche d'activités antioxydantes dans les isolats bactériens

6.1. Recherche d'activité catalasique dans les surnageants des isolats bactériens

La catalase, une enzyme fréquemment présente chez les bactéries, elle fonctionne comme catalyseur dans la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Chelikani *et al.*, 2004) comme l'illustre la réaction suivante :



L'activité catalase a été déterminée par spectrophotomètre, en suivant la diminution de l'absorbance à 240 nm (Harris, 2010) synonyme de la disparition de l' H_2O_2 sous l'action des catalases.

Pour cela, l'activité catalasique des isolats bactériens a été déterminée par un suivi de la disparition de l'H₂O₂. Le mélange réactionnel pour rechercher l'activité catalasique est constitué de 1 mL d'H₂O₂ à 100 mM, 0,5 mL de tampon phosphate à 0,1 M et pH 7 et 0,5 mL du surnageant à différentes concentrations (25 %, 50 %, 75 %, 100 %). Après 5 minutes d'incubation, la quantité d'H₂O₂ dégradée par les catalases est déterminée à une longueur d'onde de 240 nm.

Pour déterminer la quantité d'H₂O₂ dégradée par les catalases, une gamme de solutions étalons à différentes concentrations d'H₂O₂ (0, 0,1, 0,5, 1, 5 et 10 mM) a été préparé à partir d'une solution mère de l'H₂O₂ à 10 mM (Tableau 2). Les DO des différentes concentrations d'H₂O₂ sont mesurées à 240 nm en utilisant des cuves en Quartz, ensuite la courbe étalon DO_{240nm} = f ([H₂O₂]) est tracée.

Tableau 2 : Gamme étalon utilisée pour la préparation du courbe étalon de l'H₂O₂.

Concentration de la gamme de solutions étalons (mM)	0	0,1	0,5	1	5	10
Volume de la solution de l'H ₂ O ₂ à 10 mM (mL)	0	0,01	0,05	0,1	0,5	1
Eau distillée (mL)	1	0,99	0,95	0,9	0,5	0

6.2. Recherche d'activités de piégeage du DPPH par les surnageants des isolats bactériens

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes, parmi les plus largement employées est celle du piégeage du DPPH (2,2-Di(4-tert-octylPhényl)-1- PicrylHydrazyl) (Gómez-Alonso *et al.*, 2007 ; Reis *et al.*, 2012).

Cette méthode colorimétrique a été décrite Pour la première fois par Blois en 1958 (Flieger *et al.*, 2021).

Le test du piégeage du DPPH, se base sur la transmission d'électrons, de la part des antioxydants, au neutraliser radical DPPH afin de le neutraliser (Nenadis et Tsimidou, 2002), comme montré dans la réaction suivante :



AH : molécule donneuse de l'atome d'hydrogène (H+).

Le changement de couleur du DPPH du violet au jaune peut être surveillé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 517 nm, et la décoloration agit comme un indicateur de l'activité antioxydante (Foti, 2015 ; Flieger *et al.*, 2021). La diminution de l'absorbance est proportionnelle à la quantité de DPPH sous forme oxydée qui reste en solution. Ceci peut être utilisé pour évaluer le potentiel de suppression des radicaux libres par de nombreux antioxydants (Flieger *et al.*, 2021).

Pour estimer les capacités de piégeage du DPPH par les surnageants des bactéries isolées dans cette étude, cette méthode de piégeage du DPPH a été utilisée. Pour cela, un mélange réactionnel constitué de 1 mL de la solution du DPPH à 0,1 mM et 1 mL du surnageant à différentes concentrations (25 %, 50 % et 75 %) a été préparé. La disparition du DPPH est mesurée à 517 nm après 30 minutes d'incubation du mélange réactionnel. Un blanc a été préparé dans les mêmes conditions mais l'ajout de DPPH a été remplacé par l'éthanol pur.

L'acide ascorbique (vitamine C) est utilisé comme un antioxydant standard (Davey *et al.*, 2000) afin de comparer sa capacité de piégeage du DPPH avec celle des surnageants de chaque isolat. Pour cela, l'acide ascorbique a été préparé à différentes concentrations (0, 0,0125, 0,025, 0,05, 0,075 et 0,1 mg/mL). Le même milieu réactionnel décrit précédemment a été utilisé, sauf les surnageants ont été remplacé par l'acide ascorbique.

Afin de déterminer les quantités du DPPH piégée par les surnageants et par l'acide ascorbique, une courbe étalon $DO_{517 \text{ nm}} = f([DPPH])$ a été tracée à partir des $DO_{517 \text{ nm}}$ d'une gamme étalon de solutions de DPPH à différentes concentrations (0, 0,0125, 0,025, 0,05 et 0,1 mM) préparées à partir d'une solution mère à 0,1 mM de DPPH (Tableau 3).

Tableau 3 : Gamme étalon utilisée pour la préparation du courbe étalon du DPPH.

Concentration de la gamme de solutions étalons (mM)	0	0,0125	0,025	0,05	0,1
Volume de la solution de DPPH à 0.1 mM (mL)	0	0,125	0,25	0,5	1
Éthanol (mL)	1	0,875	0,75	0,5	0

Résultats et discussion

1. Isolement et purification des isolats bactériens

Afin de rechercher des propriétés antioxydantes chez des bactéries du sol, 8 isolats bactériens ont été isolés à partir des échantillons de différents sols : sol vierge, sol d'une zone rhizosphérique, un sol situé à 1 mètre d'une zone rhizosphérique et enfin une zone rhizosphérique d'un sol salin.

2. Vérification de la pureté des isolats**2.1. Observation macroscopique**

L'observation des colonies sur gélose nutritive (GN) après incubation a permis de confirmer la pureté des isolats et de déterminer leur taille, leur forme, leur couleur, leur aspect, leur opacité et leur élévation. Le tableau 4 résume les résultats obtenus de cette observation macroscopique.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des résultats de l'observation macroscopique des différents isolats bactériens.

Les isolats	Forme	Relief	Taille	surface	opacité	couleur	Consistance
ISV1	Ronde	Plate	Petites colonies	Lisse	Opaque	jaunâtre	Sèche
ISV2	Ronde	Surélevé	Petites colonies	Rugueuses	Opaque	jaunâtre	Muqueuse
ISR1	Irrégulière	Plate	Petites colonies	Lisse	Opaque	jaunâtre	Muqueuse
ISR2	Ronde	Surélevé	Petites colonies	Rugueuses	Opaque	jaunâtre	Muqueuse
ISmR1	Ronde	Plate	Colonies Ponctiformes	Lisse	Opaque	jaunâtre	Sèche
ISmR2	Ronde	Surélevé	Petites colonies	Lisse	Opaque	jaunâtre	Sèche

ISS1	Ronde	Plate	Petites colonies	Lisse	Opaque	jaunâtre	Sèche
ISS2	Ronde	Surélevé	Colonies moyennes	Rugueuses	Opaque	jaunâtre	Sèche

Les résultats de la caractérisation morphologique des différents isolats bactériens étudiés ont montré que la majorité partage des caractéristiques communes qui sont : des petites colonies jaunâtres, opaques, sèche avec une forme ronde et une surface lisse.

2.2. Observation microscopique

L'observation microscopique, après coloration de Gram, a permis de vérifier la pureté des isolats et de déterminer leur Gram, leur forme, ainsi leur mode de regroupement. Le tableau 5 résume les résultats obtenus de cette observation microscopique.

Tableau 5 : Tableau récapitulatif des résultats de l'observation microscopique des différents isolats bactériens.

Les isolats	Gram	Forme	Mode de regroupement
ISV1	Négatif	Bacille	En amas
ISV2	Positif	Coccobacille	En diplobacille/En diplocoque
ISR1	Négatif	Bacille	En amas
ISR2	Positif	Bacille	En amas
ISmR1	Négatif	Coccobacille	En amas
ISmR2	Négatif	Bacille	En chaînette
ISS1	Positif	Cocci	Isolés
ISS2	Négatif	Bacille	En chaînette

3. Recherche d'activités antioxydantes chez les différents isolats bactériens

3.1. Recherche des propriétés antioxydantes en boîte sur Gélose Nutritive

3.1.1. Préparation des suspensions bactériennes selon le standard McFarland 0.5

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des isolats bactériens étudiés, des suspensions bactériennes de chacun ont été préparées. Ensuite, ajustées visuellement, pour avoir une turbidité égale à celle du standard McFarland 0.5 (Figure 6).

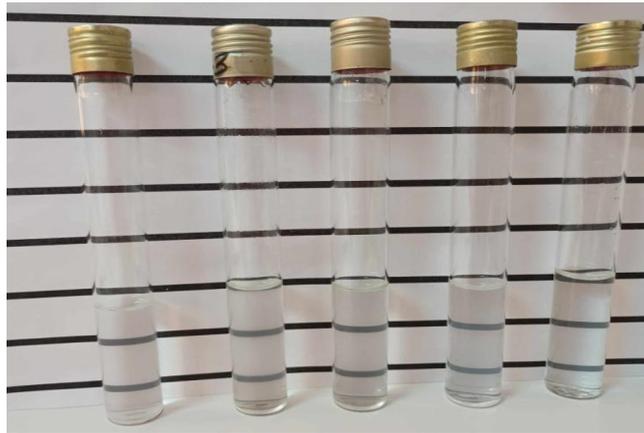


Figure 6 : Exemple de comparaison visuelle entre la turbidité du McFarland 0.5 et la turbidité des 4 isolats bactériens.

1 : Tube de McFarland 0.5, 2 : Tube d'ISmR1, 3 : Tube d'ISmR2, 4 : Tube d'ISS1, 5 : Tube d'ISS2

3.2. Test de résistance/sensibilité à l'H₂O₂ des isolats bactériens (méthode de diffusion par disques)

La méthode de diffusion par disque sur GN a été utilisée pour étudier la capacité des isolats bactériens à résister à différentes concentrations de l'H₂O₂. La résistance/sensibilité des isolats bactériens en fonction de la concentration de l'H₂O₂ est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition formée après incubation pendant 24 h à 37 °C (Figure 7).

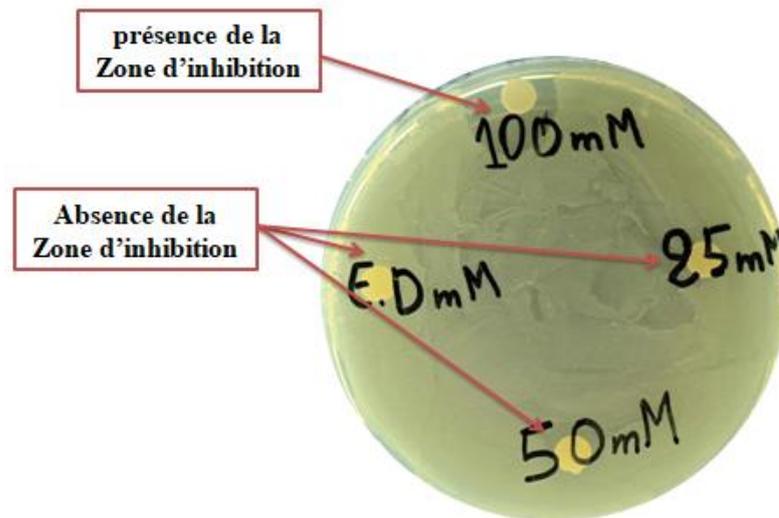


Figure7 : Exemple d'un résultat de la résistance/sensibilité de l'isolat ISS1 évaluée par la méthode de diffusion par disques.

Pour rappel :

- Si le diamètre d'inhibition est inférieur ou égal à 8 mm : bactéries résistantes.
- Si le diamètre est entre 9 et 14 mm : bactéries sensibles.
- Si le diamètre est entre 15 et 19 mm : bactéries très sensibles.
- Si le diamètre supérieur ou égal à 20 mm : bactérie extrêmement sensible

(Kouadio *et al.*, 2017). Le tableau suivant résume les résultats obtenus de ce test.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des résultats de la Résistance/Sensibilité des isolats bactériens vis-à-vis des différentes concentrations d'H₂O₂.

Les isolats	Disque avec eau distillée	Disque avec 25 mM d'H ₂ O ₂	Disque avec 50 mM d'H ₂ O ₂	Disque avec 100 mM d'H ₂ O ₂
ISV1	Résistant	Résistant	12 mm Sensible	23 mm Extrêmement sensible
ISV2	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant
ISR1	Résistant	Résistant	19 mm Très sensible	20 mm Extrêmement sensible

ISR2	Résistant	Résistant	Résistant	25 mm Extrêmement sensible
ISmR1	Résistant	Résistant	Résistant	24 mm Extrêmement sensible
ISmR2	Résistant	Résistant	Résistant	21 mm Extrêmement sensible
ISS1	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant
ISS2	Résistant	12 mm Sensible	16 mm Très sensible	27 mm Extrêmement sensible

Les résultats du test de diffusion par disque présentés dans le Tableau 6, montrent que les isolats bactériens étudiés ont des profils différents vis-à-vis la résistance/sensibilité aux différentes concentrations d'H₂O₂.

En effet, tous les isolats étudiés résistent à la concentration de 25 mM d'H₂O₂ sauf ISS2 qui est sensible à cette concentration, cependant, pour la concentration 100 mM tous les isolats sont sensibles sauf ISV2 et ISS1 qui sont résistants.

Concernant la concentration 50 mM, les isolats ISV2, ISR2, ISmR1, ISmR2 et ISS1 sont résistants et les isolats ISV1, ISR1 et ISS2 sont sensibles.

Les résultats obtenus dans cette étude mettent en lumière l'influence de l'augmentation de la concentration de H₂O₂ sur la résistance ou la sensibilité des isolats bactériens testés. En effet, on remarque qu'il y a une influence de la concentration de l'H₂O₂ sur le profil de résistance ou de sensibilité des isolats ISV1, ISR1, ISR2, ISmR1 et ISmR2 vis-à-vis de l'H₂O₂. Cette influence de la concentration de l'H₂O₂ a été montrée par exemple par l'étude de King *et al.* (2000) qui a révélé des observations semblables à la notre, mettant en évidence que *Streptococcus pyogenes* est dotée d'un système de régulation lui permettant de moduler sa réponse face aux variations de la concentration de l'H₂O₂ dans son milieu environnant, en effet, sa capacité adaptative implique que la bactérie ajuste ses mécanismes de défense en fonction de la concentration de l'H₂O₂ à laquelle elle est exposée, ce qui confirme

l'influence de la concentration de H₂O₂ dans la détermination de sa résistance et de sa sensibilité.

Les résultats trouvés de notre étude suggèrent que ces isolats bactériens déclenchent un mécanisme de défense antioxydant en réponse aux différentes concentrations d'H₂O₂ testées. A des concentrations plus élevées d'H₂O₂ (50 mM pour ISV1 et ISR1) et (100 mM pour ISR2, ISmR1 et ISmR2), ce système de défense semble devenir insuffisant pour neutraliser efficacement les dommages oxydatifs, ce qui conduit à une sensibilité des isolats ISV1, ISR1, ISR2, ISmR1 et ISmR2. Des études sur la sensibilité des bactéries vis-à-vis de l'H₂O₂ ont été faites, comme par exemple celles de Loewen *et al.* (1984) qui a confirmé la vulnérabilité d'*Escherichia coli* face au peroxyde d'hydrogène en raison de l'incapacité de son système de défense à faire face.

Concernant, les isolats bactériens ISV2 et ISS1 ont montré une capacité à résister à différentes concentrations d'H₂O₂, ce qui signifie que l'augmentation des concentrations testées d'H₂O₂, ne semble pas affectée la résistance de ces isolats suggérant ainsi qu'ils ont développé des réponses adaptatives au stress oxydatif induit par l'H₂O₂. Des études sur la résistance des bactéries vis-à-vis de l'H₂O₂ ont été faites, comme par exemple celles menées par Méndez *et al.* (2022), qui ont mis en évidence que les souches de *Pseudomonas xenovorans* et de *Pseudomonas aeruginosa* révèlent une résistance face à l'H₂O₂.

Enfin, l'isolat ISS2 soit sensible à différentes concentrations d'H₂O₂ (25 mM, 50 mM et 100 mM), cette sensibilité pourrait être attribuée à une incapacité de son système de défense à résister aux concentrations d'H₂O₂ testées dans notre étude.

On s'attendait à ce que les deux isolats issus du même sol salin présentent un même profil de résistance face aux différentes concentrations d'H₂O₂ testées, ce qui n'est pas le cas. D'après les résultats obtenus (voir Tableau 6), il semble que le type de sol n'a pas réellement un effet direct sur le profil de résistance ou de sensibilité des isolats ISV1, ISV2, ISR1, ISR2, ISmR1, ISmR2, ISS1 et ISS2, face aux différentes concentrations d'H₂O₂ testées (25 mM, 50 mM et 100 mM). Par exemple, dans le cas des isolats ISS1 et ISS2 issu d'un même type de sol salin, une étude a mis en évidence que les bactéries des sols salins sont dotées de stratégies d'adaptation spécifiques aux conditions extrêmes (Otlewska *et al.*, 2020), tels que le stress salin causé par une concentration élevée de sel dans le sol peut entraîner un stress oxydatif (Rozema et Flowers, 2008 ; James *et al.*, 2011). Ce qui potentiellement peut s'impliquer sur notre isolat ISS1 qui présente une résistance face aux différentes concentrations d'H₂O₂

testées (25 mM, 50 mM et 100 mM), l'étude de Yan *et al.* (2006) a montré des résultats qui semblent similaires à ceux que nous avons trouvés pour l'isolat ISS1. En effet, il examina *Bacillus* sp montrant sa réponse adaptative au stress oxydatif grâce à une forte production de catalase. Cette capacité permet à la bactérie de résister à l' H_2O_2 et aux conditions stressantes comme la haute salinité.

En effet, les résultats montrent (Tableau 6) que l'isolat ISS2 présente un profil différent et une sensibilité aux différentes concentrations d' H_2O_2 testées qui peut être due, selon les études de Rozema et Flowers (2008) et James *et al.* (2011), à la concentration du sel du sol qui n'a pas pu être sélective pour les bactéries résistantes et éliminatrices pour les autres bactéries. Cette différenciation dans le profil de résistance ou de sensibilité peut également être expliquée par la variabilité génétique et les adaptations spécifiques de chaque souche bactérienne en réponse aux stress environnementaux tels que le stress oxydatif (Lowe *et al.*, 1993). Il est à noter que cette dernière explication s'applique non seulement aux sols salins mais également aux différents types de sols qu'on a testés.

