

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie

*Laboratoire de microbiologie au département de biologie à la faculté SNV-STU. Université de TELMCEN*



# MÉMOIRE

Présenté par :

**LARABI Dounia Racha**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER en BIOLOGIE**

**Option : Biochimie appliquée**

**Thème**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de  
*Moringa oliefera*

Soutenu le

devant le jury composé de :

Présidente

Dr. Benariba Nabila

MCA Université de Tlemcen

Examineur

Dr. Mezouar Dounia

MCB Université de Tlemcen

Encadreur

Dr. Adida-Cherif Houria

MCB Université d'Oran 1

**Année universitaire : 2020/2021**



## REMERCIEMENT

*En premier, je tiens à remercier ALLAH très puissant, qui m'a donné la santé et le courage, la volonté et la puissance pour réaliser ce modeste travail.*

*Je tiens à présenter mes remerciements les plus sincères à :*

*M<sup>me</sup> Adida houria* notre encadreur pour le temps et l'intention qu'ils aient bien voulu consacrer au bon déroulement de ce travail.

*Mes sincères remerciement vont également aux membres de jury, la présidente M<sup>me</sup> Benariba nabila* pour son aide et ses nombreuses orientations durant la préparation de ce travail et l'examinatrice

*M<sup>me</sup> Mezouar dounia* qui a accepté d'examiner et de juger ce travail.

*Surtout mes profonds remerciements à M<sup>r</sup> Loukli Amine* responsable du pôle génétique et laboratoire de microbiologie qui m'a consacré beaucoup de son temps et de son savoir.

*Je tiens particulièrement à remercier M<sup>r</sup> Benakriche ben mehel* et *M<sup>me</sup> Mesbahí Fatima zohra*. Pour leurs précieux conseils et leurs implication assidue m'a aidé et soutenu tout au long de ce travail

*J'adresse mes remerciements à l'ensemble du corps enseignant, depuis L'école primaire aux études supérieures pour toutes les connaissances qu'ils nous ont transmises.*

*Je tiens à remercier aussi tous qui m'ont aidé de loin ou de près à*

*Réaliser ce travaille*





## *Dédicace*

*À l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,*

*J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie*

*Ma mère **Boukhíar hayat** qui m'apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.*

*À la source de ma volonté à mon chère père **Híchem** qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements.*

*Je ne cesserais jamais de remercier mon Dieu pour m'avoir donnée une mère et un père comme vous. Puisse Dieu vous protéger inchallah.*

*À ma sœur Malek*

*À mon frère : Marouane*

*À la joie et le bonheur de ma vie Ghellaí Salah Eddíne « merci pour votre soutient et ta présence toujours à mes côtés »*

*Je ne peux pas oublier de remercier chaleureusement mes très chères amies : Hadjer, Sarah, Fella, Amel et sa soeur. ET Je leurs souhaite, à tous bonne continuation et beaucoup de réussite.*



لفترة طويلة، حصدت الأمراض المعدية أرواح البشر أكثر من تلك التي خلفتها جميع الحروب. تحتل النباتات الطبية مكانة بارزة في كوكبة هذه الأمراض المعدية. تم التعرف على مزاياهم العلاجية تجريبياً منذ العصور القديمة، ولم يهتم الباحثون بالعناصر النشطة للنباتات إلا منذ بداية القرن العشرين. استناداً إلى العديد من الأعمال العلمية حول الفائدة الغذائية والطبية والصناعية والصيدلانية لـ *Moringa oleifera*، والتي تعتبر واحدة من أكثر الأشجار فائدة في العالم، لأنه يمكن استخدام تقريباً أي جزء من شجرة *M. oleifera*.

بناءً على هاته الدراسات، فإننا مهتمون بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية والميثانولية للبذور والأوراق ضد خمسة بكتيريا سالبة الجرام وأربعة بكتيريا موجبة الجرام. يتم تقييم هذا النشاط من خلال طريقتين في المختبر: طريقة نوعية وهي ما تسمى الانتشار في وسط صلب والطريقة الكمية وهي التخفيف الدقيق لتحديد CMI و CMB.

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها، يبدو أن المستخلصات المختبرة من نبات *M. oleifera* أظهرت خصائص مضادة للجراثيم متغيرة ضد السلالات المختبرة. سجلنا نشاطاً عالياً للمستخلص المائي الميثاني للبذور، على عكس المستخلص المائي الميثاني للأوراق الذي أظهر نشاطاً منخفضاً مضاداً للبكتيريا. تتراوح قيم الحد الأدنى للتركيزات المثبطة (CMI) المسجلة بواسطة المستخلصات المدروسة من 0.19mg/ml إلى 3.12 mg/ml فيما يتعلق بالبكتيريا المختبرة.

**الكلمات المفتاحية:** الأمراض المعدية، النباتات الطبية *Moringa oleifera*، المستخلصات، النشاط المضاد للبكتيريا، CMI، CMB.

## Résumé

---

Depuis longue temps, les maladies infectieuses sont coûtées la vie à un nombre d'humains qui dépasse celui provoqué par l'ensemble des guerres. Les plantes médicinales occupent une place prépondérante au sein de la constellation de ces maladies infectieuses. Leurs vertus thérapeutiques sont connues empiriquement depuis l'Antiquité, et ce n'est que depuis le début du 20ème siècle que les chercheurs se sont intéressés aux principes actifs de leur action.

Sur la base de plusieurs travaux scientifiques sur l'intérêt nutritionnel, médical, industriel et pharmaceutique de *Moringa oleifera*, qui a été considéré comme l'un des arbres les plus utiles au monde, car presque toutes les parties de l'arbre Moringa peuvent être utilisées. Basant sur ces travaux, nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanoliques des graines et des feuilles contre cinq bactéries à Gram négatif et quatre bactéries à Gram positif. Cette activité est évaluée par deux méthodes in vitro : une méthode qualitative ; il s'agit de la diffusion sur gélose et l'autre quantitative, c'est la micro-dilution pour la détermination des CMI et CMB

Selon les résultats obtenus, il ressort que les extraits testés de la plante *Moringa oleifera* ont présenté des propriétés antibactériennes variables contre les souches testées. Nous avons enregistré une activité élevée de l'extrait hydro-méthanolique des graines, contrairement à l'extrait hydro-méthanolique des feuilles qui a montré une faible activité antibactérienne.

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) enregistrées par les extraits étudiés varient de 0.19 mg/mL à 3.12 mg/mL vis-à-vis les bactéries testées.

**Mots clés :** Maladies infectieuses, Plantes médicinales, *Moringa oliefera*, extraits, activité antibactérienne, CMI, CMB.

## Summary

---

Infectious diseases have long claimed more human lives than all wars combined. Medicinal plants play an important role in the constellation of these infectious diseases. Their therapeutic virtues have been known empirically since antiquity, and it is only since the beginning of the 20th century that researchers have been interested in the active principles and on their action.

On the basis of several scientific works on the nutritional, medical, industrial and pharmaceutical values of *Moringa oleifera*, which has been considered as one of the most useful trees in the world, as almost all parts of the Moringa tree can be used. In this study, we are interested in investigating the antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the seeds and leaves of *Moringa oleifera* against five Gram-negative bacteria and four Gram-positive bacteria. This activity is evaluated by two methods *in vitro*: a qualitative method, is the diffusion on agar and the other quantitative, that is the micro-dilution for the determination of the MIC and MBC.

According to the results obtained, the tested extracts of the *Moringa oleifera* plant showed variable antibacterial properties against the tested bacteria. We recorded a high activity of the hydro-methanolic extract of the seeds, in contrary to the hydro-methanolic extract of the leaves which showed a low antibacterial activity.

The minimum inhibitory concentration (MIC) values recorded by the extracts studied ranged from 0.19 mg/mL to 3.12 mg/mL against the bacteria tested.

**Key words:** Infectious diseases, Medicinal plants, *Moringa oleifera*, extracts, antibacterial activity, MIC, MBC.

# TABLE DES MATIÈRES

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>Première partie : Synthés bibliographique</b> .....	<b>2</b>
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes</b> .....	<b>20</b>
1. Matériel biologique .....	20
1.1. Matériel végétale .....	20
1.2. Souches bactériennes : .....	20
1.3. Matériel non biologique.....	20
2. Méthodes : .....	21
2.1. Préparation des extraits à partir des feuilles et des graines de <i>Moringa oleifera</i> .....	21
2.1.1. Extrait aqueux de la poudre des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .....	21
2.1.2. Décoction : .....	21
2.1.3. Extrait eau-méthanol des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .....	21
2.1.4. Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol de feuilles de <i>Moringa oleifera</i> :.....	21
2.1.5. Dégraissage des graines de <i>Moringa oleifera</i> :.....	22
2.1.6. Extrait eau-méthanol des graines dégraissées de <i>Moringa oleifera</i> : .....	22
2.2. Évaluation du pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i> : .....	22
2.2.1. La méthode de diffusion sur gélose : .....	22
2.2.1.1. Préparation des solutions des extraits :.....	22
2.2.1.2. Préparation de suspensions bactériennes : .....	23
2.2.1.3. Ensemencement des boites .....	23
2.2.1.4. Dépôt des disques.....	23
2.2.1.5. Incubation .....	23
2.2.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) : .....	23
2.2.3. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) .....	24
<b>Troisième partie : Résultats et interprétation</b> :.....	<b>25</b>
1. Activité antibactérienne :.....	25
1.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé :.....	25
1.2. Méthode de micro-dilution en milieu liquide :.....	30
<b>Quatrième partie : Discussion</b> :.....	<b>34</b>
<b>Cinquième partie : Conclusion</b> : .....	<b>37</b>
<b>Références bibliographiques</b> :.....	<b>38</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau N°01</b> : Les agents de transmission maladies infectieuse .....	2
<b>Tableau N°02</b> : Le mode d'action des antibiotiques .....	4
<b>Tableau N°03</b> : Les antibiotiques bactericides et bacteriostatique .....	5
<b>Tableau N°04</b> : Classification des terpenes en fonction du nombre d'unites isoprene .....	11
<b>Tableau N°05</b> : Quelques noms vernaculaires du <i>Moringa oleifera lam</i> .....	13
<b>Tableau N°06</b> : Limites ecologiques de <i>M. oleifera</i> .....	17
<b>Tableau N°07</b> : Les sites d'introduction dumoringa enAlgerie .....	17
<b>Tableau N°08</b> : La valeur medicinale des differentes parties de <i>Moringa oleifera</i> .....	18
<b>Tableau N°09</b> : Les bacteries utilisees pour l'evaluation de l'activite antibacterienne. ....	20
<b>Tableau N°10</b> : Diametre des zones d'inhibition des differents extraits ( <b>en mm</b> ). ....	26
<b>Tableau N°11</b> : Effet antibacterien des extraits de feuilles et des graines de <i>Moringa oleifera</i> vis-a-vis les differentes bacteries testees .....	27
<b>Tableau N°12</b> : Concentrations minimales inhibitrices ( <b>CMI</b> ) et bactericides ( <b>CMB</b> ) des differentes extraits exprimees en mg/mL .....	31
<b>Tableau N°13</b> : Le rapport <b>CMB/CMI</b> des differents extraits .....	32



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure N°01:</b> Structure de base des flavonoïdes. ....	8
<b>Figure N°02:</b> Les principaux types de flavonoïdes .....	8
<b>Figure N°03:</b> Exemple des tanins hydrolysable et non hydrolysables .....	9
<b>Figure N°04:</b> Quelques exemples des structures chimiques des coumarines. ....	9
<b>Figure N°05:</b> Les principaux types d'alcaloïdes .....	10
<b>Figure N°06:</b> Structure typique des saponosides .....	11
<b>Figure N°07:</b> Distribution de <i>Moringa oleifera</i> dans le monde .....	12
<b>Figure N°08:</b> Arber de <i>Moringa oliefera</i> .....	14
<b>Figure N°09:</b> Le tronc de <i>Moringa oliefera</i> .....	14
<b>Figure N°10:</b> Feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .....	15
<b>Figure N°11:</b> Fleurs de <i>Moringa oleifera</i> .....	15
<b>Figure N°12 :</b> Fruits de <i>Moringa Oleifera</i> .....	16
<b>Figure N°13 :</b> Graines de <i>Moringa oleifera</i> .....	16

## LISTE DES ABREVIATIONS

- M.oliefera : *Moringa oliefera*
  - CMB : Concentration Minimale Bactéricide
  - CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
  - Da : Dalton
  - DMSO : Diméthylsulfoxyde
  - GEN : Gentamicine
  - INFR : l'état d'avancement des travaux d'introduction du moringa
  - CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
  - mg/mL : Milligramme par millilitre
  - mm : Millimètre
  - H : Heure.
-

# Introduction Générale

---

L'apparition de nouvelles maladies, développement de la résistance aux médicaments, l'émergence des virus mortels, les complications des greffes d'organes et l'incidence accrue des infections bactériennes, ainsi que les problèmes de toxicité liés à la surutilisation des antibiotiques et de médicaments synthétiques.

Face à tous ces problèmes, les chercheurs scientifiques ont mené sur l'évaluation des plantes médicinales comme sources naturelle d'agents anti-infectieux, pour obtenir de nouveaux médicaments qui sont efficaces, présentent une faible toxicité et ont un impact mineur sur l'environnement (**Martini et Seiller., 2006**).

Les plantes médicinales ont été depuis longtemps reconnues comme la principale source de substances bioactives, elles sont de plus en plus utilisées pour extraire des substances ayant des activités biologiques ou susceptibles d'être transformées en médicaments. L'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques et antimicrobiennes reste une tâche très importante et utile, en particulier pour les plantes rares ou peu utilisées ou pour des usages inconnus en médecine traditionnelle. Ces plantes constituent une nouvelle source de composés actifs (**Teixeira Da Silva., 2004**).

C'est pour ces raison qu'actuellement, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (**Muthu et al., 2006**).

Le retour à la naturalité est devenu indispensable et doit respecter certaines conditions pour son utilisation dans le large monde des anti-infectieux. La plus importante de ces conditions est l'étude scientifique rigoureuse de ces plantes. C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail. Nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antibactérienne d'une plante originale qu'elle s'appelle : *Moringa oleifera*. Est une plante alimentaire et médicinale qui est utilisée depuis l'Antiquité dans de nombreux domaines, pour ses diverses propriétés et pour l'efficacité de ses extraits. *Moringa oleifera*, également appelé " arbre de vie ", cultivé dans de nombreux pays d'Asie et d'Afrique (**Sreelatha et al., 2009**), elle est couramment utilisée en médecine traditionnelle (**Alhakmani et al., 2013**). La majorité des parties de cet arbre (feuilles, fleurs, fruits et gousses immatures) sont employées dans diverses formulations alimentaires, médicales et industrielles traditionnelles. Les feuilles sont notamment riches en vitamines et en composés phénoliques [(**Makkar et al., 1996**) ; (**Coppin et al., 2013**)].