Les résultats de notre étude semblent probablement similaires à ceux de l'étude menée par Gerna *et al.* (2020) sur les isolats bactériens provenant du sol rhizosphérique, qui ont été évalués leur capacité à décomposer l' H_2O_2 . Leurs résultats ont montré une variation notable dans les niveaux de décomposition d' H_2O_2 entre les différents isolats étudiés, un tiers des isolats de *Pseudomonas* étudiées présentaient des capacités de détoxification les plus élevées. En revanche, les isolats associés aux genres *Pantoea* et *Rhodococcus* affichaient les capacités les plus faibles, ce qui peut souligner une diversité de profils de résistance à l' H_2O_2 des bactéries de la rhizosphère. Cependant, d'autres études ne sont pas en accord avec les résultats qu'on obtenus, comme celle de d'Amaya-Gómez *et al.* (2020), qui ont observé une résistance à l' H_2O_2 chez les trois souches de *Rhizobium* sp. provenant du même sol, ce qui suggère, selon cette étude, que potentiellement le type de sol peut influencer la composition bactérienne ainsi que leur sensibilité ou résistance à l' H_2O_2 (Xu *et al.*, 2023).

La résistance à l' H_2O_2 observée chez les isolats bactériens étudiés peut être expliquée par la présence d'une activité catalasique chez les isolats étudiés montrant qu'ils sont dotés de système de défense antioxydante. Cette enzyme est le responsable de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2), offrant ainsi une protection contre les effets nocifs du peroxyde d'hydrogène. De nombreuses espèces bactériennes produisent cette enzyme catalase, qui constitue un mécanisme important de défense contre le

stress oxydatif (Brudzynski, 2006 ; White *et al.*, 2021). En effet, les résultats obtenus par Zhang *et al.* (2019) ont mis en évidence la capacité de la bactérie *Pseudomonas stutzeri* à dégrader l'H₂O₂ grâce à son activité catalasique. Aussi l'étude de Squire *et al.* (2022) ont montré que la présence d'une activité catalasique confère à *Acinetobacter baumannii* une résistance remarquable à l'H₂O₂. De manière similaire, les études réalisées sur les bactéries *Bacillus pumilus* (Philibert *et al.*, 2016), *Sinorhizobium meliloti* (Jaszek *et al.*, 2014), *Pseudomonas brassicacearum*, *Pseudomonas corrugata*, *Paenibacillus borealis* et *Sinorhizobium meliloti*, (Kisiel et Miller, 2023), ont également abouti à des résultats concordants, démontrant la capacité de ces bactéries à détoxifier l'H₂O₂ via l'activité catalasique.

Des conclusions similaires ont également été tirées d'une étude antérieure sur *Escherichia coli*, montrant que les mutants surproduisant la catalase étaient plus résistants à l'H₂O₂ (Greenberg et Demple, 1988).

Afin de corréliser la résistance/sensibilité des isolats vis-à-vis de l'H₂O₂, nous avons recherché et dosé l'enzyme principale détoxifiant l'H₂O₂, la catalase, dans les surnageants des isolats bactériens testés dans notre étude.

4. Dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)

Afin de déterminer la teneur en protéines présentes dans les surnageants des isolats bactériens étudiés, une courbe étalon DO_{595 nm} = f ([BSA]) a été tracée selon la méthode de Bradford (1976) (Figure 8).

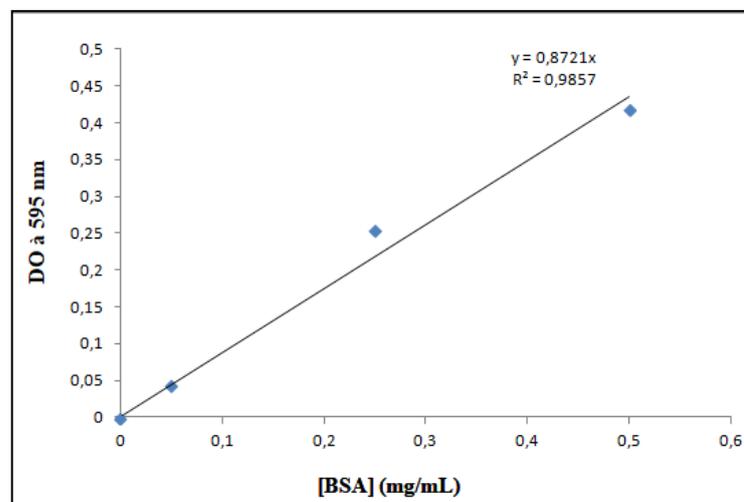


Figure 8 : Courbe étalon de la protéine de référence BSA.

Ensuite, les quantités des protéines de chaque surnageant ont été déterminées, les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Concentration en protéine des surnageants des 8 isolats bactériens.

Les isolats	[protéine] (mg/mL)
ISV1	0,061
ISV2	0,435
ISR1	0,244
ISR2	0,063
ISmR1	0,244
ISmR2	0,346
ISS1	0,074/0,085
ISS2	0,060

Le dosage du surnageant de l'isolat ISS1 a été effectué 2 fois, le 1^{er} qui comprend une teneur en protéines de 0,074 mg/mL a été utilisé pour tester l'activité catalasique du H₂O₂ et le 2^{ème} qui comprend une teneur en protéines de 0,085 mg/mL a été utilisé pour tester l'activité de piégeage du DPPH.

Les résultats obtenus du dosage des protéines de nos isolats bactériens par le test de Bradford revêtent une importance primordiale dans notre recherche de l'activité antioxydante dans les surnageants bactériens. Cette étape essentielle nous assure que les différences dans la capacité antioxydante observées entre ces isolats ne sont pas dues à des variations dans la concentration de protéines, mais plutôt à leur activité enzymatique intrinsèque (Banik *et al.*, 2009).

5. Recherche d'activités antioxydantes dans les isolats bactériens

5.1. Recherche d'activité catalasique dans les surnageants des isolats bactériens

Afin de rechercher l'activité catalasique et de déterminer la quantité de l'H₂O₂ dégradée par les catalases des isolats bactériens étudiés, une courbe étalon DO_{240 nm} =f ([H₂O₂]) a été tracée (Figure 9).

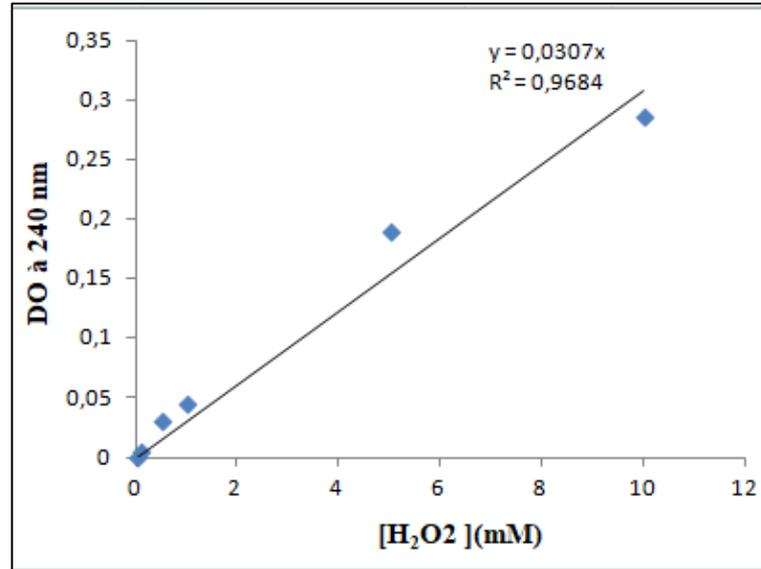
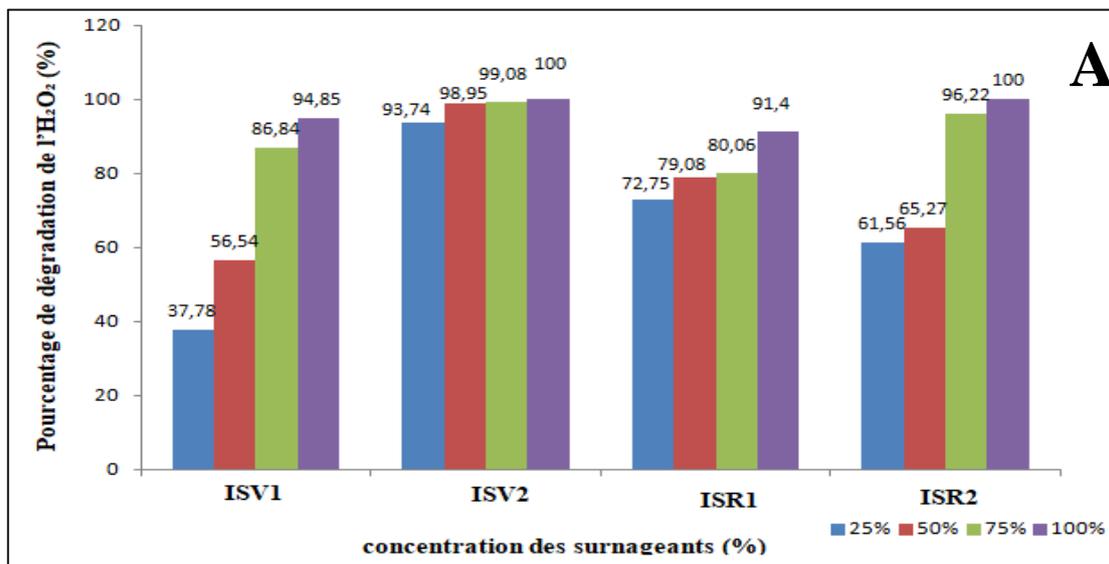


Figure 9 : Courbe étalon de l'H₂O₂.

L'activité catalasique des surnageants des 8 isolats bactériens à différentes concentrations a été mesurée par un suivi de la dégradation de l'H₂O₂. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure ci-dessous.



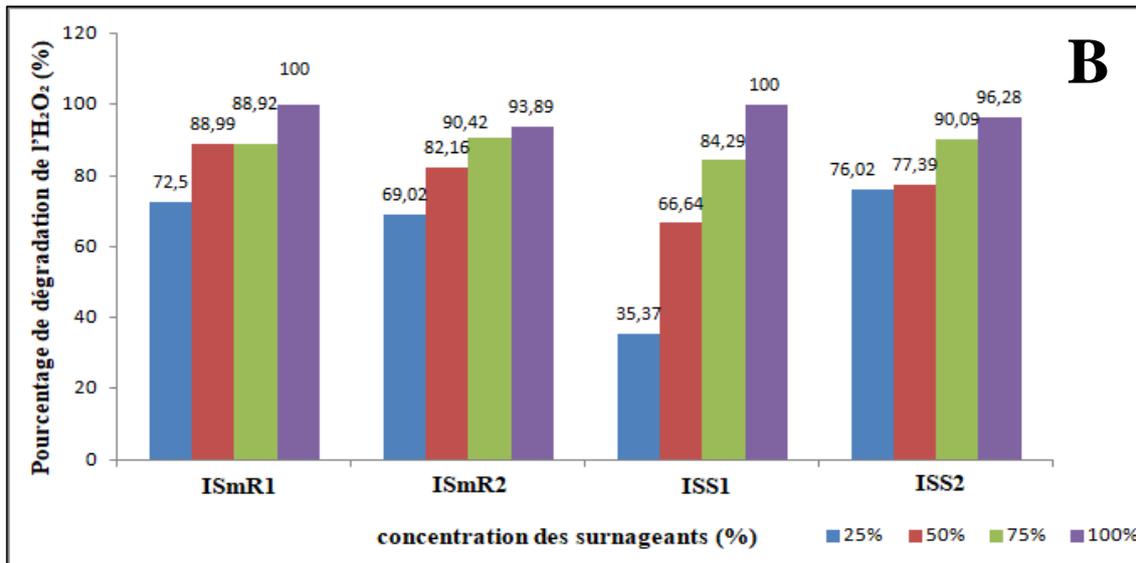


Figure 10 : Pourcentages de dégradation de l'H₂O₂ par les surnageants, des isolats bactériens, à différentes concentrations

A : les résultats des surnageants des isolats ISV1, ISV2, ISR1 et ISR2, **B** : les résultats des surnageants des isolats ISmR1, ISmR2, ISS1 et ISS2.

Les résultats de cette étude indiquent que les surnageants des 8 isolats bactériens présentent une capacité de dégradation d'H₂O₂, donc une activité catalasique. Cette activité augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration des surnageants bactériens. Une concentration accrue de surnageant influence sur l'activité enzymatique au sein de ces extraits bactériens (Fofana *et al.*, 1981), lui permettant de jouer un rôle crucial dans la détoxification des radicaux libres et la protection cellulaire contre le stress oxydatif (Park *et al.*, 2016) du fait que la catalase agit pour dégrader l'H₂O₂ (Benoit et Maier, 2016).

A la concentration de 25 %, ISV2 possède la capacité la plus élevée de dégradation d'H₂O₂ (93,74 %), suivie respectivement par les isolats ISR2, ISmR2, ISmR1, ISR1, ISS2 avec un taux entre 61 % et 76 %, et enfin les plus faibles sont ISS1 et ISV1 avec respectivement 35 % et 37 % de dégradation (Figure 10).

À la concentration de 50 % et 75 %, ISV2 possède toujours la capacité la plus élevée à dégrader l'H₂O₂ (Figure 10 A). Cependant, la capacité de dégradation pour les autres isolats varie entre ces 2 concentrations.

Dans la concentration 50 %, ISmR1 et ISmR2 ont un taux de dégradation plus élevé (88 % et 82 % respectivement), par rapport à ISR1, ISS2, ISS1 et ISR2 (Figure 10 B).

Concernant ISV1, considéré comme la plus faible avec 56 % de dégradation. Pour la concentration 75 %, les isolats ISR2, ISmR2 et ISS1 ont une capacité de dégradation d'H₂O₂ plus élevée, variant entre 90 % et 96 % en comparaison avec les autres isolats (Figure 10).

Pour la concentration 100%, ISV2, ISRZ2, ISmR1 et ISS1 (Figure 10) possèdent des capacités identiques de dégradation (100 %), cela indique qu'ils sont les plus forts par rapport aux autres isolats et que la quantité d'H₂O₂ ajoutée a été complètement dégradée.

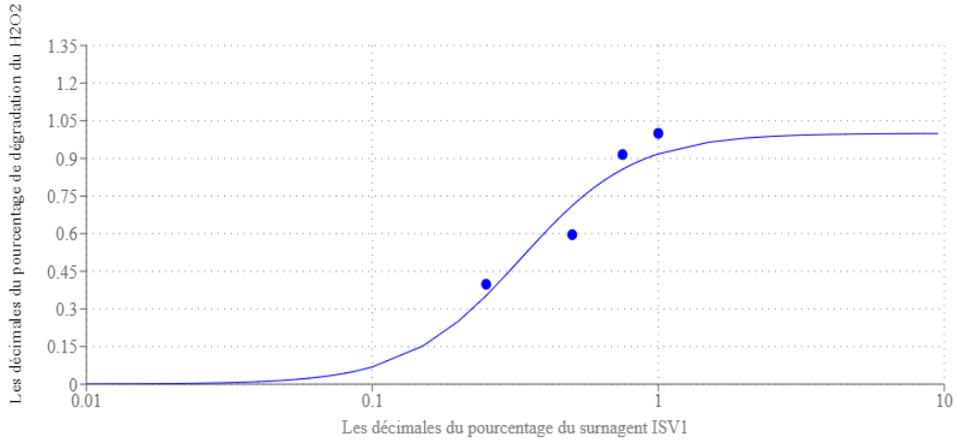
La présence de l'activité catalasique dans les surnageants des 8 isolats bactériens peut être expliquée par la nécessité de cette activité pour assurer la survie des bactéries. En effet, il existe une production endogène d'ERO par les bactéries dans les processus de métabolisme cellulaire et de respiration (Yang *et al.*, 2019) ainsi que lors de leur exposition à d'autres facteurs de stress (Dwyer *et al.*, 2009 ; Yang *et al.*, 2019), entraînant des dommages à l'ADN, aux métalloprotéines, aux lipides et à d'autres composants cellulaires essentiels (Ezraty *et al.*, 2017). Pour maintenir l'homéostasie intracellulaire et assurer leur survie, les bactéries ont évolué avec toute une gamme de stratégies de défense, parmi lesquelles la catalase qui agit comme une barrière protectrice contre les effets nocifs des ERO et joue un rôle indispensable dans le maintien de l'homéostasie intracellulaire (Smejkal et Kakumanu, 2019). En convertissant efficacement l'H₂O₂ en oxygène (O₂) et en eau (comme il est déjà mentionné dans la partie bibliographique, Réaction 3) (Winterbourn, 1995).

Après avoir évalué les activités catalasiques des 8 isolats et établi l'effet de la concentration du surnageant sur cette activité, nous avons procédé au calcul de l'IC₅₀ afin de comparer les niveaux d'activité catalasique entre les différents isolats bactériens.

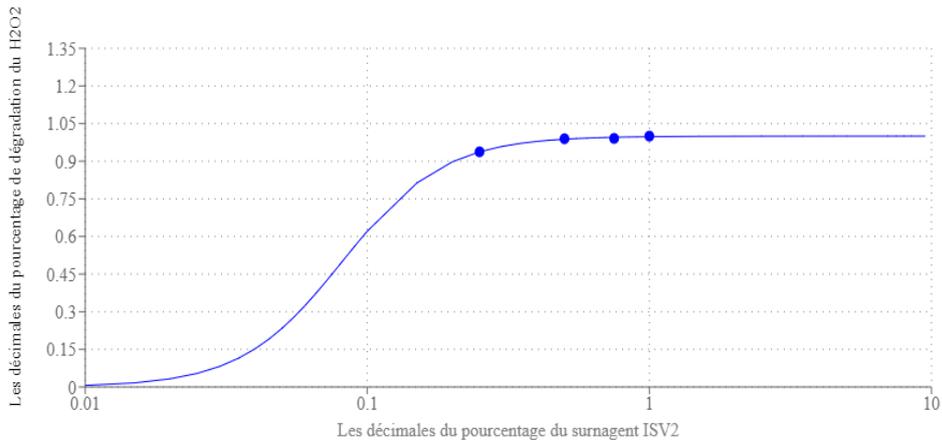
L'IC₅₀ (**I**nhibitory **C**oncentration at **50** %) est définie comme la concentration d'un composé qui entraîne précisément 50 % de l'effet d'inhibition maximal atteignable dans le test (Nevozhay, 2014). La valeur d'IC₅₀ diminue à mesure que l'activité antioxydante d'un composé augmente (Ismaili *et al.*, 2017).