Première partie :

Synthèse bibliographique

Les micro-organismes sont des minuscules créatures vivantes, telles que les bactéries, les virus.... Ils sont partout, même s'il existe des milliers d'espèces, la plupart des espèces sont inoffensives pour l'homme, elles vivent sur la peau, dans la cavité buccale, les voies respiratoires supérieures, les intestins et les parties génitales sans provoquer des maladies, certains d'entre elles peuvent envahissent le corps humain, et provoquent des pathologies (**Larry et al., 2020**).

D'autres ont un fort pouvoir pathogène pour l'homme. Nous parlons alors d'agents infectieux (bactéries, protozoaires, champignons, virus) (**Tableau N°01**) qui sont à l'origine des maladies infectieuses, et dont chacun est spécifique à une maladie particulière (**Shears, 2006**)

**Tableau N°01:** Les agents de transmission maladies infectieuses (**Perez, 2009**)

Les agents de transmission	Virus	Bactéries	Parasites	Champignons
Les pathologies transmises	Hépatites	Tuberculose	Paludisme	Pneumocytose
	Sida	Coqueluche	Maladies de Chagas	Mycoses
	Grippe	Méningites	Léishmanioses	Aspergilloses
	Rage	Choléra	Toxoplasmose	
	Poliomyélite	Peste		
	Rougeole	Tétanos		
	Fiebre jaune			

Au cours de 20<sup>ème</sup> dernière année, grâce à la combinaison des méthodes multidisciplinaires de microbiologie, de biologie moléculaire, de biologie cellulaire et de la génétique, la recherche sur les maladies bactériennes a fait des progrès considérables, ce qui a permis aux scientifiques de mieux comprendre le mécanisme de l'infection (**Cossart, 2014**).

Ce concept permet d'identifier plusieurs voies possibles, pour qu'un agent pathogène provoque des maladies. De multiples agents pathogènes produisent des toxines qui interrompent des activités physiologiques spécifiques, ou perturbent les transmissions de signaux entre les cellules, et entraînent des maladies localisées ou systémiques. Certains organismes pathogènes envahissent et détruisent des cellules ou des tissus spécifiques (**Singleton, 2004**).

Par conséquent, il est possible de prévenir et de combattre les maladies infectieuses grâce à des vaccins et des anti-infectieux ; qui peuvent être curative, tel que : les antibiotiques, les antiviraux, les antiparasitaires et les antifongiques ou préventifs vaccins, comme : les immunoglobulines et les sérums. Cela a conduit à une baisse de la mortalité par les infections et à une augmentation démographique sans précédente (**Berche, 2018**).

Aujourd'hui, la notion d'antibiotique a été élargie pour désigner toute substance naturelle, semi-synthétique ou synthétique qui a le pouvoir d'inhiber ou de détruire les micro-organismes (bactéries et champignons) et qui a aussi des actions anti-inflammatoires, anti-suppressives et antitumorales (**Smaoui,2010**).

Les antibiotiques peuvent soigner les infections bactériennes à travers 4 modes d'action majeurs (**Tableau N°02**) :

**Tableau N°02: Le mode d'action des antibiotiques (Tenover, 2006)**

<b>Mode d'action</b>	<b>La cible</b>	<b>La famille d'antibiotique</b>
<b>L'interférence avec la synthèse de la paroi cellulaire</b>	/	Carbapénème, vancomycine, $\beta$ -lactame.
<b>Inhibition de la synthèse des protéines microbiennes :</b>	Association avec la sous-unité 50S du ribosome	Macrolides, chloramphénicol, clindamycine.
	Association avec la sous-unité 30S du ribosome	Aminoglycosides, tétracyclines.
	Association avec l'enzyme bactérienne isoleucyl-ARNt synthétase	Chloramphénicol, tétracyclines.
<b>Interférence de contraste avec la synthèse des acides nucléiques :</b>	-Inhiber la synthèse d'ADN  -Inhiber la synthèse d'ARN	Fluoroquinolones.  Rifampicine.
<b>Inhibition des voies métaboliques</b>	/	Sulfamides, Analogues de l'acide folique

Selon leur mode d'action, les antibiotiques couvrent un large groupe de composés dans l'activité peut s'exercer par deux mécanismes principaux : antibiotique bactériostatique dont l'effet est l'inhibition de la croissance des bactéries et antibiotiques bactéricides qui tuent les bactéries. (**Tableau N°03**). Cependant, Certain d'eux peuvent être bactériostatiques dans certaines circonstances et concentrations, et bactéricides dans d'autres (**Walsh,2003**).



**Tableau N°03 : les Antibiotiques bactéricides et bactériostatique (Mameche, 2020)**

<b>Classe chimique</b>	<b>Mode d'action</b>	<b>Exemples</b>
<b>Sulfonamides</b>	Bactériostatique	Sulfanilamide
<b><math>\beta</math>-lactame.</b>	Bactéricide	Pénicilline Céphalosporine Carbapénèmes
<b>Aminoglycosides</b>	Bactéricides	Spectinomycine Kanamycine Néomycine
<b>Tétracycline</b>	Bactériostatique	Tétracycline Doxycycline
<b>Chloramphénicol</b>	Bactériostatique	Chloramphénicol
<b>Marcolides</b>	Bactériostatique	Erythromycine Clarithromycine
<b>Glycopeptides</b>	Bactéricides	Vancomycine Teicoplanine
<b>Oxazolidinones</b>	Bactériostatique	Linezolide
<b>Ansamycines</b>	Bactéricides	Rifamicine
<b>Quinolone</b>	Bactéricides	Ciprofloxacine
<b>Streptogramines</b>	Bactéricides	Pristinamycine

Les bactéries peuvent s'adapter et résister aux traitements, ce phénomène est appelé l'antibiorésistance, qui peut être un phénomène naturel ou acquise (Veyssiere, 2020).

Pour la lutte contre la résistance aux antibiotiques, il faut commencer par maîtriser l'antibiorésistance par deux leviers : une amélioration de l'utilisation des antibiotiques pour diminuer la pression de sélection et des mesures de prévention pour restreindre la transmission bactérienne (Veyssiere, 2019).

Mais l'état de développement des antibiotiques montre que cette situation ne va pas s'améliorer dans les années à venir. En septembre 2018, 42 nouveaux antibiotiques étaient en développement. Les causes de la diminution des investissements de ce secteur de l'industrie pharmaceutique dans la recherche de nouveaux antibiotiques sont multiples (Mahieu *et al.*,

2020). Mais elles reflètent principalement à la faiblesse de la rentabilité de cette activité. Le traitement d'une infection peut nécessiter l'utilisation de différents antibiotiques successifs.

L'expérience des deux dernières décennies prouve que les nouveaux antibiotiques ne sont pas utilisés immédiatement par les médecins prescripteurs. Le développement rapide de la résistance aux nouveaux antibiotiques encourage les cliniciens à garder les nouvelles molécules pour des cas rares, en l'absence de solutions alternatives (Mahieu et al.,2020).

Finalement, le développement clinique des antibiotiques est coûteux et risqué. L'expérience des dernières dizaines d'années indique que seuls 20% des anti-infectieux entrant en phase 1 sont un jour commercialisés pour un emploi médical (Mahieu et al.,2020). Les molécules qui sont abandonnées au terme de ce parcours le sont en raison d'une efficacité trop faible ou d'effets indésirables.