L'IC₅₀ a été calculée à partir des concentrations de dégradation de l'H₂O₂ en fonction des concentrations des surnageants des différents isolats. Les valeurs des IC₅₀ ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire à l'aide de logiciels d'ATT Bioquest (ATT Bioquest, 2024) (Figure 11).

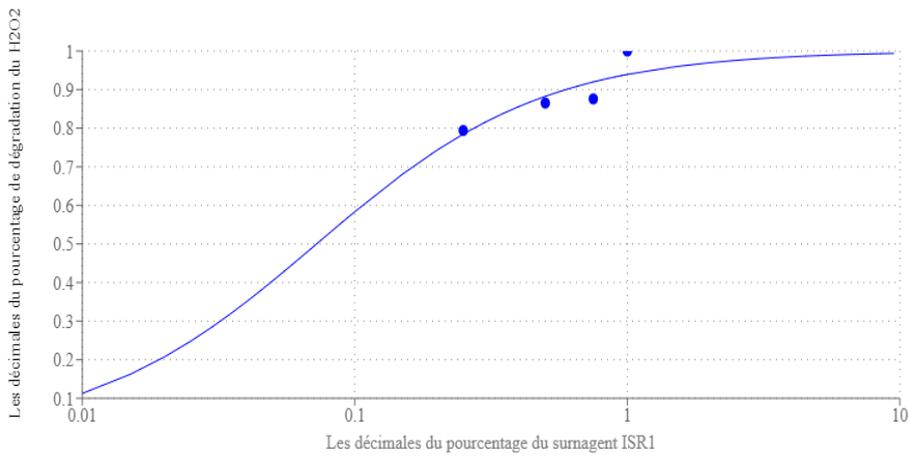
A

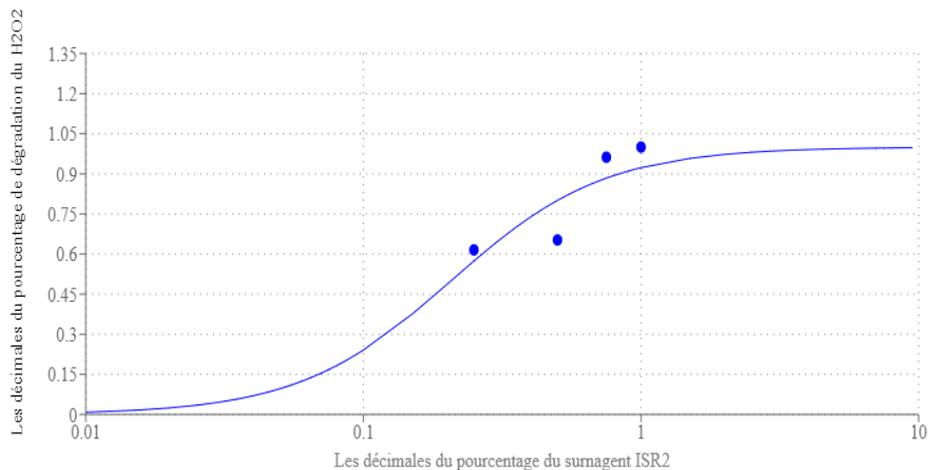


B

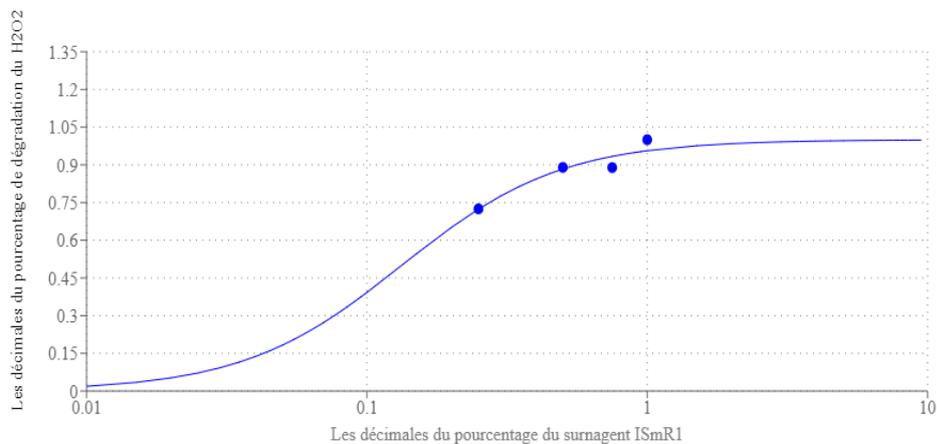


C

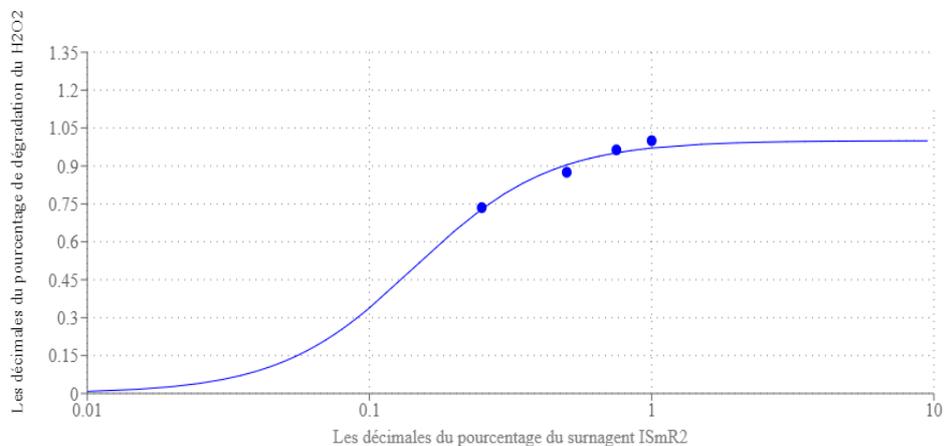




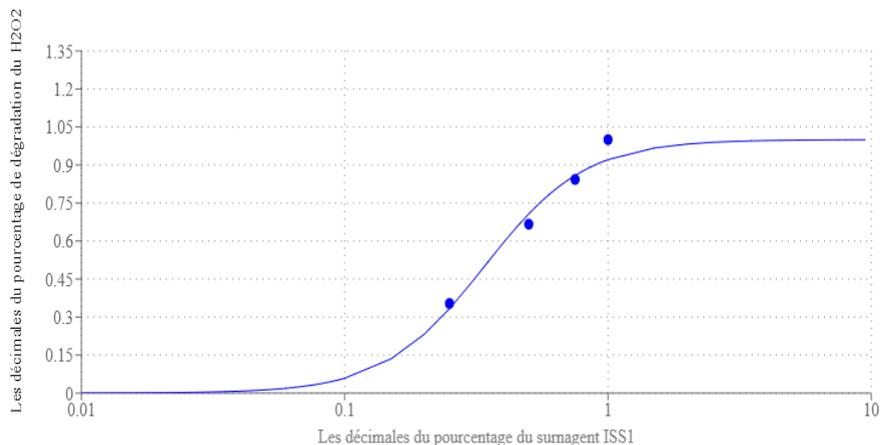
D



E



F



G

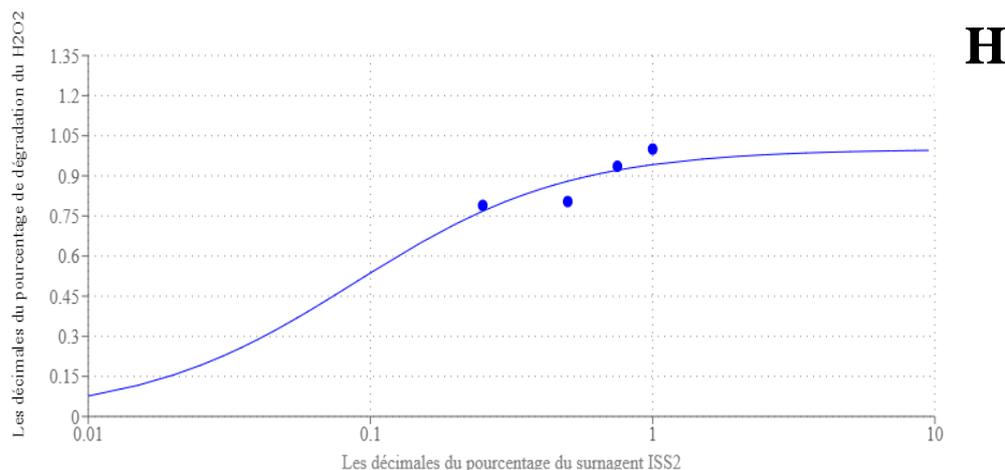


Figure 11 : Détermination de l'IC₅₀ de la dégradation de l'H₂O₂ par les différents surnageants bactériens.

A : IC₅₀ de l'isolat ISV1, **B** : IC₅₀ de l'isolat ISV2, **C** : IC₅₀ de l'isolat ISR1, **D** : IC₅₀ de l'isolat ISR2, **E** : IC₅₀ de l'isolat ISmR1, **F** : IC₅₀ de l'isolat ISmR1, **G** : IC₅₀ de l'isolat ISS1, **H** : IC₅₀ de l'isolat ISS2.

Les valeurs obtenues des IC₅₀ de la dégradation de l'H₂O₂ par les surnageants des 8 isolats bactériens étudiés, obtenus en premier lieu en pourcentages des surnageants (Figure 10), ont été converties en concentration des protéines (mg/mL) en se basant sur le dosage Bradford (tableau 7). Cette conversion en concentrations des protéines permet de comparer entre l'activité antioxydante des surnageants. Le Tableau 8 récapitule les résultats obtenus.

Tableau 8 : Valeurs des IC₅₀ de la dégradation de l'H₂O₂ par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL).

Les isolats	IC ₅₀ H ₂ O ₂ en pourcentage des surnageants (%)	IC ₅₀ en quantité de protéine des surnageants (mg/mL)
ISV1	33,02	0,020
ISV2	8,15	0,035
ISR1	7,24	0,017
ISR2	20,69	0,013
ISmR1	13,31	0,032
ISmR2	14,47	0,050
ISS1	33,39	0,024
ISS2	8,79	0,005

D'après les résultats obtenus (Figure 11 et Tableau 8), le surnageant de l'isolat ISS2 présente la plus faible concentration d'inhibition à 50 % (0,005 mg/mL), par conséquent, l'activité catalasique d'H₂O₂ la plus importante (Figure 11 H, Tableau 8). Par contre, le surnageant de l'isolat ISmR2 présente l'IC₅₀ le plus élevé (0,050 mg/mL) et par conséquent l'activité catalasique la plus faible (Figure 11 F, Tableau 8).

Les surnageants des isolats ISR2 et ISR1 présentent des IC₅₀ proches, respectivement, de 0,013 et 0,017 mg/mL, ce qui montre qu'ils possèdent une activité catalasique inférieure à celle d'ISS2 et plus élevée que les autres isolats étudiés (Figure 11 C et D, Tableau 8), suivis des surnageants des isolats ISV1, ISS1, ISmR1 et ISV2 qui possèdent, respectivement, des IC₅₀ de 0,020. 0,024. 0,032 et 0,035 mg/mL (Figure 11 A, G, E et B, Tableau 8) et par conséquent, leur activité catalasique moins importante par rapport à celle des isolats ISR2 et ISR1.

En résumé, l'ordre décroissant de l'activité de dégradation de l'H₂O₂ par les isolats est comme suit : ISS2 est la plus performante, suivie, respectivement, de celle des isolats ISR2, ISR1, ISV1, ISS1, ISmR1, ISV2 et ISmR2.

La différence dans la performance entre les isolats peut être due à leur variabilité génétique. En effet, les bactéries peuvent avoir des génomes différents, ce qui peut influencer les gènes responsables de la production de catalase d'une bactérie à une autre (Bucková *et al.*, 2010).

La comparaison des résultats obtenus précédemment dans le test de résistance/sensibilité à l' H₂O₂ des 8 isolats bactériens étudiés (Tableau 6) avec les résultats des pourcentages de dégradation de l'H₂O₂ par les surnageants, des isolats bactériens, à différentes concentrations (25 %, 50 %, 75 % et 100 %) (Figure 10), a mis en évidence que l'isolat ISV2 se distingue probablement comme le plus performant dans cette étude. Il présente une résistance remarquable à toutes les concentrations d'H₂O₂ testées (25 mM, 50 mM et 100 mM), ainsi qu'une capacité de dégradation de l'H₂O₂ dans les différentes concentrations des surnageants testées par rapport a les autres isolats étudiées. Cette efficacité notable pourrait s'expliquer par l'activation de la catalase en réponse aux concentrations accrues d'H₂O₂, agissant ainsi comme un détoxifiant à l'H₂O₂ (Li *et al.*, 2015).

De même, on remarque aussi une corrélation notable entre les résultats de l'isolat ISS1 qui a présenté une résistance à toutes les concentrations d' H_2O_2 testées sur boîte (Tableau 6), et les résultats de dégradation de l' H_2O_2 (Figure 10 B) qui révèlent que cet isolat ISS1 possède une activité catalasique dans les différentes concentrations des surnagnats (25 %, 50 % et 75 % et 100 %) et même une capacité à dégrader toute la quantité d' H_2O_2 présente dans le milieu réactionnel à la concentration 100 % du surnagenant.

D'autre part, on constate toujours d'après les données recueillies précédemment (Tableau 6 et Figure 10), que l'isolat ISS2 qui révèle une sensibilité à toutes les concentrations d' H_2O_2 testées (25 mM, 50 mM et 100 mM) bien qu'il est doté d'une activité catalasique importante (Figure 10 B) par rapport à d'autres isolats étudiées. En effet, la concentration 25 %, l'isolat ISS2 possède une activité catalasique la plus élevée par rapport aux autres isolats étudiés sauf par rapport à l'isolat ISV2, à la concentration 50 %, il possède une activité catalasique la plus élevée par rapport aux isolats ISV1, ISR2 et ISS1, à la concentration 75 % il possède une activité catalasique plus élevée par rapport aux isolats ISV1, ISR1, ISmR1 et ISS1 et à la concentration 100 %, il possède une activité catalasique la plus élevée par rapport aux ISV1, ISR1 et ISmR2 (Figure 10).

Concernant les autres isolats ISV1, ISR1, ISR2, ISmR1 et ISmR2, leurs résultats précédents montrent un changement de profil d'une résistance vers une sensibilité en fonction de l'augmentation des concentrations d' H_2O_2 . En effet, les isolats ISR1 et ISV1 deviennent sensibles à la concentration de 50 mM, tandis que les isolats ISR2, ISmR1 et ISmR2 deviennent sensibles à la concentration de 100 mM (Tableau 6). Cependant, ces isolats peuvent montrer des pourcentages de dégradation de l' H_2O_2 remarquables par les surnageants à différentes concentrations, surtout les isolats ISR2 et ISmR1, qui ont pu dégrader toute la quantité d' H_2O_2 ajoutée (Figure 10). Ces résultats de différence entre les profils de résistance/sensibilité des bactéries à l' H_2O_2 sur boîte et leur capacité à dégrader l' H_2O_2 peut être expliqué par l'étude de Watanabe *et al.* (2023), qui suggère que même si des souches bactériennes possèdent des gènes de catalase fonctionnels, elles demeurent sensibles à l' H_2O_2 . Cela pourrait indiquer que d'autres mécanismes ou facteurs peuvent être impliqués dans la réponse au stress oxydatif.

5.2. Recherche d'activités de piégeage du DPPH par les surnageants des isolats bactériens

Pour estimer les capacités de piégeage du DPPH par les surnageants des isolats bactériens étudiés et par l'acide ascorbique, une courbe étalon $DO_{517nm} = f([DPPH])$ a été tracée (Figure 12).

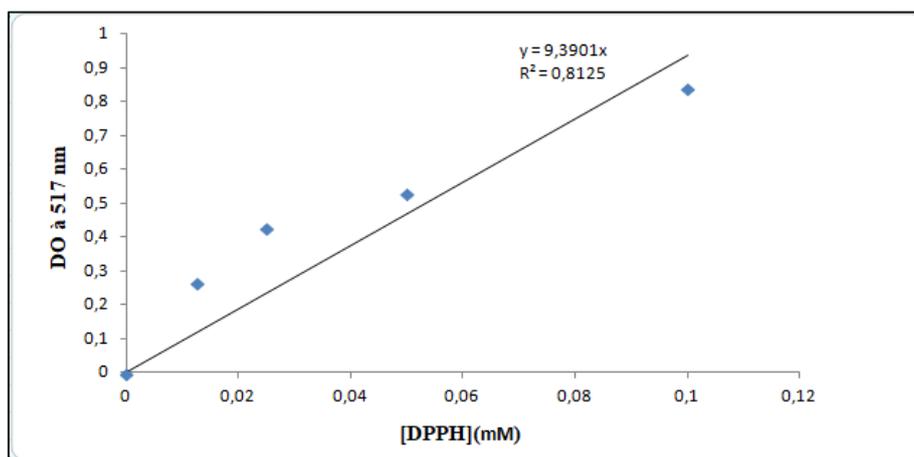


Figure 12 : Courbe étalon du DPPH.

La recherche de la capacité de piégeage du DPPH par les surnageants des 8 isolats bactériens à différentes concentrations (25 %, 50 % et 75 %) a été mesurée. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure ci-dessous.

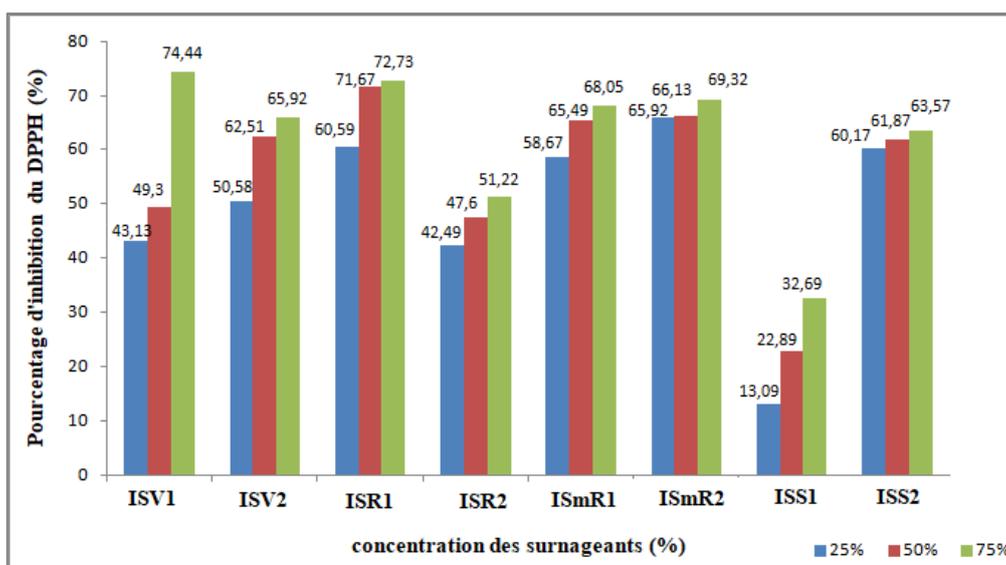


Figure 13 : Pourcentages d'inhibition du DPPH par les surnageants, des isolats bactériens, à différentes concentrations.