Le développement de nouveaux antibiotiques cible principalement les bactéries classées sous l'acronyme ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.*). Ces bactéries sont en fait caractérisées par la présence de résistances aux antibiotiques ainsi que par leur présence relative en clinique, particulièrement en milieu hospitalier (Mahieu et al.,2020).

Dans le processus de recherche de molécules biologiquement actives, l'exploration des ressources naturelles, notamment des plantes médicinales, semble être une approche très prometteuse, car du fait de leur biodiversité, elles constituent une grande réserve de substances actives (Scherrer et al., 2005). Ils sont facilement disponibles et largement utilisés en médecine traditionnelle pour diverses pathologies [(Tabuti et al., 2003) ; (Sardi et al., 2011)]. Par conséquent, les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances naturelles qui peuvent être utilisées pour formuler de nouveaux agents anti-infectieux (Cannas et al., 2014).

Cependant, ces plantes médicinales ont prouvés aussi leur place dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques, qui est devenue un sérieux problème de santé publique qui concerne un nombre important d'antibiotiques et qui se manifeste dans tous leurs champs d'application, d'où le besoin toujours de rechercher de nouveaux composés capables d'agir soit de manière directe sur les micro-organismes, soit de façon indirecte en empêchant un ou plusieurs mécanismes de résistance (Adida et al., 2014).

Cette étude exige des méthodes pour l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes et des composés purs. Les principales méthodes employées sont ; la méthode de

diffusion sur gélose pour la mesure du diamètre d'inhibition et la micro-dilution pour la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). Une fois l'activité prouvée, des méthodes plus complexes sont indispensables pour comprendre le mécanisme d'action de ces composés (**Thanina, 2005**).

En effet il faut savoir que toutes les substances antimicrobiennes proviennent des métabolites secondaire (les composés phénoliques, les alcaloïdes ainsi que les huiles essentielles), qui sont produits en petites quantités, mais dont les utilisations dans divers domaines, notamment dans le domaine pharmaceutique et cosmétique, ou même nutritionnel (**Harbone, 1998**).

Ces métabolites secondaires peuvent être divisés en plusieurs grandes familles. Citent les structures les plus connus : les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, etc.), composés azotés (notamment alcaloïdes) et composés terpéniques [(**Dewick, 2009**) ; (**Gurib-Fakim,2006**)].

Selon la définition d'**Evans et ses collaborateurs en 1988**, ces structures peuvent même être désignées comme "privilegiées », en raison de la combinaison de divers pharmacophores autour du squelette de base, ils peuvent agir comme ligands pour plus d'un récepteur. Ces substances sont donc de bons candidats pour la découverte de médicaments.

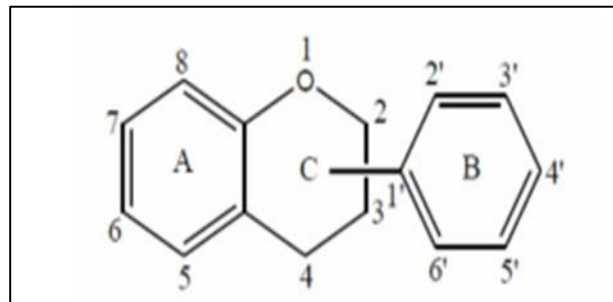
Ces composés sont très importants, non seulement en raison de leur rôle pour les plantes, mais aussi parce qu'ils possèdent des propriétés biologiques importantes. Ils sont utilisés comme agents : antioxydants, antimicrobiens et dans le traitement de diverses maladies (à savoir l'hypertension, le diabète et l'obésité...) (**Aires et al., 2013**)

Cependant les polyphénols c'est une classe des métabolites secondaires possède un effet antibactérien, qui peut être lié à sa diversité structurelle, qui peut être dû à l'inhibition de quelques enzymes bactériennes ; à la déstabilisation de la membrane cytoplasmique [(**Elzaawely et al.,2005**) ; (**Taguri et al., 2006**)].

Le caractère hydrophobe des polyphénols est aussi un critère de toxicité qui leurs permettent de s'insérer dans les phospholipides de la membrane des bactéries et d'exercer leurs effets antibactériens (**Daglia, 2011**).

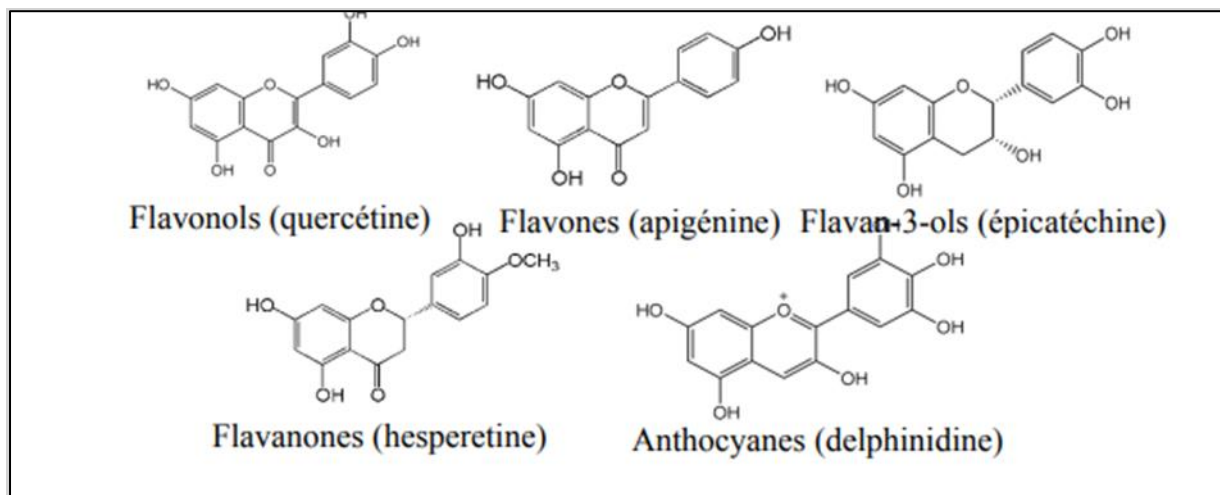
Parmi ces composés phénoliques on trouve les flavonoïdes qui constituent d'important groupe de composés phénoliques chez les végétaux supérieurs (**Dóka et al., 2011**). Ils se composent de plus de 6500 molécules et ont un squelette de 15 atomes de carbone (**Figure N°01**) (**Chaeetal.,**

2013). Ils sont notamment synthétisés dans les plantes supérieures par les voies de l'acide shikimique et de l'acide malonique (**Balasuriya et Rupasinghe., 2011**).



**Figure N°01** : Structure de base des flavonoïdes (**Manach., 2004**).

Les flavonoïdes sont divisés en six sous-groupes : flavanones, flavones, flavanols, flavan-3-ols, anthocyanines et isoflavones (**Balasuriya et Rupasinghe., 2011**). Six autres sous-groupes, à savoir les flavanes, les isoflavanones, les isoflavanes, les chalcones, les aurones et les coumarines ont été classés comme des flavonoïdes (**Figure N°02**) (**Jash et Brahmachari., 2013**).



**Figure N°02**: Les principaux types de flavonoïdes (**Khaled,2011**)

Cette classe de polyphénols doués de plusieurs propriétés thérapeutiques. Elles sont utilisées comme des antimicrobiennes, anticancéreuses, antivirales, antileishmaniennes, antiallergique, anti-inflammatoire, antidiabétique, antioxydant et de radioprotection [(**Dong Woo et Kim., 2013**) ; (**Xie et al.,2013**)].

Autres composés phénoliques des plantes : Les tanins végétaux sont des composants phénoliques hydrosolubles et dont le poids moléculaire est situé entre 500 et 3000 KDa (Seremeet *et al.*, 2010).

Auparavant, les tanins ont été classifiés en deux groupes : pyrogallol et catéchol. Aujourd'hui, les tanins sont regroupés en tanins hydrolysables et non hydrolysables ou condensés (Figure N°03) [(Adamczyk *et al.*, 2013) ; (Okuda *et Ito.*, 2011)].

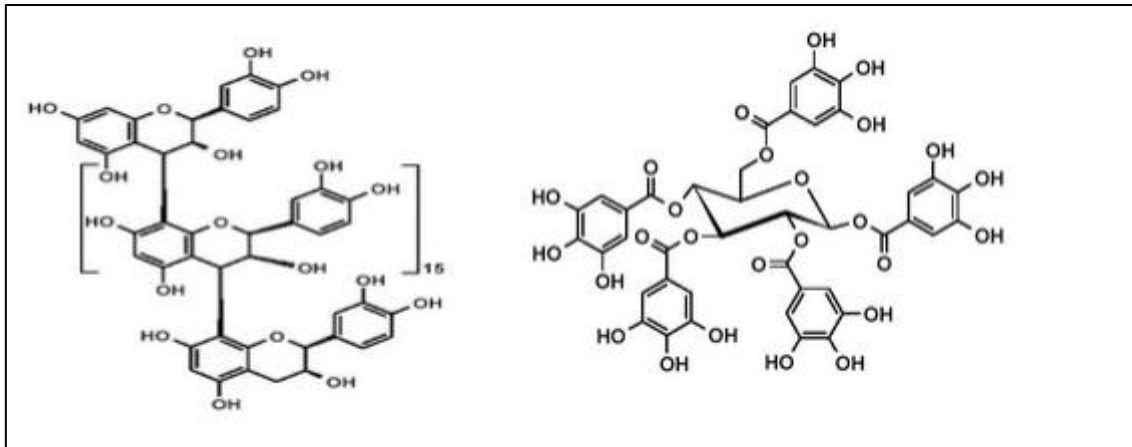


Figure N°03 : Exemple des tanins hydrolysable et non hydrolysables (Khaled, 2011)

Les coumarines, ce sont des composés phénoliques cyclisés, formé par un noyau hétérocyclique contenant de l'oxygène, et sa structure de base est Benzo-2-pyrone. La majeure partie provient de l'acide t-cinnamique et de l'acide p-coumarique. Cependant, leurs voies de biosynthèse peuvent varier d'une espèce à l'autre (Hoffmann, 2003).

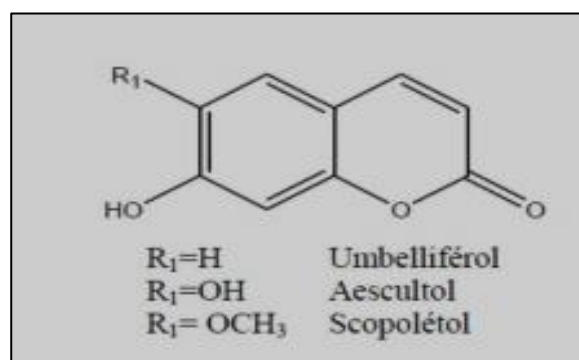


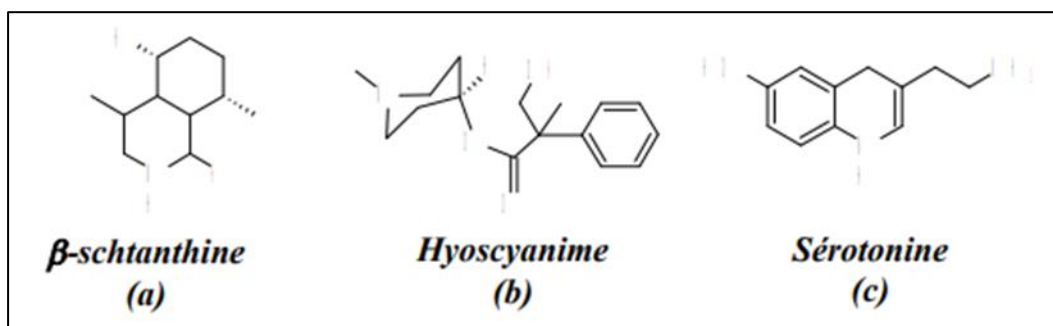
Figure N°04: Quelques exemples des structures chimiques des coumarines (Pincemail *et al.*, 2007).

Les alcaloïdes sont des substances azotées, basiques, d'origine naturelle à structures Complexes. Formés de C, H et N qui sont généralement liquides et volatils, ou bien des composés quaternaires composés de C, H, O et N qui sont principalement des solides, non volatils (**Bruneton, 1993**).

Les alcaloïdes sont généralement divisés en trois types (**Figure N°05**) (**Khaled,2011**)

Les alcaloïdes sont généralement divisés en trois types

- ✚ Les alcaloïdes vrais, qui sont bio synthétiquement formé à partir d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle ( $\beta$ -schantine).
- ✚ Les pseudo-alcaloïdes, ils présentent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas dérivés d'acides aminé (hyoscyanime)
- ✚ Les proto-alcaloïdes, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels L'azote est en dehors des structures cycliques. (La sérotonine)



(a). Alcaloïdes vrais, (b). Pseudo-alcaloïde, (c). Proto-alcaloïde

**Figure N°05** : Les principaux types d'alcaloïdes (**Khaled, 2011**).

Les terpènes sont un groupe d'hydrocarbures cycliques ou à chaîne ouverte. Leur principale caractéristique structurelle est la présence d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) dans leur squelette. Ils sont subdivisés en fonction du nombre d'entités isopréniques en monoterpènes constitués de deux isoprènes ( $C_{10}H_{16}$ ), sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ( $C_{15}H_{24}$ ), diterpènes, constitués de quatre isoprènes ( $C_{20}H_{32}$ ). Les tétraterpènes sont huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les polyterpènes ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub> où n pouvant aller de 9 à 30 (**Hernandez, 2005**). (**Tableau N°04**)

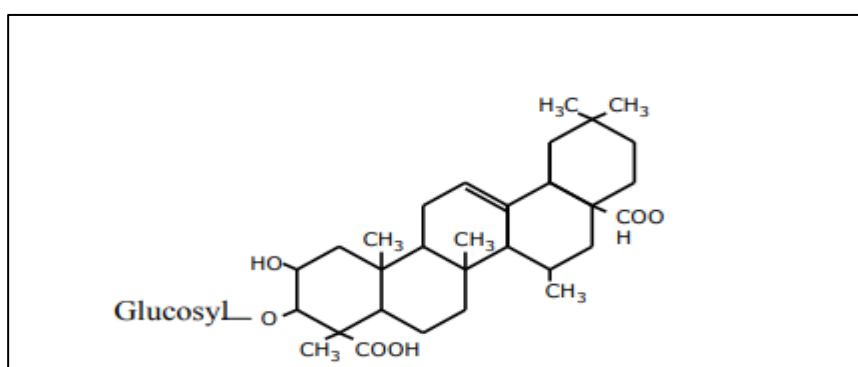
Les terpénoïdes sont très utilisés en raison de leurs qualités aromatiques. Ils interviennent dans les traitements traditionnels à base de plantes et font également l'objet de recherches pour leurs

effets antibactériens, antinéoplasiques ou autres propriétés pharmaceutiques (**Rosnayet *al.*, 2021**)