Les résultats obtenus (Figure 13) indiquent que les surnageants des 8 isolats bactériens présentent une capacité d'inhibition du DPPH et donc une activité antioxydante. Cette activité augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration des surnageants. Ils montrent aussi que le pourcentage d'inhibition du DPPH diffère d'un isolat à un autre (Figure 13).

À la concentration de 25 %, ISmR2 possède la capacité la plus élevée d'inhibition du DPPH (65,92 %), suivie respectivement des isolats ISR1, ISS2, ISmR1, ISV2, ISV1, ISR2 avec un taux entre 42 % et 61 %, et enfin la plus faible est celle de l'isolat ISS1 avec 13,09 % d'inhibition (Figure 13).

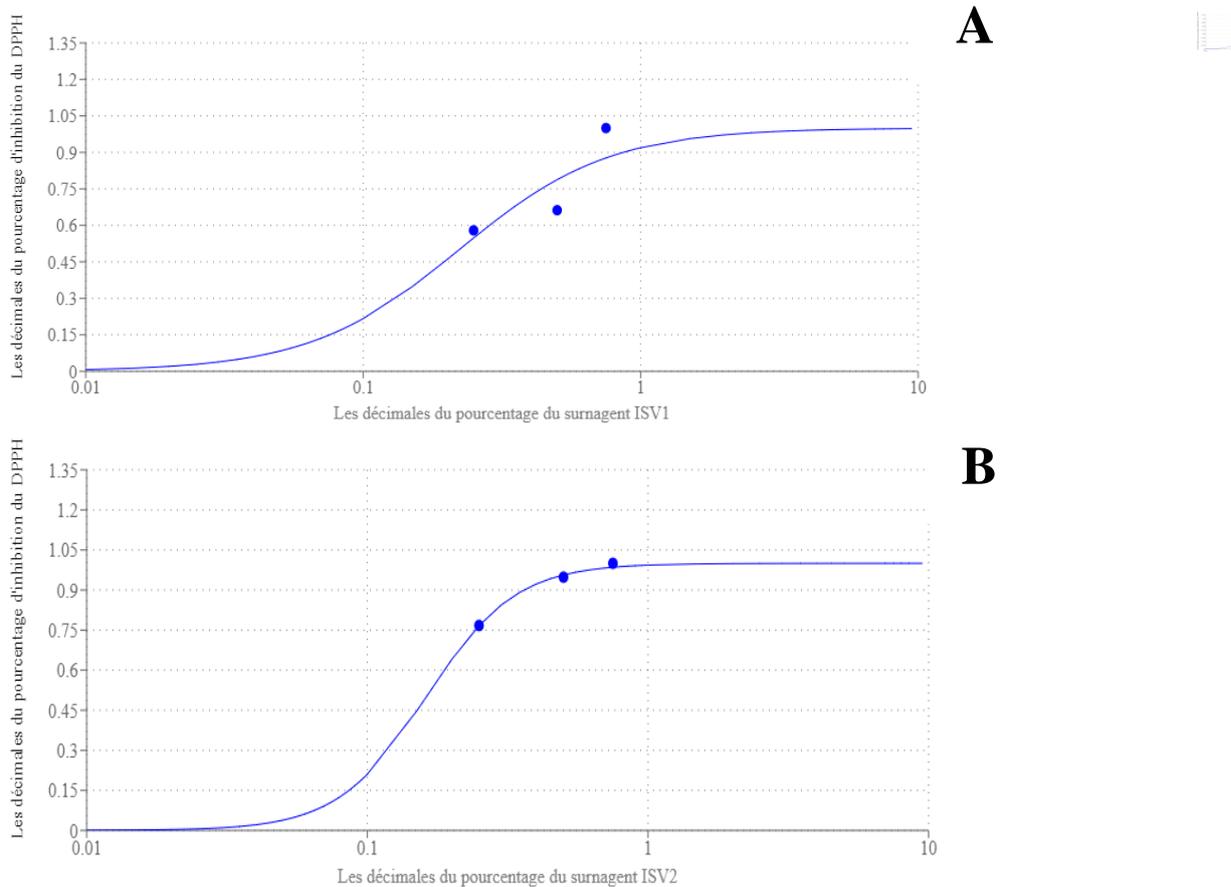
À la concentration de 50 %, la capacité la plus élevée de piégeage du DPPH est détenue par l'isolat ISR1 (71,67 %), suivie, respectivement, des isolats ISmR2, ISmR1, ISV2, ISS2, ISV1, ISR2 avec un taux entre 47 % et 66 % d'inhibition, concernant l'isolat ISS1, à cette concentration de surnageant, il est considéré comme l'isolat le plus faible avec une capacité de piégeage du DPPH de 22,89 % (Figure 13).

Pour la concentration 75 %, les isolats ISV1 et ISR1 possèdent les capacités les plus fortes de piégeage du DPPH avec un taux, respectivement, de 74,44 % et 72,73 % par rapport, respectivement, aux autres isolats ISmR2, ISmR1, ISV2, ISS2 et ISR2, qui possèdent un taux varié entre 51 % et 69 %. L'isolat ISS1 reste toujours le plus faible avec une capacité de piégeage du DPPH de 32,69 % (Figure 13).

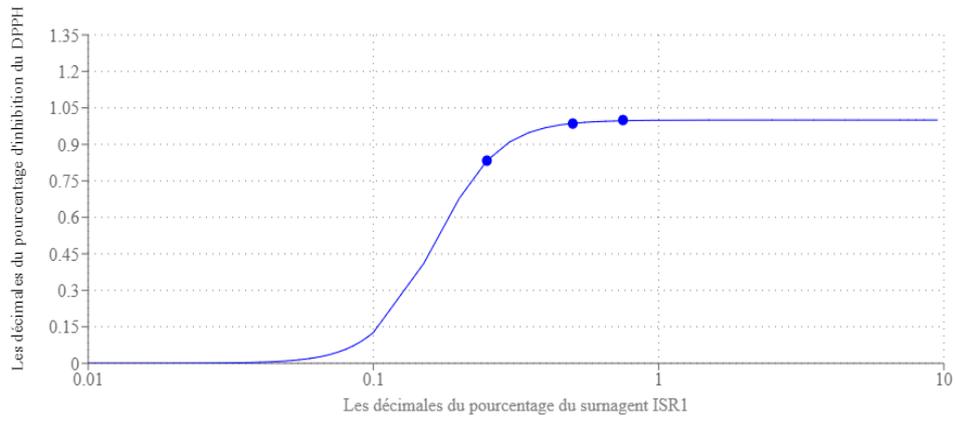
Ces résultats obtenus (Figure 13) ont démontré que les surnageants des 8 isolats bactériens sont capables d'inhiber le DPPH, ce qui montre que ces surnageants sont dotés d'une activité antioxydante. Ce test de piégeage du DPPH est largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits bactériens car il réagit efficacement avec les antioxydants en changeant de couleur (Afify *et al.*, 2012). Pour rappel, lorsque le DPPH réagit avec un antioxydant efficace, il devient jaune pâle, indiquant ainsi une réduction de son potentiel oxydant (Sirivibulkovit *et al.*, 2018). Ainsi, plus la capacité d'un surnageant à inhiber le DPPH est élevée, plus son activité antioxydante est importante (Brand-Williams *et al.*, 1995 ; Bondet *et al.*, 1997 ; Dawidowicz *et al.*, 2006). De plus, il a été observé de nos résultats que cette activité antioxydante augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration des surnageants (Figure 13). Ce qui indique qu'une concentration plus élevée du surnageant correspond à un effet antioxydant plus prononcé.

Plusieurs études ont montré la capacité des bactéries à inhiber le DPPH, par exemple l'étude de Tan *et al.* (2018) a également démontré que *Streptomyces* sp, isolé du sol de mangrove, présentait une activité significative de piégeage du DPPH. De même, l'étude de Akinsanya *et al.* (2015) a révélé que les bactéries endophytes *Pseudomonas hibiscicola*, *Macroccus caseolyticus*, *Enterobacter ludwigii* et *Bacillus anthracis* produisaient des composés bioactifs dotés de fortes propriétés de piégeage du DPPH.

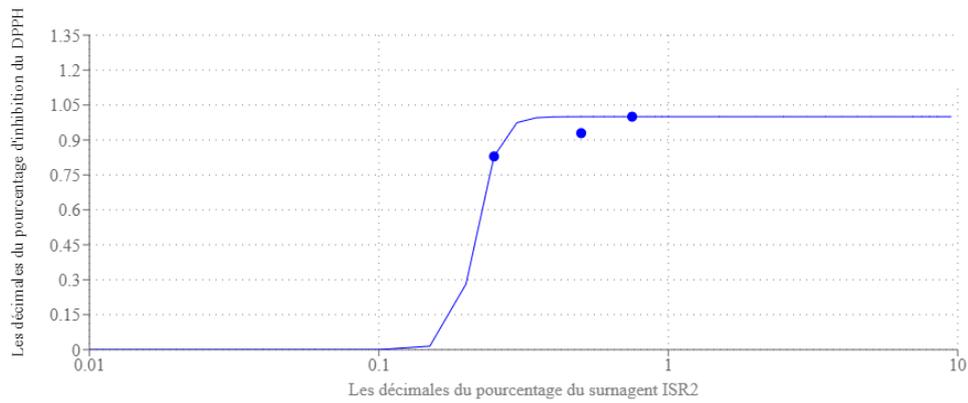
Après l'évaluation de l'activité d'inhibition du DPPH des 8 isolats en fonction de la concentration de leurs surnageants, l'IC50 a été calculé afin de pouvoir comparer cette activité de piégeage du DPPH entre les différents isolats bactériens. Les valeurs des IC50 ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire à l'aide de logiciels d'ATT Bioquest (ATT Bioquest, 2024) (Figure 14).



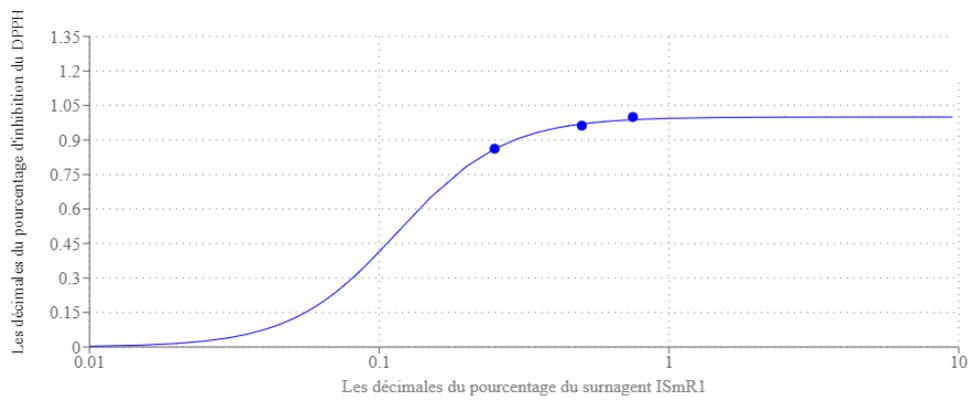
C



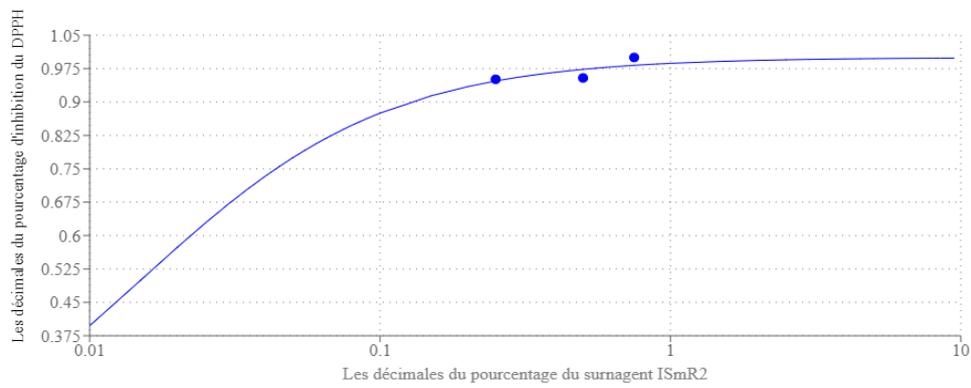
D



E



F



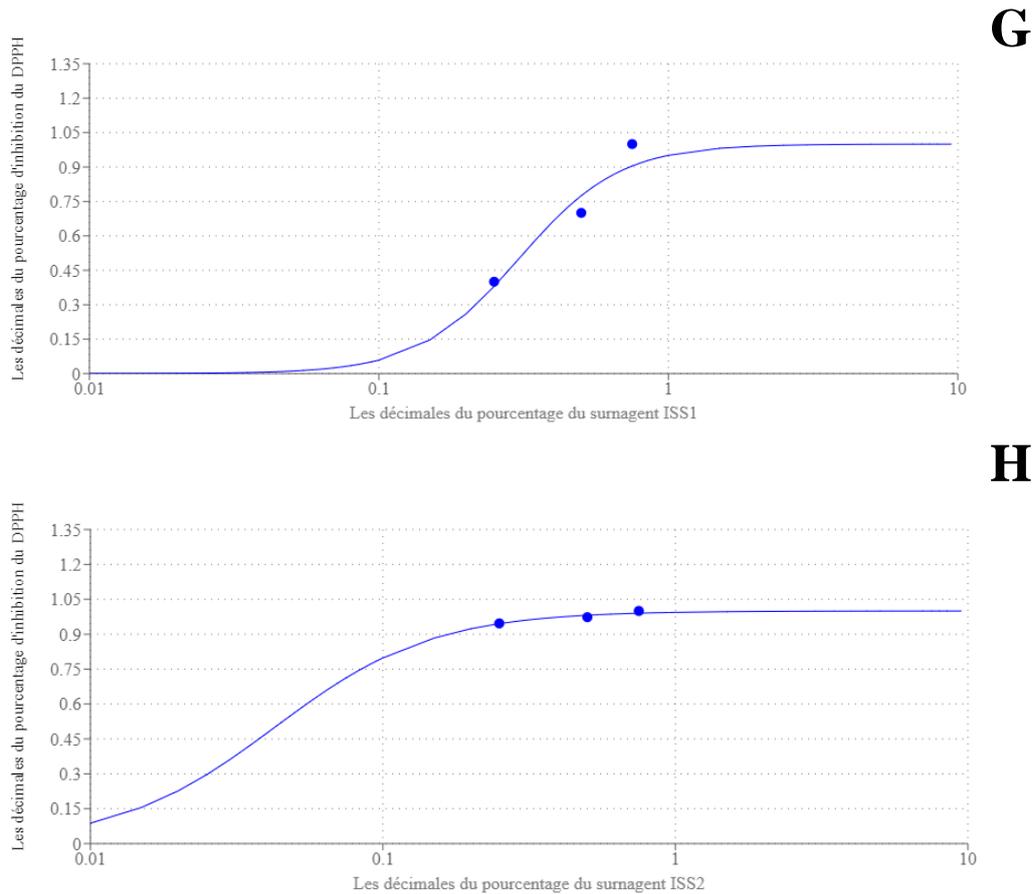


Figure 14 : Détermination de l'IC₅₀ d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens.

A : IC₅₀ de l'isolat ISV1, **B** : IC₅₀ de l'isolat ISV2, **C** : IC₅₀ de l'isolat ISR1, **D** : IC₅₀ de l'isolat ISR2, **E** : IC₅₀ de l'isolat ISmR1, **F** : IC₅₀ de l'isolat ISmR1, **G** : IC₅₀ de l'isolat ISS1, **H** : IC₅₀ de l'isolat ISS2.

Les valeurs obtenues des IC₅₀ du piégeage du DPPH par les surnageants des 8 isolats bactériens étudiés, obtenus en premier lieu en pourcentages des surnageants (Figure 14), ont été converties en concentration des protéines (mg/mL) en se basant sur le dosage Bradford (Tableau 7). Cette conversion en concentrations des protéines permet de comparer entre l'activité de piégeage du DPPH, donc l'activité antioxydante des surnageants. Le Tableau 9 récapitule les résultats obtenus.

Tableau 9 : Valeurs des IC50 d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL).

Les isolats	IC50 DPPH en pourcentage des surnageants (%)	IC50 en quantité de protéine des surnageants (mg/mL)
ISV1	22 ,18	0,013
ISV2	16,20	0,070
ISR1	16,49	0,040
ISR2	21,73	0,013
ISmR1	11,56	0,028
ISmR2	1,5	0,005
ISS1	30,43	0,026
ISS2	4,27	0,002

D'après les résultats obtenus (Figure 14 et Tableau 9), le surnageant de l'isolat ISS2 présente la plus faible concentration d'inhibition à 50 % (0,002 mg/mL), par conséquent, l'activité d'inhibition du DPPH la plus importante (Figure 14 H, Tableau 9). Suivi directement par le surnageant de l'isolat ISmR2 qui possède un IC50 égal à 0,005 mg/mL, ce qui se considère aussi comme une forte capacité d'inhibition, mais avec un taux inférieur à celui le du surnageant de l'isolat ISS2 (Figure 14 F, Tableau9). Enfin, le surnageant de l'isolat ISV2 avec un IC50 le plus élevé (0,070 mg/mL), possède l'activité d'inhibition du DPPH la plus faible (Figure 14 B, Tableau 9).

Les surnageants des isolats ISV1et ISR2 présentent des IC50 identiques égales à 0,013 mg/mL, ce qui montre qu'ils possèdent la même capacité de piégeage du DPPH (Figure 14 A et D, Tableau9). Les surnageants des isolats ISS1, ISmR1et ISR1 possèdent, respectivement, des IC50 de 0,026. 0,028 et 0,040 mg/mL (Figure 14, G, E et C, Tableau9).

Et par conséquent, ils possèdent une activité d'inhibition du DPPH supérieure à celle de l'isolat ISV2 et inférieure à celle des autres isolats étudiés.

En résumé, l'ordre décroissant de l'activité de piégeage du DPPH par les isolats est comme suit : ISS2 est le plus performant, suivi respectivement par les isolats ISmR2, ISV1 et ISR2 (ces 2 derniers sont à égalité), ensuite, viennent ISS1, ISmR1, ISR1, et enfin ISV2.

Afin de comparer les capacités de piégeage du DPPH des isolats bactériens testés dans notre étude (Figure 14 et tableau 9) avec d'autres isolats bactériens utilisés dans d'autres études, les IC50 d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens convertis en concentration des protéines (mg/mL) (Tableau 9) ont été comparés. Par exemple, les travaux de Utami *et al.* (2023), ont révélé que *Bacillus cereus* a une activité de piégeage des radicaux DPPH égale à 0,262 mg/mL, l'étude de Fathoni *et al.* (2023) a démontré que les actinomycètes des sols rhizosphériques et *Streptomyces nigrescens*, ont présenté une activité de piégeage des radicaux DPPH avec des valeurs d'IC50 de 0,122 mg/mL et 0,098 mg/mL, respectivement, ainsi que les travaux de Tangjitjaroenkun *et al.* (2021) qui ont trouvé un IC50 égal à 0,299 mg/mL pour *Streptomyces achromogenes*, l'étude aussi de Riahi *et al.* (2019) qui a trouvé un IC50 égal à 0,74 mg/mL pour *Streptomyces lanatus*, et enfin les travaux de Lee *et al.* (2014) qui ont révélé une activité de piégeage des radicaux DPPH avec une valeur d'IC50 de 0,092 mg/mL chez *Streptomyces* sp.

Les valeurs d'IC50 obtenues dans les travaux annoncés précédemment, sont supérieures aux IC50 obtenus dans notre étude. En effet, les valeurs des IC50 de ces travaux varient entre 0,092 mg/mL et 0,299 mg/mL plus élevés que ceux de notre étude qui varient entre 0,002 mg/mL et 0,070 mg/mL. Ce qui signifie que l'activité de piégeage du DPPH est plus élevée chez nos isolats bactériens (plus la valeur IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est élevée).

Pour comparer les capacités d'inhibition du DPPH par les surnageants des 8 isolats bactériens étudiés, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard et son pourcentage d'inhibition du DPPH a été calculé à différentes concentrations. Les résultats tirés sont exposés dans la figure ci-dessous (Figure 15).

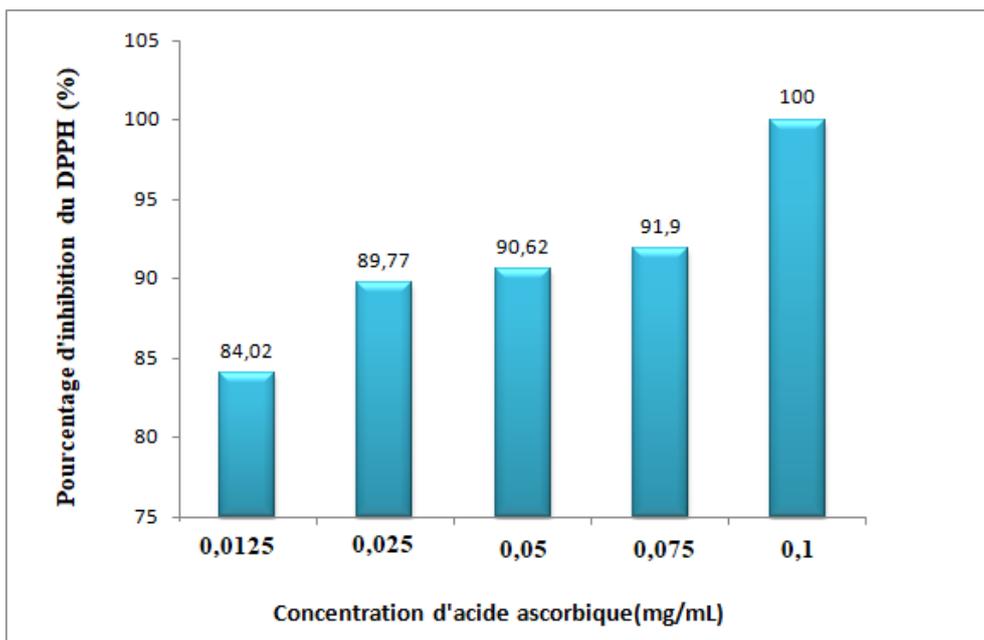


Figure 15: Pourcentages d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique, à différentes concentrations.

Les résultats obtenus montrent clairement que le standard, acide ascorbique inhibe d'une manière dose-dépendante le radical DPPH, c'est-à-dire le pourcentage d'inhibition du DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique (Figure 15).

À la concentration de 0,0125 mg/mL, l'acide ascorbique inhibe 84,02 % du DPPH, à la concentration de 0,025 mg/mL, inhibe 89,77 % et à la concentration de 0,5 mg/mL, inhibe 90,62 % du DPPH et à la concentration de 0,075 mg/mL, l'acide ascorbique inhibe 91,90 % du DPPH.

À la concentration de 0,1 mg/mL, l'acide ascorbique inhibe 100 % du DPPH présent dans le milieu réactionnel. Cela indique que la quantité du DPPH ajoutée a été complètement inhibée (Figure 15).

La concentration de l'acide ascorbique provoquant 50 % d'inhibition du DPPH (IC50) est calculée comme montré précédemment afin de comparer entre les capacités d'inhibition du DPPH par les surnageants bactériens étudiés et la capacité d'inhibition de l'acide ascorbique (Figure 16).

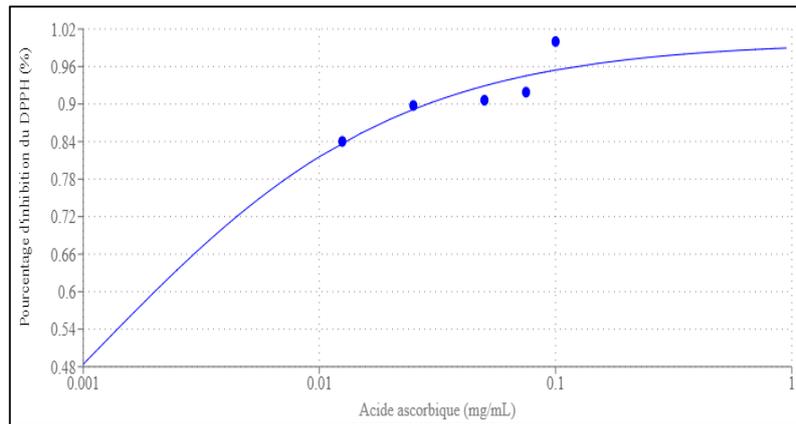


Figure 16 : Détermination de l'IC50 de l'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.

Dans les résultats obtenus, le standard (acide ascorbique) montre un IC50 plus faible (0,0011mg/mL) (Figure 16) par rapport ceux des surnageants des 8 isolats testés (Figure 14, tableau 9), ce qui indique que l'acide ascorbique présente une activité de piégeage du DPPH plus importante que celle des 8 isolats.

Les résultats d'IC50 obtenus d'après Les valeurs des IC50 de la dégradation de l'H₂O₂ (Tableau8) et d'inhibition du DPPH (Tableau 9) par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL) sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : IC50 des activités de dégradation de l'H₂O₂ et d'inhibition du DPPH par les différents surnageants bactériens converties en concentration des protéines (mg/mL).

Les isolats	IC50 H ₂ O ₂ en quantité de protéine des surnageants (mg/mL)	IC50 DPPH en quantité de protéine des surnageants (mg/mL)
ISV1	0,020	0,013
ISV2	0,035	0,070
ISR1	0,017	0,040
ISR2	0,013	0,013
ISmR1	0,032	0,028
ISmR2	0,050	0,005
ISS1	0,024	0,026
ISS2	0,005	0,002

D'après les résultats représentés dans le Tableau 10, une corrélation semble émerger entre les résultats de l'activité catalasique et des capacités inhibitrices du DPPH chez les isolats ISV1, ISR2, ISS2, ISS1 et ISmR1. Cependant, il est important de noter que les isolats ISV2, ISR1 et ISRm2 ne présentent pas de corrélation apparente entre ces deux activités antioxydantes. Ces résultats soulignent la diversité des mécanismes antioxydants présents chez ces isolats.

Selon les données recueillies (Tableau 10), il semble y avoir une parfaite corrélation entre les performances de l'isolat ISS2 en termes d'activité antioxydante pour l'inhibition du DPPH et l'activité catalasique de l'H₂O₂, comme le montre les valeurs d'IC₅₀ de 0,002 mg/mL et 0,005 mg/mL respectivement. Pour rappel, une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte activité antioxydante. Cette corrélation peut suggère que l'isolat ISS2 présente une capacité élevée à neutraliser les radicaux libres générés par le DPPH ainsi qu'à décomposer l'H₂O₂. Ces propriétés antioxydantes pourraient être liées à des mécanismes biochimiques communs ou à la présence de composés particuliers dans ISS2 qui contribuent à ces deux fonctions. A cet égard l'étude de Li *et al.* (2012) ont évalué les capacités de piégeage de DPPH *in vitro* et la résistance au H₂O₂ de 11 souches de *Lactobacillus plantarum*. Leurs résultats ont révélé que la souche *L. plantarum* C88 présentait les activités de piégeage des radicaux hydroxyles et du DPPH les plus élevées. Ces résultats soulignent le potentiel des souches de *L. plantarum*, en particulier *L. plantarum* C88, en tant qu'antioxydants naturels et comme agents résistants au stress oxydatif.

Concernant, l'isolat ISR2, il montre une activité catalasique et une capacité de piégeage du DPPH similaires, avec des valeurs d'IC₅₀ de 0,013 mg/mL (Tableau 10), le positionnant comme plus efficace par son activité catalasique par rapport aux isolats ISV1, ISV2, ISR1, ISmR1, ISmR2 et ISS1. De plus, il se révèle être plus efficace en termes de capacité de piégeage du DPPH par rapport à ISV1, ISV2, ISR1, ISmR1, et ISS1.

Quant aux isolats ISV1, ISV2, ISS1 et ISmR1, les résultats montrent une variation entre les valeurs d'IC₅₀ pour l'activité catalasique et la capacité de piégeage du DPPH. Pour ISV1, les valeurs d'IC₅₀ pour les deux activités sont relativement proches (0,020 mg/mL pour l'activité catalasique et 0,013 mg/mL pour la capacité de piégeage du DPPH), ce qui suggère une certaine corrélation. De même, pour ISS1 et ISmR1, les valeurs montrent une proximité pour les deux activités, indiquant également une corrélation possible. ISS1 affiche des valeurs

d'IC₅₀ de 0,024 mg/mL pour l'activité catalasique et de 0,026 mg/mL pour la capacité de piégeage du DPPH. Concernant, ISmR1, ces valeurs sont de 0,032 mg/mL et 0,028 mg/mL respectivement (Tableau 10). Des recherches ont corroboré l'association entre l'activité catalasique et la capacité de piégeage du DPPH chez les bactéries. Par exemple, l'étude de Gopi *et al.* (2014) portant sur *Bacillus* sp a également mis en évidence une capacité significative de piégeage du DPPH, avec une IC₅₀ de 0,015 mg/mL, et une IC₅₀ de 0,023 mg/mL pour l'activité catalasique. De même, l'étude d'Asker *et al.* (2015) sur la souche bactérienne *Achromobacter piechaudii* NRC2 a souligné une capacité de piégeage du DPPH, avec une IC₅₀ de 0,17 mg/mL, tandis que l'activité catalasique affichait une IC₅₀ de 0,20 mg/mL. Cependant, pour ISV2, les valeurs d'IC₅₀ sont plus éloignées (0,035 mg/mL pour l'activité catalasique et 0,070 mg/mL pour la capacité de piégeage du DPPH) (Tableau 10), révélant la probabilité d'une absence de corrélation entre ces deux activités pour cet isolat.

D'autre part, l'isolat ISmR2, malgré sa capacité de piégeage du DPPH élevés (IC₅₀ de 0,005 mg/mL) par rapport aux autres isolats restants, il affiche une activité catalasique plus faible avec un IC₅₀ de 0,050 mg/mL (Tableau 10). Par ailleurs, l'isolat ISR1 se distingue par une activité catalasique significative, affichant une valeur d'IC₅₀ de 0,017 mg/mL par rapport aux isolats ISV1, ISV2, ISmR1 et ISmR2. Cependant, cet isolat ISR1 présente une capacité de piégeage du DPPH relativement faible par rapport à la majorité des isolats étudiés ISV1, ISR2, ISmR1, ISmR2, ISS1 et ISS2, avec une valeur d'IC₅₀ de 0,040 mg/mL (Tableau 10). L'étude de Selim *et al.* (2022) sur *Bacillus cereus* a révélé des résultats similaires aux nôtres. En effet, elle a montré une capacité de piégeage du DPPH relativement forte, avec une valeur d'IC₅₀ de 0,5 mg/mL, comparée à l'activité catalasique pour laquelle la valeur d'IC₅₀ était de 1,5 mg/mL.

Les disparités constatées entre nos isolats dans leurs systèmes de défense antioxydants, que ce soit par leur activité catalasique significative, leur capacité de piégeage du DPPH ou les deux simultanément, peuvent être expliquées par divers facteurs ayant un impact substantiel sur le pouvoir antioxydant de chaque isolat. D'une façon générale chez les bactéries, parmi ces facteurs, on compte les conditions et le milieu de culture, la concentration cellulaire, l'état physiologique des cellules, ainsi que l'activité antioxydante intrinsèque, englobant des enzymes telles que la SOD, la GPx, la NADH oxydase, et des molécules comme le glutathion réduit, le NADH, etc (Arasu et Al-Dhabi, 2017). De plus, la présence de molécules dotées de propriétés antioxydantes dans la membrane cellulaire externe peut

également jouer un rôle crucial dans cette diversité d'activités antioxydantes (Bowler et Crapo, 2002).

Conclusion et Perspectives

Notre étude avait comme objectif de rechercher et de comparer des activités antioxydantes chez des bactéries isolées à partir de différents sols. Les isolats ISV1 et ISV2 (sol vierge), les isolats ISR1 et ISR2 (sol d'une zone rhizosphérique), les isolats ISmR1 et ISmR2 (sol situé à 1 mètre d'une zone rhizosphérique) et enfin les isolats ISS1 et ISS2 (une zone rhizosphérique d'un sol salin). Cette recherche d'activité a été effectuée par 3 tests différents : le test de résistance/sensibilité à l' H_2O_2 des isolats bactériens (méthode de diffusion par disques), le test de la recherche de l'activité catalasique et le test de la recherche de capacités de piégeage du DPPH par les surnageants des isolats bactériens.

Les résultats du premier test de résistance/sensibilité à l' H_2O_2 des 8 isolats bactériens ont révélé des profils distincts en fonction des différentes concentrations d' H_2O_2 (25 mM, 50 mM et 100 mM). Les résultats marquants de ce 1^{er} test sont comme suit :

-L'étude révèle l'influence de l'augmentation de la concentration d' H_2O_2 sur la résistance ou la sensibilité de la plupart des isolats bactériens.

-Les isolats ISV1, ISR1, ISR2, ISmR1 et ISmR2 deviennent plus sensibles à des concentrations plus élevées d' H_2O_2 tandis que les isolats ISV2 et ISS1 résistent aux différentes concentrations d' H_2O_2 testés. En revanche, l'isolat ISS2 est sensible à tous les concentrations d' H_2O_2 testés.

-Les isolats les plus résistants sont ISV2 et ISS1, suivis par les isolats ISV1, ISR1, ISR2, ISmR1 et ISmR2, et enfin ISS2, sensible à toutes les concentrations d' H_2O_2 testées.

Pour le test de la recherche de l'activité catalasique, les surnageants des 8 isolats testés présentent une activité catalasique avec des valeurs d'IC50 qui varient entre 0,005 mg/mL et 0,050 mg/mL. Dans un classement décroissant d'activité de dégradation de l' H_2O_2 par les isolats, on observe que l'isolat ISS2 est le plus performant, suivi respectivement par les isolats ISR2, ISR1, ISV1, ISS1, ISmR1, ISV2 et ISmR2.

Pour le test de piégeage du DPPH, les surnageants des 8 isolats testés présentent une activité de piégeage du DPPH, les valeurs des IC50 varient entre 0,002 mg/mL et 0,070 mg/mL. Dans un classement décroissant d'efficacité de piégeage du DPPH par les isolats, on constate que l'isolat ISS2 est le plus performant, suivi respectivement par les isolats ISmR2, ISV1 et ISR2 (ces 2 derniers sont à égalité), ensuite, viennent ISS1, ISmR1, ISR1, et enfin ISV2

Les résultats de l'étude mettent en évidence des variations dans les performances des 8 isolats testés pour leurs activités antioxydantes (pour les 3 tests). Ces résultats soulignent le potentiel significatif des bactéries en tant que source d'activités antioxydantes.

Cette étude initiale sur les activités antioxydantes ouvre la possibilité à plusieurs avenues de recherche et perspectives pour approfondir sa compréhension. Par exemple :

-Études approfondies sur les voies métaboliques chez les bactéries dans la neutralisation des dommages oxydatifs et sur les mécanismes de régulation génétique associés, complétant ainsi la compréhension des mécanismes antioxydants bactériens.

-Exploration approfondie des mécanismes antioxydants bactériens, en se concentrant sur les enzymes spécifiques qui neutralisent les dommages oxydatifs.

-Identification et caractérisation des molécules actives responsables de l'activité antioxydante des bactéries, en utilisant des techniques analytiques avancées.

-Recherche visant à identifier les gènes régulant la production des enzymes antioxydantes, ouvrant ainsi la voie à des applications biotechnologiques ciblées.