**Tableau N°04 : Classification** des terpènes en fonction du nombre d'unités isoprène (**Lizelle *et al.*,2011**)

	Number of isoprene units	Number of carbon atoms
Monoterpenes	2	C <sub>10</sub>
Sesquiterpenes	3	C <sub>15</sub>
Diterpenes	4	C <sub>20</sub>
Sesterterpenes	5	C <sub>25</sub>
Triterpenes	6	C <sub>30</sub>
Tetraterpenes	8	C <sub>40</sub>
Polyterpenes	>8	>C <sub>40</sub>

Des études ont montré l'importance d'un autre métabolite secondaire aux propriétés antibactériennes et antifongiques isolé à partir de plantes utilisées en médecine traditionnelle c'est les saponosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former une solution moussante et se caractérisent par leur action tensioactive (réduction de la tension superficielle). La plupart des saponines possède des propriétés hémolytiques, certaines sont des matières premières pour l'hémi-synthèse des molécules médicamenteuse stéroïdiens (**Bouhadjera, 2005**).



**Figure N°06:Structure typique des saponosides (Taleb, 2012)**

Cependant l'extraction de ces métabolites secondaires à partir des plantes nécessite des méthodes conventionnelles et qui sont basées sur l'affinité de la molécule pour différents solvants et l'utilisation du chauffage et/ou de l'agitation. Tels que l'extraction en Soxhlet, la macération, l'hydrodistillation (**Azmir *et al.*, 2013**). Ou l'utilisation des méthodes plus

développées (non-conventionnelles) comme par micro-ondes, par fluides supercritiques, par liquide pressurisés, par champs électriques pulsés ou encore par ultrasons (Azmir *et al.*, 2013).

Dans le but de rechercher l'effet antimicrobien des extraits des plantes, on s'intéresse à une espèce de plante de la famille des Moringaceae, il s'agit de *Moringa oleifera*.

Le *Moringa* appartient à une seule famille d'arbres et d'arbustes, originaire des frontières entre l'Inde, le Pakistan et le Népal, est largement cultivé dans d'autres parties des tropiques de l'ancien et du nouveau monde, notamment l'Asie, l'Afrique et l'Amérique du Sud et Centrale (Ravindra *et al.*, 2016). On le retrouve sur trois continents et dans plus de cinquante Pays tropicaux et subtropicaux à saison sèche marquée, voir en zone aride (Afrique, Arabie, Sud-Est asiatique, Iles du pacifique, Amérique du sud) (Figure N°07). Dans ces pays, il est utilisé comme plante médicinale et alimentaire (Malo, 2014)

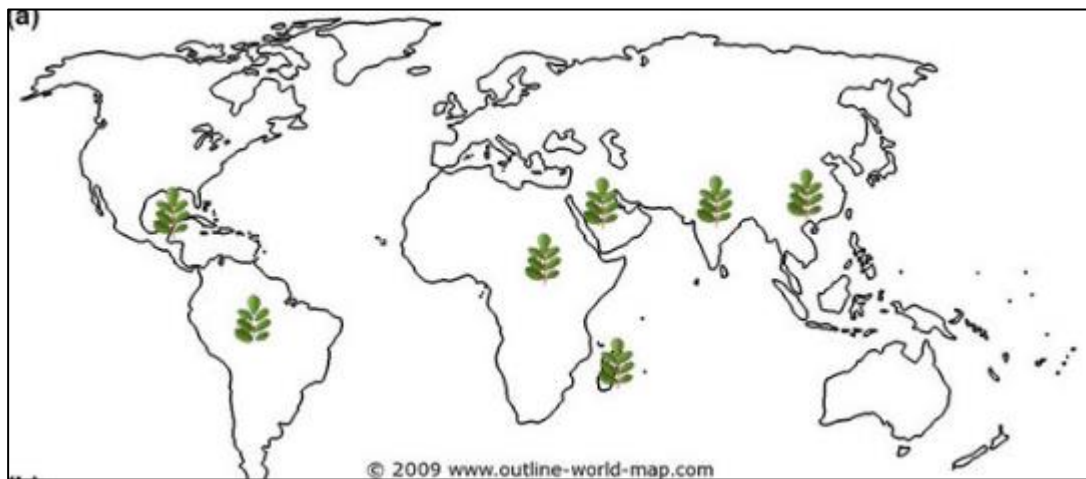


Figure N°07 : Distribution de *Moringa oleifera* dans le monde ( Ramesh *et al.*,2016)

Le nom scientifique de cette plante c'est *Moringa oleifera* et c'est le synonyme de *Moringa parvifolia* Noronha. L'espèce est communément appelée comme il est indiqué dans le Tableau N°05 :



**Tableau N°05** : Quelques noms vernaculaires du *Moringa oliefera* Lam [(**Roloff et al., 2009**) ;(**Navie et Csurhes., 2010**)]

Inde	Anglais	Français	Arabe
<b>Horseradish</b>	Drumstick tree	Ben ailé	Shagara Al Ruwwag
<b>Shajnah</b>	Ben oil tree	Moringa ailé	Habbah Ghaliah
<b>Dumistick</b>	Never die	Mourungue	Rawag

*Moringa oléifera* souvent appelée simplement Moringa, est le seul genre des Moringaceae. Il existe environ 13 espèces dont *M. oléifera* est la plus connue [(**Foidl et al.,2001**) ; (**Tahir Mahmood et al., 2010**) ; (**Hêdji et al., 2014**)]. La systématique de *M. oeifera* est représentée comme suit (**Mishraet al., 2011**) :

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Super Division</b>	Super Division
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Dilleniidae
<b>Ordre</b>	Capparales
<b>Famille</b>	Moringaceae
<b>Genre</b>	Moringa
<b>Espèce</b>	oleifera

Cet arbre a été trouvé à l'état naturel à une altitude de 1 000 mètres (**Figure N°08**) Ça grandit relativement sur les pentes, mais plus commun dans les zones de pâturage et les bassins fluviaux. Il peut atteindre 7 à 12 mètres de

Hauteur, même dans les zones où les précipitations annuelles sont inférieures à 400 mm Le diamètre du tronc varie entre 20 et 40 cm. Le tronc est habituellement droit, mais parfois peu développé (**Foidl et al., 2001**). L'écorce est lisse, à grosse lenticelle, de couleur gris foncé violacé (**Figure N°09**) (**Besse, 1996**). Le bois de *Moringa* est mou, très tendre et souvent attaqué par les termites [(**Besse, 1996**) ; (**Séverin, 2002**)].

Les branches se sont désorganisées et la couronne de l'arbre, forme de parapluie. La structure tubulaire du système racinaire du *Moringa oleifera*, formée par un pivot. Le centre peut s'enfoncer jusqu'à une profondeur de 1,30 mètre, offrant une forte résistance à la sécheresse. La racine secondaire de la racine pivotante centrale est puis se ramifie latéralement jusqu'à la formation des poils épais (**Olson, 2001**).