Références bibliographiques

- AAT Bioquest, Inc. (2024).** *Quest Graph™ IC50 Calculator*. AAT Bioquest. <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>
- Aboughe Angone, S., Aworet Samseny, RRR, & Eyele Mve Mba, C. (2015).** Some properties of the essential oils of medicinal plants from Gabon. *Phytotherapy*, 13 (5), 283-287.
- Aburjai, T., & Natsheh, F. M. (2003).** Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(9), 987-1000.
- Abushaheen, M. A., Fatani, A. J., Alosaimi, M., Mansy, W., George, M., Acharya, S., ... & Jhugroo, P. (2020).** Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, 66(6), 100971
- Adwas, A. A., Elsayed, A., Azab, A. E., & Quwaydir, F. A. (2019).** Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J. Appl. Biotechnol. Bioeng*, 6(1), 43-47.
- Afify, A. E. M. M., Romeilah, R. M., Sultan, S. I., & Hussein, M. M. (2012).** Antioxidant activity and biological evaluations of probiotic bacteria strains. *International Journal of Academic Research*, 4(6).
- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. (2005).** Oxidative stress and it has consequences in female infertility from the clinician's perspective. *Reproductive Biomedicine Online*, 11(5), 641-650.
- Ahmad S, Beilstein MA & Pardini RS (1989).** Glutathione peroxidase activity in insects: a reassessment. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 12: 31-49
- Akinsanya, M. A., Goh, J. K., Lim, S. P., & Ting, A. S. Y. (2015).** Diversity, antimicrobial and antioxidant activities of culturable bacterial endophyte communities in *Aloe vera*. *FEMS microbiology letters*, 362(23), fnv184.
- Alamzeb, M., Khan, B., Ullah, I., Omer, M., & Rauf, A. (2023).** Natural Antioxidants: An Update.

AlFadhly, N. K., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., Cacciola, F., & Narayanankutty, A. (2022). Trends and technological advancements in the possible food applications of Spirulina and their health benefits: A Review. *Molecules*, 27(17), 5584.

Alves, R., et Alves, H. N. (2011). The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 7(1), 1-43.

Amariei, G., Kokol, V., Boltes, K., Letón, P. and Rosal, R. (2018). Incorporation of antimicrobial peptides onto electrospun nanofibers for biomedical applications. *RSC Advances*, 8 (49), 28013-28023.

Amaya-Gómez, C. V., Porcel, M., Mesa-Garriga, L., & Gómez-Álvarez, M. I. (2020). A framework for the selection of plant growth-promoting rhizobacteria based on bacterial competence mechanisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(14), e00760-20.

Andrews, J. M. (2006). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 5). *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 58(3), 511-529.

Anjum, K., Abbas, S. Q., Shah, S. A. A., Akhter, N., Batool, S., & Hassan, S. S. U. (2016). Marine sponges as a drug treasure. *Biomol. Ther.(Seoul)*, 24 (4): 347–362.

Arasu, M. V., & Al-Dhabi, N. A. (2017). In vitro antifungal, probiotic, and antioxidant functional properties of a novel *Lactobacillus paraplantarum* isolated from fermented dates in Saudi Arabia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5287-5295.

Asker, M., Mahmoud, M. G., Ibrahim, A. Y., & Mohamed, S. S. (2015). Inhibitory effect of exopolysaccharide from *Achromobacter piechaudii* NRC2 against cyclooxygenases and acetylcholinesterase with evaluation of its antioxidant properties and structure elucidation. *Der Pharmacia Lettre*, 7, 129-141.

Ayadi, J., Debouba, M., Rahmani, R., & Bouajila, J. (2022). Brassica genus seeds: A review on phytochemical screening and pharmacological properties. *Molecules*, 27(18), 6008.

Aziz, M., & Karboune, S. (2018). Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(3), 486-511

Banel, D. K., & Hu, F. B. (2009). Effects of walnut consumption on blood lipids and other cardiovascular risk factors: a meta-analysis and systematic review. *The American journal of clinical nutrition*, 90(1), 56-63.

Banik, S. P., Pal, S., Ghorai, S., Chowdhury, S., & Khowala, S. (2009). Interference of sugars in the Coomassie Blue G dye binding assay of proteins. *Analytical biochemistry*, 386(1), 113-115.

Bansal, S., Choudhary, S., Sharma, M., Kumar, S. S., Lohan, S., Bhardwaj, V., ... & Jyoti, S. (2013). Tea: a native source of antimicrobial agents. *Food research international*, 53(2), 568-584.

Barnes, P. J. (1998). Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical science*, 94(6), 557-572

Bartlett, J. G., & Gerding, D. N. (2008). Clinical recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Clinical infectious diseases*, 46(Supplement_1), S12-S18.

Bengone-Ndong, T., & Alvinerie, M. (2004). Antiparasitic macrolides: general pharmacological properties and recommendations for use in the African veterinary context. *Journal of Livestock and Veterinary Medicine of Tropical Countries*, 57 (1-2), 49-58.

Benoit, S. L., & Maier, R. J. (2016). Helicobacter Catalase Devoid of Catalytic Activity Protects the Bacterium against Oxidative Stress*♦. *Journal of Biological Chemistry*, 291(45), 23366-23373.

Bible, K. C., Boerner, S. A., & Kaufmann, S. H. (1999). A one-step method for protein estimation in biological samples: nitration of tyrosine in nitric acid. *Analytical biochemistry*, 267(1), 217-221.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19.

Blain, H., Jouzeau, JY, Netter, P., & Jeandel, C. (2000). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, selective inhibitors of cyclooxygenase 2. Interest and perspectives. *The Journal of Internal Medicine* , 21 (11), 978-988.

Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H., & Prinsep, M. R. (2015). Marine natural products. *Natural Product Reports*, 32(2), 116-211

Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., ... & Watzl, B. (2012). Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European journal of nutrition* , 51 , 637-663.

Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. L. W. T. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30(6), 609-615.

Bourafai-Aziez, A., Jacob, D., Charpentier, G., Cassin, E., Rousselot, G., Moing, A., & Deborde, C. (2022). Development, Validation, and Use of 1H-NMR Spectroscopy for Evaluating the Quality of Acerola-Based Food Supplements and Quantifying Ascorbic Acid. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(17), 5614

Bowler, R. P., & Crapo, J. D. (2002). Oxidative stress in airways: is there a role for extracellular superoxide dismutase?. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 166(supplement_1), S38-S43.

Boyle, M., Chun, C., Strojny, C., Narayanan, R., Bartholomew, A., Sundivakkam, P., & Alapati, S. (2014). Chronic inflammation and angiogenic signaling axis impairs differentiation of dental-pulp stem cells. *PLoS One*, 9(11), e113419.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21(7), 901.

Brieger, K., Schiavone, S., Miller Jr, F. J., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss medical weekly*, 142(3334), w13659-w13659.

Brudzynski, K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian journal of microbiology*, 52(12), 1228-1237.

Brudzynski, K. (2006). Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian journal of microbiology*, 52(12), 1228-1237.

Bučková, M., Godočiková, J., Zámocký, M., & Polek, B. (2010). Screening of bacterial isolates from polluted soils exhibiting catalase and peroxidase activity and diversity of their responses to oxidative stress. *Current microbiology*, 61, 241-247.

Bunaciu, A. A., Danet, A. F., Fleschin, Ş., & Aboul-Enein, H. Y. (2016). Recent applications for in vitro antioxidant activity assay. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(5), 389-399.

Cabanis, EA (2007). The National Institutes of Health (NIH), a global model for biomedical research, and their director, Professor Elias A. Zerhouni. *Science*, 4 (4th).

Carlsen, MH, Halvorsen, BL, Holte, K., Bøhn, SK, Dragland, S., Sampson, L., ... & Blomhoff, R. (2010). The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutrition journal*, 9, 1-11.

Carocho, M., & Ferreira, I. C. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, 51, 15-25.

Cauz, A. C., Carretero, G. P., Saraiva, G. K., Park, P., Mortara, L., Cuccovia, I. M., ... & Gueiros-Filho, F. J. (2019). Violacein targets the cytoplasmic membrane of bacteria. *ACS infectious diseases*, 5(4), 539-549.

Chandna, S., Dwarakanath, B. S., Seth, R. K., Khaitan, D., Adhikari, J. S., & Jain, V. (2004). Radiation responses of Sf9, a highly radioresistant lepidopteran insect cell line. *International journal of radiation biology*, 80(4), 301-315

Charlier, C. and Michaux, C. (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a novel strategy to provide safer nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38 (7-8), 645-659.

Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61, 192-208.

Cheung, RCF, Ng, TB, Wong, JH, Chen, Y., & Chan, WY (2016). Marine natural products with anti-inflammatory activity. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 1645-1666.

Clements, M. O., Watson, S. P., & Foster, S. J. (1999). Characterization of the major superoxide dismutase of *Staphylococcus aureus* and its role in starvation survival, stress resistance, and pathogenicity. *Journal of bacteriology*, 181(13), 3898-3903

Cueva, C., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J., Bills, G., Vicente, M. F., Basilio, A., ... & Bartolomé, B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in microbiology*, 161(5), 372-382.

Cutler, R. G. (1991). Antioxidants and aging. *The American journal of clinical nutrition*, 53(1), 373S-379S.

Da Cruz Nizer, W. S., Inkovskiy, V., Versey, Z., Strempele, N., Cassol, E., & Overhage, J. (2021). Oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens*, 10(9), 1187.

Davey, M. W., Montagu, M. V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., ... & Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 825-860.

Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., & Baraniak, B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT-Food Science and Technology*, 39(3), 308-315.

De Castro, I., Mendo, S., & Caetano, T. (2020). Antibiotics from haloarchaea: what can we learn from comparative genomics?. *Marine biotechnology*, 22(2), 308-316.

Decker, E. A., Faustman, C., & Lopez-Bote, C. J. (2000). *Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality*. John Wiley & Sons.

Demain, A. L., & Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress. *The Journal of antibiotics*, 62(1), 5-16.

Devasagayam, P. A., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects JAPI: Vol. 52.

Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in food science & technology*, 17(9), 505-512.

Doke, N. (1983). Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiological plant pathology*, 23(3), 345-357.

Durand, D., Damon, M., & Gobert, M. (2013). Oxidative stress in livestock: general principles. *Notebooks of Nutrition and Dietetics*, 48 (5), 218-224.

Duthie, S. J., Duthie, G. G., Russell, W. R., Kyle, J. A., Macdiarmid, J. I., Rungapamestry, V., ... & Bestwick, C. S. (2018). Effect of increasing fruit and vegetable intake by dietary intervention on nutritional biomarkers and attitudes to dietary change: a randomised trial. *European journal of nutrition*, 57, 1855-1872.

Dwyer, D. J., Kohanski, M. A., & Collins, J. J. (2009). Role of reactive oxygen species in antibiotic action and resistance. *Current opinion in microbiology*, 12(5), 482-489.

Ekiert, H. M., & Szopa, A. (2022). Biological activities of natural products II. *Molecules*, 27(5), 1519.

Elshafie, HS, Camele, I., & Mohamed, AA (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International journal of molecular sciences*, 24 (4), 3266.

Elufisan, T. O., Oyedara, O. O., & Oyelade, B. (2012). Updates on microbial resistance to drugs. *Afr. J. Microbiol. Res*, 6(23), 4833-4844.

Embuscado, M. E. (2015). Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. *Journal of functional foods*, *18*, 811-819.

Ezraty, B., Gennaris, A., Barras, F., & Collet, J. F. (2017). Oxidative stress, protein damage and repair in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, *15*(7), 385-396.

Fathoni, A., Putri, A. L., Wulansari, D., & Agusta, A. (2023). Biological potency of actinomycetes extracts from rhizosphere soil of *Dacrycarpus imbricatus* from Toba Samosir, North Sumatra. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *13*(6), 146-153.

Feehan, K. T., & Gilroy, D. W. (2019). Is solving the end of inflammation? Trends in molecular medicine, *25* (3), 198-214.

Finance, C., Ouhdouch, Y., Jaques, A., & Bonaly, R. (1985). New substances with antifungal action produced by strains of actinomycetales isolated from natural environments. *Ann Biol Clin (Paris)*, *43* , 652.

Finkel, T. (2011). Signal transduction by reactive oxygen species. *Journal of Cell Biology*, *194*(1), 7-15.

Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, *14*(15), 4135.

Fofana, M., Chariot, J., Souchard, M., & Rozé, C. (1981). Influence of sound on the exocrine pancreas in rats. *Reproduction Nutrition Development*, *21* (5B), 810-810.

Foti, M. C. (2015). Use and Abuse of the DPPH• Radical. *Journal of agricultural and food chemistry*, *63*(40), 8765-8776.

Fubini, B., & Hubbard, A. (2003). Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free radical Biology and medicine*, *34*(12), 1507-1516.

Fujii, J., Osaki, T., & Bo, T. (2022). Ascorbate Is a Primary Antioxidant in Mammals. *Molecules*, *27*(19), 6187.

Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., ... & Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature medicine*, 25(12), 1822-1832.

Garcia, F., Villegas, E., Espino-Solis, GP, Rodriguez, A., Paniagua-Solis, JF, Sandoval-Lopez, G., ... & Corzo, G. (2013). Antimicrobial peptides from arachnid venoms and their microbicidal activity in the presence of commercial antibiotics. *The Journal of antibiotics*, 66 (1), 3-10.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Reactive oxygen species. *Chemical news*, 91.

Gautam, R. K., Kakatkar, A. S., Mishra, P. K., Kumar, V., & Chatterjee, S. (2023). Marine peptides: potential applications as natural antioxidants. In *Marine Antioxidants* (pp. 395-408). Academic Press.

Gerna, D., Roach, T., Mitter, B., Stögl, W., & Kranner, I. (2020). Hydrogen peroxide metabolism in interkingdom interaction between bacteria and wheat seeds and seedlings. *Molecular plant-microbe interactions*, 33(2), 336-348.

Giani, M., Garbayo, I., Vilchez, C., & Martínez-Espinosa, R. M. (2019). Haloarchaeal carotenoids: healthy novel compounds from extreme environments. *Marine drugs*, 17(9), 524.

Goldberg, E., Amir, I., Zafran, M., Gophna, U., Samra, Z., Pitlik, S., & Bishara, J. (2014). The correlation between *Clostridium-difficile* infection and human gut concentrations of Bacteroidetes phylum and clostridial species. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 33, 377-383.

Golden, J. M., Escobar, O. H., Nguyen, M. V., Mallicote, M. U., Kavarian, P., Frey, M. R., & Gayer, C. P. (2018). Ursodeoxycholic acid protects against intestinal barrier breakdown by promoting enterocyte migration via EGFR-and COX-2-dependent mechanisms. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 315(2), G259-G271

Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2007). Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. *Food Chemistry*, 100(1), 36-42.

Gopi, M., Dhayanithi, N. B., Devi, K. N., & Kumar, T. T. A. (2014). Marine natural product, Pyrrolo [-a] pyrazine-dione, hexahydro-(C₇H₁₀N₂O₂) of antioxidant properties from *Bacillus* species at Lakshadweep archipelago. *J. Coastal Life Med*, 2, 632-637.

Goschorska, M., Gutowska, I., Baranowska-Bosiacka, I., Barczak, K., & Chlubek, D. (2020). The use of antioxidants in the treatment of migraine. *Antioxidants*, 9(2), 116.

Greenberg, J. T., & Demple, B. (1988). Overproduction of peroxide-scavenging enzymes in *Escherichia coli* suppresses spontaneous mutagenesis and sensitivity to redox-cycling agents in oxyR-mutants. *The EMBO Journal*, 7(8), 2611-2617.

Grkovic, T., Akee, R. K., Thornburg, C. C., Trinh, S. K., Britt, J. R., Harris, M. J., ... & O'Keefe, B. R. (2020). National Cancer Institute (NCI) program for natural products discovery: Rapid isolation and identification of biologically active natural products from the NCI prefractionated library. *ACS chemical biology*, 15(4), 1104-1114.

Guilhelmelli, F., Vilela, N., Albuquerque, P., Derengowski, L., Silva-Pereira, I., & Kyaw, C. (2013). Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Frontiers in microbiology*, 4, 71808.

Guzmã, L., Ramirez, B. S., Maribel, C. F., Pescador, M. G. N., & Cruz, F. J. M. (2018). Low accuracy of the McFarland method for estimation of bacterial populations. *African Journal of Microbiology Research*, 12(31), 736-740.

Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food control*, 46, 412-429. 076.

Hajhashemi, V., Vaseghi, G., Pourfarzam, M., & Abdollahi, A. (2010). Are antioxidants helpful for disease prevention?. *Research in pharmaceutical sciences*, 5(1), 1.

Hakkouni, A. E., & Mansouri, N. (2018). Invasive pulmonary aspergillosis in an immunocompromised HIV-positive patient. *The Pan African Medical Journal*, 31, 40.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Oxidative stress. *Liège Medical Review*, 62(10).

Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., ... & Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of nutrition*, 132(3), 461-471.

Hameed, A., Hussain, S. A., Yang, J., Ijaz, M. U., Liu, Q., Suleria, H. A. R., & Song, Y. (2017). Antioxidants potential of the filamentous fungi (*Mucor circinelloides*). *Nutrients*, 9(10), 1101.

Harris, D.C. (2010). *Quantitative chemical analysis*. Macmillan.

Harrison, P. L., Abdel-Rahman, M. A., Miller, K., & Strong, P. N. (2014). Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon*, 88, 115-137.

Hartmann, T. (1996). Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80(1), 177-188.

He, H. L., Liu, D., & Ma, C. B. (2013). Review on the angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitor peptides from marine proteins. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169, 738-749.

Hernández-Almanza, A., Ramírez-Guzman, N., Martínez-Medina, G. A., Loredó-Treviño, A., Verma, D. K., & Aguilar, C. N. (2021). Microorganisms as a Potential Source of Antioxidants. *Bioprospecting of Microorganism-Based Industrial Molecules*, 225-241.

Hink, U., Li, H., Mollnau, H., Oelze, M., Matheis, E., Hartmann, M., ... & Munzel, T. (2001). Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation research*, 88(2), e14-e22.

Hounsome, N., & Hounsome, B. (2011). Biochemistry of vegetables: major classes of primary (carbohydrates, amino acids, fatty acids, vitamins, and organic acids) and secondary metabolites (terpenoids, phenolics, alkaloids, and sulfur-containing compounds) in vegetables. *Handbook of vegetables and vegetable processing*, 23-58.

Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*, 15(1), 1-23.

Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.

Inotai, A., Hankó, B., & Mészáros, Á. (2010). Trends in the non-steroidal anti-inflammatory drug market in six Central–Eastern European countries based on retail information. *Pharmacoepidemiology and drug safety*, 19(2), 183-190.

Ismaili, R., Houbairi, S., Sanâa, L., Khadija, M., & Abdeslam, L. (2017). Study of the antioxidant activity of essential oils from Moroccan aromatic and medicinal plants. *European Scientific Journal, ESJ* , 13 (12), 323.

Jaganjac, M., Sredoja Tisma, V., & Zarkovic, N. (2021). Short overview of some assays for the measurement of antioxidant activity of natural products and their relevance in dermatology. *Molecules*, 26(17), 5301.

Jahnavi, K., Reddy, P.P., Vasudha, B., and Narender, B. (2019). Nonsteroidal anti-inflammatories: an overview. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(1-s), 442-448.

James, R. A., Blake, C., Byrt, C. S., & Munns, R. (2011). Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1; 4 and HKT1; 5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of experimental botany*, 62(8), 2939-2947.

Jara-Gutiérrez, Á., & Baladrón, V. (2021). The Role of Prostaglandins in Different Types of Cancer. *Cells*, 10(6), 1487

Jaszek, M., Janczarek, M., Kuczyński, K., Piersiak, T., & Grzywnowicz, K. (2014). The response of the *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* wild-type and exopolysaccharide-deficient mutants to oxidative stress. *Plant and soil*, 376, 75-94.

Jia, Z., Dumont, M. J., & Orsat, V. (2016). Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*, 15, 87-104.

Jiang, J., & Xiong, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat science*, 120, 107-117.

Jideani, A. I., Silungwe, H., Takalani, T., Omolola, A. O., Udeh, H. O., & Anyasi, T. A. (2021). Antioxidant-rich natural fruit and vegetable products and human health. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 41-67.

Jilo, K. (2016). Medicinal values of camel milk. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 2(1), 018-025.

Jones, I. A., & Joshi, L. T. (2021). Biocide use in the antimicrobial era: a review. *Molecules*, 26(8), 2276

Kapoor, S., Nailwal, N., Kumar, M., & Barve, K. (2019). Recent patents and discovery of anti-inflammatory agents from marine source. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 13(2), 105-114.

Kibel, A., Lukinac, A. M., Dambic, V., Juric, I., & Selthofer-Relatic, K. (2020). Oxidative stress in ischemic heart disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.

Kielkopf, C. L., Bauer, W., & Urbatsch, I. L. (2020). Bradford assay for determining protein concentration. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2020(4), pdb-prot102269.

King, K. Y., Horenstein, J. A., & Caparon, M. G. (2000). Aerotolerance and peroxide resistance in peroxidase and PerR mutants of *Streptococcus pyogenes*. *Journal of bacteriology*, 182(19), 5290-5299.

King, L. M., Fleming-Dutra, K. E., & Hicks, L. A. (2018). Advances in optimizing the prescription of antibiotics in outpatient settings. *Bmj*, 363.

Kisiel, A., & Miller, T. (2023). Oxidative status of *Medicago truncatula* seedlings after inoculation with rhizobacteria of the genus *Pseudomonas*, *Paenibacillus* and *Sinorhizobium*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4781.

Knoet, C. J., Khatri, Y., Hohlman, R. M., Sherman, D. H., & Pakrasi, H. B. (2019). Engineered Production of Hapalindole Alkaloids in the Cyanobacterium *Synechococcus* sp. UTEX 2973. *ACS synthetic biology*, 8(8), 1941–1951.

Konan, FK, Guessennd, NK, Oussou, KR, Bahi, C., Coulibaly, A., Djaman, AJ, & Dosso, M. (2014). Antibacterial effect of the aqueous extract of the bark of *Terminalia glaucescens* Planch ex Benth (Combretaceae) on the in vitro growth of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria (EBLSE). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* , 8 (3), 1192-1201.

Kouadio, N. J., Kone, M. W., Guessennd, N. K., Konan, K. F., Moussa, B., Yao, K., ... & Dosso, M. (2017). Evaluation of the antibacterial activity of leaves *Spondias mombin* L.(Anacardiaceae) on the in vitro growth of producing Enterobacteriaceae of beta-

lactamases at extended spectrum (ESBL) strains and phytochemical screening. *IJIAS.*, 20, 431-40.

Kovačeva, J., Platenik, J., Vejražka, M., Štípek, S., Ardan, T., Čejka, Č., ... & Čejková, J. (2007). Differences in activities of antioxidant superoxide dismutase, glutathione peroxidase and prooxidant xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in the normal corneal epithelium of various mammals. *Physiological research*, 56(1).

Kumar, R., Clermont, G., Vodovotz, Y., & Chow, C. C. (2004). The dynamics of acute inflammation. *Journal of theoretical biology*, 230(2), 145-155.

Kuper, K. M., Boles, D. M., Mohr, J. F., & Wanger, A. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a primer for clinicians. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 29(11), 1326-1343.

Kurjogi, M. M., Sanakal, R. D., & Kaliwal, B. B. (2010). Antibiotic susceptibility and antioxidant activity of *Staphylococcus aureus* pigment staphyloxanthin on carbon tetrachloride (ccl4) induced stress in swiss albino mice. *Int J Biotechnol Appl*, 2(2), 33-40.

Kuzmanovski, I., Wagner, A., & Novič, M. (2015). Development of models for prediction of the antioxidant activity of derivatives of natural compounds. *Analytica chimica acta*, 868, 23-35.

Larsen, P., & Ahmed, M. (2022). Evaluation of Biological Activities and Medicinal Properties of Honey Drops and Honey Lozenges. *Nutrients*, 14(22), 4738.

Lee, D. R., Lee, S. K., Choi, B. K., Cheng, J., Lee, Y. S., Yang, S. H., & Suh, J. W. (2014). Antioxidant activity and free radical scavenging activities of *Streptomyces* sp. strain MJM 10778. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7(12), 962-967.

Lee, H. S., Kim, M. R., Park, Y., Park, H. J., Chang, U. J., Kim, S. Y., & Suh, H. J. (2012). Fermenting red ginseng enhances its safety and efficacy as a novel skin care anti-aging ingredient: in vitro and animal study. *Journal of Medicinal Food*, 15(11), 1015-1023.

Leitch, A. E., Duffin, R., Haslett, C., & Rossi, A. G. (2008). Relevance of granulocyte apoptosis to resolution of inflammation at the respiratory mucosa. *Mucosal immunology*, 1(5), 350-363.

Lertcanawanichakul, M., Pondet, K., & Kwantep, J. (2015). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of bioactive compounds (secondary metabolites) extracted from *Streptomyces lydicus* A2. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(2), 017-021.

Li, J., Liu, J., Wang, G., Cha, J. Y., Li, G., Chen, S., ... & Guo, Y. (2015). A chaperone function of NO CATALASE ACTIVITY1 is required to maintain catalase activity and for multiple stress responses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 27(3), 908-925.

Li, R., Jia, Z., & Trush, M. A. (2016). Defining ROS in biology and medicine. *Reactive oxygen species* (Apex, NC), 1(1), 9.

Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., ... & Wang, Q. (2012). Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food chemistry*, 135(3), 1914-1919.

Lima, A. S., & Alvim, H. G. O. (2018). Review on non-steroid antiinflammatory: Acetylsalicylic acid. *Rev. Inic. Ciente. Ext*, 1, 169-174.

Lima, T. B., Pinto, M. F. S., Ribeiro, S. M., de Lima, L. A., Viana, J. C., Júnior, N. G., ... & Franco, O. L. (2013). Bacterial resistance mechanism: what proteomics can elucidate. *The FASEB Journal*, 27(4), 1291-1303.

Liu, C. H., Abrams, N. D., Carrick, D. M., Chander, P., Dwyer, J., Hamlet, M. R., ... & Vedamony, M. M. (2017). Biomarkers of chronic inflammation in disease development and prevention: challenges and opportunities. *Nature immunology*, 18(11), 1175-1180.

Liu, Y. S., Geng, J. C., Sha, X. Y., Zhao, Y. X., Hu, T. M., & Yang, P. Z. (2019). Effect of rhizobium symbiosis on low-temperature tolerance and antioxidant response in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 10, 538.

Liu, YZ, Wang, YX, & Jiang, CL (2017). Inflammation: the common pathway to stress-related illness. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 273283.

Lizama, C., Romero-Parra, J., Andrade, D., Riveros, F., Bórquez, J., Ahmed, S., ... & Simirgiotis, MJ (2021). Analysis of carotenoids in haloarchaea species from atacama saline lakes by high resolution uhplc-q-orbitrap-mass spectrometry: Antioxidant potential and biological effect on cell viability. *Antioxidants*, 10 (8), 1230.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.

Loewen, P. C. (1984). Isolation of catalase-deficient *Escherichia coli* mutants and genetic mapping of *katE*, a locus that affects catalase activity. *Journal of Bacteriology*, 157(2), 622-626.

Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M., & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. *Molecules*, 24(22), 4132.

Lowe, S. E., Jain, M. K., & Zeikus, J. G. (1993). Biology, ecology, and biotechnological applications of anaerobic bacteria adapted to environmental stresses in temperature, pH, salinity, or substrates. *Microbiological reviews*, 57(2), 451-509.

Luberda, Z. (2005). The role of glutathione in mammalian gametes. *Reprod Biol*, 5(1), 5-17.

Manilal, V. B. (2019). Response of anaerobic protozoa to oxygen tension in anaerobic system. *International Microbiology*, 22, 355-361.

Marino, D., Pucciariello, C., Puppo, A., & Frendo, P. (2009). The redox state, a referee of the legume–rhizobia symbiotic game. *Advances in Botanical research*, 52, 115-151.

Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771-776.

Mehdy, M. C. (1994). Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant physiology*, 105(2), 467.

Méndez, V., Rodríguez-Castro, L., Durán, R. E., Padrón, G., & Seeger, M. (2022). The OxyR and SoxR transcriptional regulators are involved in a broad oxidative stress response in *Paraburkholderia xenovorans* LB400. *Biological Research*, 55(1), 7.

Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.

Mishra, V., Shah, C., Mokashe, N., Chavan, R., Yadav, H., & Prajapati, J. (2015). Probiotics as potential antioxidants: a systematic review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(14), 3615-3626.

Morens, D. M., Folkers, G. K., & Fauci, A. S. (2004). The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, 430(6996), 242-249.

Morone, J., Lopes, G., Morais, J., Neves, J., Vasconcelos, V. and Martins, R. (2022). Cosmetic application of cyanobacteria extracts with sustainable vision to skin care: Role in antioxidant and anti-aging process. *Marine Drugs*, 20(12), 761.

Munteanu, I. G., et Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.

Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Bacterial resistance to antibiotics, the mechanisms and their "contagiousness". In *Annals of Veterinary Medicine (Vol. 156)*. ULg-University of Liège, Liège, Belgium.

Narayana, J. L., & Chen, J. Y. (2015). Antimicrobial peptides: possible anti-infective agents. *Peptides*, 72, 88-94.

Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: issues of effectiveness, stability and safety for food application. *International Journal of Food Microbiology*, 156 (1), 7-17.

Nenadis, N., & Tsimidou, M. (2002). Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH•) tests. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 1191-1195.

Nevozhay, D. (2014). Cheburator software for automatically calculating drug inhibitory concentrations from in vitro screening assays. *PLoS One*, 9(9), e106186.

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of natural products*, 83(3), 770-803.

Newman, D. J., Cragg, G. M., & Snader, K. M. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. *Natural product reports*, 17(3), 215-234.

Olatunde, O. O., & Benjakul, S. (2022). Antioxidants from crustaceans: A panacea for lipid oxidation in marine-based foods. *Food Reviews International*, 38(1), 1-31.

Otlewska, A., Migliore, M., Dybka-Stępień, K., Manfredini, A., Struszczyk-Świta, K., Napoli, R., ... & Pinzari, F. (2020). When salt meddles between plant, soil, and microorganisms. *Frontiers in plant science*, 11, 553087.

Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2018). Chronic inflammation.

Park, S., Shin, Y., & Jung, S. (2024). Structural, rheological properties and antioxidant activities analysis of the exopolysaccharide produced by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* VF39. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257, 128811.

Park, Y. S., You, S. Y., Cho, S., Jeon, H. J., Lee, S., Cho, D. H., ... & Oh, J. S. (2016). Eccentric localization of catalase to protect chromosomes from oxidative damages during meiotic maturation in mouse oocytes. *Histochemistry and cell biology*, 146, 281-288.

Pashirova, T. N., Lukashenko, S. S., Zakharov, S. V., Voloshina, A. D., Zhiltsova, E. P., Zobov, V. V., ... & Zakharova, L. Y. (2015). Self-assembling systems based on quaternized derivatives of 1, 4-diazabicyclo [2.2. 2] octane in nutrient broth as antimicrobial agents and carriers for hydrophobic drugs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 127, 266-273.

Peršin, Z., Kleinschek, K. S., & Mozetič, M. (2014). The effects of storage gases on the durability of ammonia plasma effects with respect to wound fluid absorption and the biostatic activity of viscose non-wovens. *Textile research journal*, 84(7), 751-763.

Petrou, A. L., Petrou, P. L., Ntanos, T., & Liapis, A. (2018). A possible role for singlet oxygen in the degradation of various antioxidants. A meta-analysis and review of literature data. *Antioxidants*, 7(3), 35.

Pham, J. V., Yilma, M. A., Feliz, A., Majid, M. T., Maffetone, N., Walker, J. R., ... & Yoon, Y. J. (2019). A review of the microbial production of bioactive natural products and biologics. *Frontiers in microbiology*, 10, 449147.

Philibert, T., Rao, Z., Yang, T., Zhou, J., Huang, G., Irene, K., & Samuel, N. (2016). Heterologous expression and characterization of a new heme-catalase in *Bacillus subtilis* 168. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43(6), 729-740.

Pichard, E. (2002). MalinTrop Afrique: handbook of infectious diseases for Africa . John Libbey Eurotext.

Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants?. *European*

Pollard, K.M. (2016). Silica, silicosis and autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, 7, 186157.

Poprac, P.; Jomova, K.; Simunkova, M.; Kollar, V.; Rhodes, Chief Justice; Valko, M. Target (2017). Free radicals in human diseases linked to oxidative stress. *Pharmacol Trends. Sci.* , 38, 592-607

Pourzand, C., & Tyrrell, R. M. (1999). INVITED REVIEW-Apoptosis, the role of oxidative stress and the example of solar UV radiation. *Photochemistry and photobiology*, 70(4), 380-390.

Praptiwi, P., Fathoni, A., Putri, A. L., Wulansari, D., & Agusta, A. (2019). Assessment of actinomycetes isolated from soils on Simeuleu Island as antibacterial and antioxidant. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2120, No. 1). AIP Publishing.

Radha, M. H., & Laxmipriya, N. P. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloeávera: áAásystematic review. *Journal of traditional and complementary medicine*, 5(1), 21-26.

Rani, A., Saini, K. C., Bast, F., Mehariya, S., Bhatia, S. K., Lavecchia, R., and Zuorro, A. (2021). Microorganisms: A Potential Source of Bioactive Molecules for Antioxidant Applications. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(4), 1142

Ravula, A. R., & Yenugu, S. (2021). Pyrethroid based pesticides—chemical and biological aspects. *Critical Reviews in Toxicology*, 51(2), 117-140.

Reelfs, O., M Eggleston, I., & Pourzand, C. (2010). Skin protection against UVA-induced iron damage by multiantioxidants and iron chelating drugs/prodrugs. *Current drug metabolism*, 11(3), 242-249.

Reinmuth-Selzle, K., Tchipilov, T., Backes, A. T., Tscheuschner, G., Tang, K., Ziegler, K., ... & Weller, M. G. (2022). Determination of the protein content of complex

samples by aromatic amino acid analysis, liquid chromatography-UV absorbance, and colorimetry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 414(15), 4457-4470.

Reis, F. S., Martins, A., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food and chemical toxicology*, 50(5), 1201-1207.

Riahi, K., Hosni, K., Raies, A., & Oliveira, R. (2019). Unique secondary metabolites of a *Streptomyces* strain isolated from extreme salty wetland show antioxidant and antibacterial activities. *Journal of applied microbiology*, 127(6), 1727-1740.

Rice-Evans, C., & Miller, N. J. (1995). Antioxidants—the case for fruit and vegetables in the diet. *British food journal*, 97(9), 35-40.

Rios, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84.

Rivas-Garcia, T., Murillo-Amador, B., Reyes-Pérez, J. J., Chiquito-Contreras, R. G., Preciado-Rangel, P., Ávila-Quezada, G. D., ... & Hernandez-Montiel, L. G. (2022). *Debaryomyces hansenii*, *Stenotrophomonas rhizophila*, and *ulvan* as biocontrol agents of fruit rot disease in muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Plants*, 11(2), 184.

Rodrigues, A. C., Bonifacio, A., Antunes, J. E. L., da Silveira, J. A. G., & Figueiredo, M. D. V. B. (2013). Minimization of oxidative stress in cowpea nodules by the interrelationship between *Bradyrhizobium* sp. and plant growth-promoting bacteria. *Applied soil ecology*, 64, 245-251.

Rodríguez-Sánchez, I. J., Fuenmayor, C. A., Clavijo-Grimaldo, D., & Zuluaga-Domínguez, C. M. (2021). Electrospinning of ultra-thin membranes with incorporation of antimicrobial agents for applications in active packaging: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 70(15), 1053-1076.

Rohith, HS, et Halami, P. M. (2021). The combined effect of potential probiotic *Bacillus licheniformis* MCC 2514 and *Bifidobacterium breve* NCIM 5671 towards anti-inflammatory activity on HT-29 cell lines. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-12

Rosengren, LB, Gow, SP, & Weese, JS (2010). Antimicrobial use and resistance in pigs and chickens: A review of the science, policy and control practices from farm to slaughter—executive summary. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 21, 123-124.

Rozema, J., & Flowers, T. (2008). Crops for a salinized world. *Science*, 322(5907), 1478-1480

Ruan, Y., Jiang, S., Musayeva, A., and Gericke, A. (2020). Oxidative stress and retinal vascular dysfunction: therapeutic strategies. *Antioxidants*, 9(8), 761.

Saga, T., & Yamaguchi, K. (2009). History of antimicrobial agents and resistant bacteria. *Jmaj*, 52(2), 103-108.

Samy, R. P., Stiles, B. G., Franco, O. L., Sethi, G., & Lim, L. H. (2017). Animal venoms as antimicrobial agents. *Biochemical pharmacology*, 134, 127-138.