**Figure N°08:** Arbre de *Moringa oleifera* (**Louni., 2009**).



**Figure N°09:** Le tronc de *Moringa oleifera* (**Roloff et al., 2009**)

Les Feuilles, alternes bi ou tripennée, principalement développées dans la partie terminale de la succursale. Ils mesurent de 20 à 70 cm de long et sont recouverts de duvet gris (**Besse, 1996**). (**Figure N°10**)



**Figure N°10:** Feuilles de *Moringa Oleifera* (Louni., 2009)

Les fleurs mesurent 2,5 cm de large et présentent des panicules axillaires et tombante de 10 à 25 cm. Elles sont généralement riches et dégagent une bonne odeur. Elles sont de couleur blanche ou crème avec des taches jaunes sur le fond. De 5 sépales, symétriques et lancéolés. Cinq pétales, très minces et en forme de cuillère, symétrique à l'exception des pétales inférieurs, entourant cinq étamines (**Figure N°11**). [(**Besse, 1996**) ; (**Roloff et al., 2009**)].



**Figure N°11:** Fleurs de *Moringa oleifera* (Louni., 2009)

Le fruit forme une gousse trilobée, de 20 à 60 cm de long, pendante Branche. Après séchage, ils s'ouvriront en trois parties. Chaque capsule contient 12 à 35 graines (**Figure N°12**).



**Figure N°12 :** Fruits de *Moringa Oleifera* (Justhavealook., 2013).

Les graines sont rondes et ont des enveloppes brunes semi-perméables. Rendu de la coque Trois ailes blanches s'étendent de bas en haut, à 120 degrés l'une de l'autre. Une sorte de l'arbre peut produire 15 000 à 25 000 graines par an. Le poids moyen des graines est de 0,3 gramme, L'enveloppe représente 25 % du poids de la graine (**Figure N°13**) (Makkar et Becker., 1997).



**Figure N°13:** Graines de *Moringa oleifera* (Louni,2009)

Le moringa prospère dans les environnements arides ou semi-arides, mais il peut aussi pousser dans les zones très arides, comme le désert du Sahara, peuvent s'adapter à différents types de sols. Les limites écologiques de *Moringa Oleifera* sont rapportées dans le **Tableau N°06**

**Tableau N°06:** Limites écologiques de *M. oleifera* (Louni,2009).

Caractéristiques	Conditions acceptables	Conditions optimales
<b>Altitude</b>	0 -1500 m	100 – 700 mètres
<b>Température moyenne annuelle</b>	8°C – 45°C	22°C-25°C
<b>Précipitations</b>	100 – 1500 m	700-900 m
<b>Type de sol</b>	Tous sauf les vertisols	Les sols sablonneux ou limoneux bien drainés
<b>pH du sol</b>	4.5 - 8	Neutres à légèrement acide

Le Moringa a suscité un certain intérêt en raison de ses nombreuses applications. À gagner le surnom "arbre miracle" pour certaines personnes. *Moringa oleifera* Lam, est une espèce introduite surtout dans les zones sahariennes-aride d'Algérie (**Tableau N°07**) et plus particulièrement dans la région de Tamanrasset.

**Tableau N°07 :** Les sites d'introduction du Moringa en Algérie (Louni, 2009)

Désignation	Altitude (m)	P(m)	Étage bioclimatique
<b>ADRAR</b>	280	20	Saharien
<b>MOSTAGANEM</b>	130	370	Semi aride chaud
<b>ZERALDA</b>	100	680	Sub humide chaud
<b>JIJEL</b>	15	900	Humide frais
<b>GURBES</b>	50	700	Sub himud chaud
<b>BISKRA</b>	86	140	Aride
<b>BENAKNOU</b>		650	Sub humid chaud
<b>BAIEM(siège INFR)</b>	200	650	Sub himude chaud
<b>TAMANRAST</b>	1440	50	Saharien

Source : rapport interne (INFR) sur l'état d'avancement des travaux d'introduction du moringa.

Grace à sa richesse par ; des minéraux, des protéines, des vitamines...cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle (**Tableau N°08**).

Les graines de *M. oleifera* possèdent un polyélectrolyte cationique qui s'est avéré efficace dans le traitement primaire de l'eau (élimination de la turbidité), en remplaçant le sulfate d'alumine ou d'autres flocculants. Elles sont aussi employées comme polypeptides non toxiques naturels qui assurent la neutralisation des substances colloïdales et provoquent la sédimentation des minéraux et des particules organiques (**Foidl *et al.*, 2001**).

Le *Moringa* dispose d'une grande variété de métabolites secondaires, qui sont considérés comme étant liés à de nombreuses propriétés biologiques connues. Près de 100 molécules ont été identifiées, principalement dans les feuilles et les graines. (**Anouar *et al.*, 2007**).

**Tableau N°08** : La valeur médicinale des différentes parties de *Moringa Oleifera*

<b>Partie de plante</b>	<b>Usages médicinales</b>	<b>Références</b>
<b>Feuilles</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Propriétés antioxydantes,</li> <li>-Permettent de stimuler le système immunitaire,</li> <li>-Appliquées sur la peau en cataplasme pour soigner les plaies,</li> <li>-Employé pour les maux de tête,</li> <li>-Utilisées contre les fièvres, maux de gorge, bronchites, infections des yeux et de l'oreille,</li> <li>-Permet de contrôler la glycémie,</li> <li>- Pour soulager les ulcères gastriques et les diarrhées</li> </ul>	<b>Anwar <i>et al.</i>,2007</b>
<b>Fleur</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Aphrodisiaque.</li> <li>-Abortif.</li> <li>-cholagogue.</li> <li>-Guérir les inflammations,</li> <li>-les maladies musculaires,</li> <li>-l'hystérie et les tumeurs</li> <li>-Traiter les problèmes urinaires car il stimule la miction</li> </ul>	<b>Dhakad <i>et al.</i>,2019</b> <b>Anwar <i>et al.</i>,2007</b>
<b>Gousse</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Protège contre l'oxydation de l'ADN.</li> <li>-Utilisée pour traiter la cataracte.</li> </ul>	<b>Anwar <i>et al.</i>,2007</b> <b>Dhakad <i>et al.</i>,2019</b>

<b>Gomme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Soigner les caries dentaires.</li> <li>-Des propriétés astringentes et analgésiques.</li> <li>-Les troubles intestinaux,</li> <li>-La dysenterie,</li> <li>-L'asthme</li> </ul>	<b>Anwar et al.,2007</b>
<b>Racine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Les rhumatismes,</li> <li>-Les inflammations,</li> <li>-Les douleurs articulaires,</li> <li>-Les douleurs au dos ou aux reins</li> <li>-Lutter contre la constipation.</li> <li>-Soulager les douleurs dentaires.</li> </ul>	<b>Anwar et al.,2007</b> <b>Dhakad et al.,2019</b> <b>Dahot, 1996</b>
<b>Ecorce</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Lutter contre l'épilepsie et la paralysie.</li> <li>-Les infections du tractus urinaires</li> </ul>	<b>Dhakad et al.,2019</b>
<b>Tige</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Soulager les maux d'oreilles.</li> <li>-Activité antituberculeuse</li> </ul>	<b>Anwar et al.,2007</b>
<b>Graine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Effet antibactérien et anti-inflammatoire</li> <li>-Les rhumatismes</li> <li>-Les maladies sexuellement transmissibles et les plaies associées.</li> <li>-Les problèmes urinaires</li> </ul>	<b>Anwar et al.,2007</b> <b>Dhakad et al.,2019</b>

Deuxième partie :

Matériel et méthodes

---



## 1 Matériel biologique

### 1.1 Matériel végétale

L'étude s'est concentrée sur les extraits de feuilles et de grain : l'extrait aqueux, l'extrait hydro-méthanolique et les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de *Moringa oliefera* récolté au Bamako au mois d'Octobre 2019.