Savill, J. S., Wyllie, A. H., Henson, J. E., Walport, M. J., Henson, P. M., & Haslett, C. (1989). Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation. Programmed cell death in the neutrophil leads to its recognition by macrophages. *The Journal of clinical investigation*, 83(3), 865-875. Xu, H.,

Schlechte, J., Zucoloto, A. Z., Yu, I. L., Doig, C. J., Dunbar, M. J., McCoy, K. D., & McDonald, B. (2023). Dysbiosis of a microbiota-immune metasytem in critical illness is associated with nosocomial infections. *Nature Medicine*, 29(4), 1017-1027.

Selim, S., Almuhayawi, MS, Alharbi, MT, Nagshabandi, MK, Alanazi, A., Warrad, M., ... et Ali, AS (2022). Évaluation in vitro des antistaphylocoques, caractérisation antitumorale, immunologique et structurale des exopolysaccharides bioactifs acides de *Bacillus cereus* marin isolé d'Arabie Saoudite. *Métabolites*, 12 (2), 132

Sen, A., et Imlay, J. A. (2021). How microbes defend themselves from incoming hydrogen peroxide. *Frontiers in immunology*, 12, 667343.

Serino, I., Squillaci, G., Errichiello, S., Carbone, V., Baraldi, L., La Cara, F., & Morana, A. (2023). Antioxidant capacity of carotenoid extracts from the Haloarchaeon *Halorhabdus utahensis*. *Antioxidants*, 12(10), 1840.

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2008). Bioactive peptides. *Journal of AOAC international*, 91(4), 914-931.

Sharma, S., Kumar, D., Singh, G., Monga, V., & Kumar, B. (2020). Recent advancements in the development of heterocyclic anti-inflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 200, 112438.

Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., & Yehoshua, Y. (2013). Natural antioxidants: function and sources.

Sheng, Y., Abreu, I. A., Cabelli, D. E., Maroney, M. J., Miller, A. F., Teixeira, M., & Valentine, J. S. (2014). Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chemical reviews*, 114(7), 3854-3918.

Siddiqui, A.A., Iram, F., Siddiqui, S., and Sahu, K. (2014). Role of natural products in the drug discovery process. *Int J Drug Dev Res*, 6 (2), 172-204.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox biology*, 4, 180-183.

Sikora, E., Cieřlik, E., & Topolska, K. (2008). The sources of natural antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(1), 5-17.

Singh, M., Kumar, A., Singh, R., & Pandey, K. D. (2017). Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *3 Biotech*, 7, 1-14.

Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018). Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, 34(7), 795-800.

Sivamaruthi, B. S., Chaiyasut, C., & Kesika, P. (2018). Cosmeceutical importance of fermented plant extracts: A short review. *Int. J. Appl. Pharm*, 10, 31-34.

Smejkal, G. B., & Kakumanu, S. (2019). Enzymes and their turnover numbers. *Expert Review of Proteomics*, 16(7), 543-544.

Snell, L. M., McGaha, T. L., & Brooks, D. G. (2017). Type I interferon in chronic virus infection and cancer. *Trends in immunology*, 38(8), 542-557.

Song, H. H., Song, T. C., Yang, T., Sun, C. S., He, B. Q., Li, H., ... & Wang, Y. J. (2021). High mobility group box 1 mediates inflammatory response of astrocytes via

cyclooxygenase 2/prostaglandin E2 signaling following spinal cord injury. *Neural Regeneration Research*, 16(9), 1848-1855.

Squire, M. S., Townsend, H. A., & Actis, L. A. (2022). The Influence of Blue Light and the BlsA Photoreceptor on the Oxidative Stress Resistance Mechanisms of *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 856953.

Squire, M. S., Townsend, H. A., & Actis, L. A. (2022). The influence of blue light and the BlsA photoreceptor on the oxidative stress resistance mechanisms of *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 856953.

Srinivasan, K. (2014). Antioxidant potential of spices and their active constituents. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(3), 352-372

Staerck, C., Gastebois, A., Vandeputte, P., Calenda, A., Larcher, G., Gillmann, L., ... & Fleury, M. J. (2017). Microbial antioxidant defense enzymes. *Microbial Pathogenesis*, 110, 56-65.

Stoner, C. L., Cleton, A., Johnson, K., Oh, D. M., Hallak, H., Brodfuehrer, J., ... & Han, H. K. (2004). Integrated oral bioavailability projection using in vitro screening data as a selection tool in drug discovery. *International journal of pharmaceutics*, 269(1), 241-249.

Storey, K. B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian journal of medical and biological research*, 29, 1715-1733.

Sulaiman, I., Chung, M., Angel, L., Tsay, J. C. J., Wu, B. G., Yeung, S. T., ... & Segal, L. N. (2021). Microbial signatures in the lower airways of mechanically ventilated COVID-19 patients associated with poor clinical outcome. *Nature microbiology*, 6(10), 1245-1258.

Suman, S., Seth, R. K., & Chandna, S. (2009). Mitochondrial antioxidant defence in radio-resistant Lepidopteran insect cells. *Bioinformation*, 4(1), 19–23.

Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199-1218.

Takamatsu, S., Hodges, T. W., Rajbhandari, I., Gerwick, W. H., Hamann, M. T., & Nagle, D. G. (2003). Marine natural products as novel antioxidant prototypes. *Journal of natural products*, 66(5), 605-608.

Tan, L. T. H., Chan, K. G., Chan, C. K., Khan, T. M., Lee, L. H., & Goh, B. H. (2018). Antioxidative potential of a *Streptomyces* sp. MUM292 isolated from mangrove soil. *BioMed research international*, 2018.

Tan, L. T. H., Chan, K. G., Khan, T. M., Bukhari, S. I., Saokaew, S., Duangjai, A., ... & Goh, B. H. (2017). *Streptomyces* sp. MUM212 as a source of antioxidants with radical scavenging and metal chelating properties. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 246601.

Tan, L. T. H., Chan, K. G., Pusparajah, P., Yin, W. F., Khan, T. M., Lee, L. H., & Goh, B. H. (2019). Mangrove derived *Streptomyces* sp. MUM265 as a potential source of antioxidant and anticolon-cancer agents. *BMC microbiology*, 19, 1-16.

Tang, X., Zhao, L., Chen, H., Chen, Y. Q., Chen, W., Song, Y., & Ratledge, C. (2015). Complete genome sequence of a high lipid-producing strain of *Mucor circinelloides* WJ11 and comparative genome analysis with a low lipid-producing strain CBS 277.49. *PLoS One*, 10(9), e0137543.

Tangjitjaroenkun, J., Pluempanupat, W., Tangchitharoenkhul, R., Yahayo, W., & Supabphol, R. (2021). Antibacterial, antioxidant, cytotoxic effects and GC-MS analysis of mangrove-derived *Streptomyces achromogenes* TCH4 extract. *Archives of Biological Sciences*, 73(2), 223-235.

Teixeira, V., Feio, M. J., & Bastos, M. (2012). Role of lipids in the interaction of antimicrobial peptides with membranes. *Progress in lipid research*, 51(2), 149-177

Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, 119(6), S3-S10.

Thyagarajan, A., & Sahu, R. P. (2018). Potential Contributions of Antioxidants to Cancer Therapy: Immunomodulation and Radiosensitization. *Integrative cancer therapies*, 17(2), 210–216

Tian, X. R., Tang, H. F., Tian, X. L., Hu, J. J., Huang, L. L., & Gustafson, K. R. (2018). Review of bioactive secondary metabolites from marine bryozoans in the progress of new drugs discovery. *Future medicinal chemistry*, 10(12), 1497-1514.

Turpin, C., & Weber, M. (2011). Anti-inflammatories in ophthalmology: when? for who? how?. *General Therapeutic Reviews*, 1, 1-7.

Udvardi, M. K. (2001). Legume models strut their stuff. *Molecular plant-microbe interactions*, 14(1), 6-9.

Utami, L. A., Wahyuni, W. T., Mubarik, N. R., & Astuti, R. I. (2023). Endophytic bacteria of clove (*Syzygium aromaticum* L.) leaves produce metabolites with antioxidant and anti-aging properties. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 13(7), 241-250.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84

Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

Vasekaran, S., Balakumar, S., & Arasaratnam, V. (2010). Isolation and identification of a bacterial strain producing thermostable α -amylase.

Vladkova, T., Georgieva, N., Staneva, A., & Gospodinova, D. (2022). Recent progress in antioxidant active substances from marine biota. *Antioxidants*, 11(3), 439.

Von Lilienfeld-Toal, M., Wagener, J., Einsele, H., Cornely, O. A., & Kurzai, O. (2019). Invasive fungal infection: new treatments to meet new challenges. *Deutsches Ärzteblatt International*, 116(16), 271.

Wallet, F. (2020). Pesticides/Biocides. *Environnement, Risques & Santé*, 19(2), 147-148.

Wang, G., Li, X., & Wang, Z. (2016). APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1087-D1093.

Wang, T. Y., Li, Q., & Bi, K. S. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 13(1), 12-23.

Watanabe, M., Igarashi, K., Kato, S., Kamagata, Y., & Kitagawa, W. (2023). Self-cloning of the Catalase Gene in Environmental Isolates Improves Their Colony-forming Abilities on Agar Media. *Microbes and environments*, 38(2), ME23006.

Waterman, K. C., Adami, R. C., Alsante, K. M., Hong, J., Landis, M. S., Lombardo, F., & Roberts, C. J. (2002). Stabilization of pharmaceuticals to oxidative degradation. *Pharmaceutical development and technology*, 7(1), 1-32.

Weng, M., Xie, X., Liu, C., Lim, K. L., Zhang, C. W., & Li, L. (2018). The sources of reactive oxygen species and its possible role in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Parkinson's disease*, 2018.

White, A. N., Learman, B. S., Brauer, A. L., & Armbruster, C. E. (2021). Catalase Activity is Critical for *Proteus mirabilis* Biofilm Development, Extracellular Polymeric Substance Composition, and Dissemination during Catheter-Associated Urinary Tract Infection. *Infection and immunity*, 89(10), e0017721.

White, P. L., Dhillon, R., Cordey, A., Hughes, H., Faggian, F., Soni, S., ... & Backx, M. (2021). A national strategy to diagnose coronavirus disease 2019-associated invasive fungal disease in the intensive care unit. *Clinical Infectious Diseases*, 73(7), e1634-e1644.

Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites.

Winterbourn, C. C. (1995). Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicology letters*, 82, 969-974.

Wojtaszek, P. (1997). Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. *Biochemical Journal*, 322(3), 681-692.

Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., ... & Chen, H. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 112(12), 1821-1830.

Xu, X., Zhou, Y., Wang, X., Jiang, W., Qin, L., Wang, J., ... & Mao, Z. (2023). Effect of Hydrogen Peroxide on the Soil Microbial Community Structure and Growth of *Malus hupehensis* Rehd. Seedlings under Replant Conditions. *ACS omega*, 8(7), 6411-6422

Yamamoto Y., Kataoka A., Kitora M. (1998). Enhancing effect of β -lactoglobulin on the antioxidative activity of α -tocopherol in an emulsion of linoleic acid. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62, 1912-1916

Yan, G., Hua, Z., Du, G., & Chen, J. (2006). Adaptive response of *Bacillus* sp. F26 to hydrogen peroxide and menadione. *Current microbiology*, 52, 238-242.

Yang, L., Mih, N., Anand, A., Park, J. H., Tan, J., Yurkovich, J. T., ... & Palsson, B. O. (2019). Cellular responses to reactive oxygen species are predicted from molecular mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(28), 14368-14373.

Zhang, H., Zhan, Y., Yan, Y., Liu, Y., Hu, G., Wang, S., ... & Lin, M. (2019). The *Pseudomonas stutzeri*-specific regulatory noncoding RNA NfiS targets *katB* mRNA encoding a catalase essential for optimal oxidative resistance and nitrogenase activity. *Journal of Bacteriology*, 201(19), 10-1128.

Zhang, Y., Navarro, E., Cánovas-Márquez, J. T., Almagro, L., Chen, H., Chen, Y. Q., ... & Garre, V. (2016). A new regulatory mechanism controlling carotenogenesis in the fungus *Mucor circinelloides* as a target to generate β -carotene over-producing strains by genetic engineering. *Microbial Cell Factories*, 15, 1-14.

Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. (2021). Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 263

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.

Annexes

1. Préparation des milieux de culture :

Les milieux de culture suivant ont été préparés pour cultiver et purifier les isolats, ainsi que pour détecter leurs propriétés antioxydantes.

2. Le Bouillon Nutritif :

Le Bouillon Nutritif, un milieu liquide couramment employé pour la croissance des micro-organismes peu exigeants, est préparé en dissolvant 13 g de la poudre du milieu BN dans 1 L d'eau distillée, après agitation en autoclavant le mélange à 120 °C pendant 20 minutes.

3. La Gélose Nutritive :

La Gélose Nutritive est un milieu non sélectif, utilisé pour la culture d'une large gamme de bactéries qui n'ont pas de besoins spécifiques elle est composée de tout ce que la plupart des bactéries ont besoin pour leur croissance (Vaseekaran *et al.*, 2010 ; Pashirova *et al.*, 2015). Pour sa préparation, on dissout 23 g de la poudre du milieu dans 1L d'eau distillée après agitation sur plaque chauffante, puis la gélose est autoclavée à 120 °C pendant 20 minutes.

4. Préparation de l'eau physiologie :

Pour la préparation de l'eau physiologie à 0,9 %, on dissout 1,8 g de la poudre du NaCl (Le chlorure de sodium) dans 0,2 L d'eau distillée.

Résumé

Les antioxydants, produits par les différents organismes vivants, sont essentiels dans la prévention de l'apparition d'un stress oxydatif qui peut avoir des effets néfastes sur le fonctionnement cellulaire. Les bactéries se distinguent par leur capacité à produire des enzymes et des substances antioxydantes. Pour cela l'objectif de notre travail est de rechercher des propriétés antioxydantes (profils résistance/sensibilité à l' H_2O_2 , recherche de l'activité catalasique et les capacités de piégeage du DPPH), chez des bactéries isolées à partir de différents sols, sol vierge (ISV1 et ISV2), sol d'une zone rhizosphérique (ISR1 et ISR2), sol situé à 1 mètre d'une zone rhizosphérique (ISmR1 et ISmR2) et enfin une zone rhizosphérique d'un sol salin (ISS1 et ISS2). Les résultats obtenus montrent que les 8 isolats bactériens étudiés sont dotés de capacités antioxydantes avec des profils différents. En effet, pour le profil résistance/sensibilité à l' H_2O_2 , les isolats ISV2 et ISS1 résistent à toutes les concentrations testées contrairement à l'isolat ISS2 qui est sensible, les autres isolats présentent des profils différents en fonction de la concentration testée. Concernant les capacités de dégradation de l' H_2O_2 , les 8 isolats sont dotés d'activités catalasiques avec des IC50 qui varient entre 0,005 mg/mL (pour l'isolat ISS2, le plus performant) et 0,050 mg/mL (pour l'isolat ISmR2, le moins performant). Pour les capacités de piégeage du DPPH, les IC50 varient entre 0,002 mg/mL (pour l'isolat ISS2, le plus performant) et 0,070 mg/mL (pour l'isolat ISV2, le moins performant).

Mots-clés : Bactéries, sol, propriétés antioxydantes, activité catalasique, piégeage du DPPH.

Summary

Antioxidants, produced by various living organisms, are essential in preventing the onset of oxidative stress, which can have adverse effects on cellular function. Bacteria are distinguished by their ability to produce enzymes and antioxidant substances. Therefore, the objective of our work is to investigate antioxidant properties (resistance/sensitivity profiles to H_2O_2 , catalase activity, and DPPH trapping capacities) in bacteria isolated from different soils: pristine soil (ISV1 and ISV2), rhizospheric zone soil (ISR1 and ISR2), soil located 1 meter from a rhizospheric zone (ISmR1 and ISmR2), and finally, a rhizospheric zone of saline soil (ISS1 and ISS2). The results obtained show that the eight bacterial isolates studied possess antioxidant capacities with different profiles. Indeed, for the resistance/sensitivity profile to H_2O_2 , isolates ISV2 and ISS1 resist all tested concentrations, unlike isolate ISS2, which is sensitive. The other isolates exhibit different profiles depending on the concentration tested. Regarding the degradation capacities of H_2O_2 , all 8 isolates exhibit catalase activities with IC50 values ranging from 0,005 mg/mL (for isolate ISS2, the most efficient) to 0,050 mg/mL (for isolate ISmR2, the least efficient). For the DPPH trapping capacities, IC50 values range from 0,002 mg/mL (for isolate ISS2, the most efficient) to 0,070 mg/mL (for isolate ISV2, the least efficient).

Keywords : Bacteria, soil, antioxidant properties, catalase activity, DPPH trapping.

المخلص

مضادات الأكسدة، التي تنتجها الكائنات الحية المختلفة، ضرورية لمنع ظهور الإجهاد التأكسدي الذي يمكن أن يكون له آثار ضارة على وظيفة الخلية. تتميز البكتيريا بقدرتها على إنتاج الإنزيمات والمركبات المضادة للأكسدة. ولذلك، هدف عملنا هو البحث عن الخصائص المضادة للأكسدة، لدى البكتيريا المعزولة من التربة المختلفة: التربة النقية (ISV1) و (ISV2)، والتربة في منطقة الجذور (ISR1) و (ISR2)، التربة على بُعد متر واحد من منطقة الجذور (ISmR1 و ISmR2)، وأخيرًا منطقة جذرية في تربة مالحة (ISS1 و ISS2). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن العزلات البكتيرية الثمانية المدروسة تتمتع بقدرات مضادة للأكسدة بملامح مختلفة. فعلى سبيل المثال، بالنسبة لملامح المقاومة/الحساسية لـ H_2O_2 ، فإن العزلات ISV2 و ISS1 تُظهران مقاومة لجميع التراكيز التي تم اختبارها على عكس العزلة ISS2 التي هي حساسة، بينما تظهر العزلات الأخرى ملامح مختلفة اعتمادًا على التركيز المختبر. وفيما يتعلق بقدرات تحلل H_2O_2 ، فإن العزلات الثمانية تتمتع بأنشطة كاتالازية بمعدلات IC50 تتراوح بين 0,005 ملغ/مل (للعزلة ISS2، الأكثر أداءً) و 0,050 ملغ/مل (للعزلة ISmR2، الأقل أداءً). أما بالنسبة لقدرات اصطياد DPPH، فإن معدلات IC50 تتراوح بين 0,002 ملغ/مل (للعزلة ISS2، الأكثر أداءً) و 0,070 ملغ/مل (للعزلة ISV2، الأقل أداءً).

الكلمات المفتاحية: البكتيريا، التربة، خصائص مضادات الأكسدة، نشاط الكاتالاز، اصطياد DPPH.