### 1.2 Souches bactériennes :

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits, nous avons utilisé des souches bactériennes de référence. Il s'agit de 4 bactéries à Gram positif et 5 bactéries à Gram négatif, obtenues du laboratoire : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique.

**Tableau N°09:** Les bactéries utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

<b>Bactéries à Gram négatif</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
	<i>Citrobacterfreundii</i> ATCC 8090
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659
	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311
<b>Bactéries à Gram positif</b>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452
	<i>Microcoecusluteus</i> ATCC 9341
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313

### 1.3 Matériel non biologique :

- ✚ La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- ✚ La gélose Muller-Hinton pour l'étude de l'activité antibactérienne.
- ✚ Le bouillon Muller-Hinton pour la détermination des CMI.

#### 1.3.1 Antibiotiques utilisés dans cette étude :

Gentamycine (GEN)

## 2 Méthodes :

### 2.1.1 Préparation des extraits à partir des feuilles et des graines de *Moringa oleifera*

Tous les extraits sont récupérés du laboratoire de M<sup>me</sup> BENARIBA N, dont les méthodes d'extractions sont réalisées comme suit :

#### 2.1.2 Extrait aqueux de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera*

##### 2.1.2.1 Décoction :

Elle consiste à faire bouillir sous reflux 10g de poudre de plante *M. oleifera* dans 500 ml d'eau distillée pour 1 heure. Puis on filtre à travers un papier filtre Whatman. Le filtrat est collecté et centrifugé, puis il est soumis à une évaporation à sec dans l'étuve pour obtenir l'extrait aqueux sous forme solide (Idrissa et Benariba.,2019).

#### 2.1.3 Extrait eau-méthanol des feuilles de *Moringa oleifera*

L'extraction a été réalisée par macération de 50 g de la poudre de la plante (*M. oleifera*) dans 500 mL d'un mélange méthanol-eau (20/80, V/V). Le mélange a été agité vigoureusement pendant 3 jours à l'aide d'un agitateur. Le mélange a été centrifugé, la phase hydroalcoolique obtenue a été évaporée à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif pour éliminer le méthanol (Idrissa et Benariba.,2019).

#### 2.1.4 Fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol de feuilles de *Moringa oleifera* :

L'extrait brut eau-méthanol recueilli sous forme sèche a été d'abord solubilisé dans 50 mL d'eau distillée à l'aide d'une ampoule à décanter à laquelle été ajouté deux fois le volume d'une solution aqueuse d'acétate d'éthyle (V/2V). Après décantation, la phase organique obtenue a été évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif.

La phase aqueuse obtenue après fractionnement de l'acétate d'éthyle a été réemployée pour la deuxième extraction liquide-liquide avec du n-butanol (V/2V). La phase organique récupérée est évaporée à sec pour récupérer le produit sous forme de solide (**Idrissa et Benariba.,2019**).

### **2.1.5 Dégraissage des graines de *Moringa oleifera* :**

Les graines de *M. oleifera* sont très riches en lipides, et le dégraissage de ces graines est primordial pour éliminer les lipides avant la préparation des extraits organiques. Cette extraction a été effectuée à l'aide d'un Soxhlet. Un ballon d'extraction contenant 600 ml d'hexane est surmonté d'un Soxhlet qui contient une cartouche de cellulose dans laquelle sont déposés 120 g de graines écrasées. Le composant a été extrait pendant 3 heures. La solution d'hexane récupérée a été évaporée à sec dans un évaporateur rotatif pour récupérer les huiles non volatiles (**Idrissa et Benariba.,2019**).

### **2.1.6 Extrait eau-méthanol des graines dégraissées de *Moringa oleifera* :**

Mélanger 100 g de graines dégraissées avec 600 ml de solvant eau-méthanol (20/80) dans un bécher de 1000 ml, le mélange est mis à macération pendant 4 jours à température ambiante. Après filtration, la solution résultante a été évaporée à sec (**Idrissa et Benariba.,2019**).

## **2.2 Évaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera* :**

L'activité antimicrobienne des extraits aqueux et hydro-méthanoliques de *Moringa oleifera* est évaluée par deux méthodes *in vitro* : une méthode qualitative ; il s'agit de la diffusion sur gélose et l'autre quantitative, c'est la micro-dilution pour la détermination des CMI et CMB

### **2.3 La méthode de diffusion sur gélose :**

Décrite par **CLSI. (2010)** et modifiée par **Adida H et al. (2014)** et **Chan et al. (2007)** qui est basé sur la diffusion d'extraits à séparer du disque imprégné et déposé sur le milieu solide pour former des zones circulaires claires sans colonies appelée zones d'inhibitions.

#### **2.3.1 Préparation des solutions des extraits :**

0.2g d'extraits hydro-méthanoliques et d'extrait aqueux ont été dissouts dans un 1 ml de diméthyle sulfoxyde (DMSO).

### 2.3.2 Préparation de suspensions bactériennes :

Les tests sont réalisés sur des colonies jeunes de 18 à 24 heures en phase exponentielle de croissance. Chaque souche est transformée en une suspension bactérienne dans de l'eau physiologique 0.85%. La suspension bactérienne est ajustée à 0,5 Mc Farland, ce qui correspond à  $1-2 \times 10^8$  UFC/ml (D.O = 0,08 à 0,13 / $\lambda$  = 625 nm)

### 2.3.3 Ensemencement des boîtes

L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Nous avons trempé un écouvillon sec stérile dans l'inoculum, tout en pressant fermement sur la paroi interne du tube pour éliminer l'excès d'inoculum et nous l'avons ensemencé sur la totalité de la surface gélosée de Muller Hinton, de haut en bas avec une répétition de trois fois, en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois,

### 2.3.4 Dépôt des disques

À l'aide de pinces stériles, nous avons placé les disques imprégnés des extraits à testés. D'autres disques imprégnés de DMSO sont utilisés comme contrôle négatif. La gentamicine a été utilisée comme control positif.

### 2.3.5 Incubation

Placer les boîtes de pétri à température ambiante pendant 15 minutes, puis les retournées et incubées à 37 °C pendant 18-24 heures à l'étuve. Le diamètre des zones d'inhibition autour des disques est mesuré au moyen d'une règle graduée.

Selon **Lee et al. (2007)**, l'intervalle des diamètres des zones d'inhibition s'explique comme suit

- Diamètre  $\leq 6,4$  mm  $\rightarrow$  pas d'activité antibactérienne ;
- $6,5 \leq$  Diamètre  $\leq 6,9$  mm  $\rightarrow$  activité antibactérienne faible ;
- $7 \leq$  Diamètre  $\leq 7,9$  mm  $\rightarrow$  activité antibactérienne moyenne ;
- Diamètre  $\geq 8$  mm  $\rightarrow$  bonne activité antibactérienne.

## 2.4 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est en général la concentration la plus faible susceptible d'inhiber toute croissance visible après l'incubation. La technique de micro-dilution dans des microplaques à 96 puits est la méthode la plus utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice.

Le test est réalisé selon les recommandations de **CLSI (CLSI M07-A8, 2010)**, et des modifications par **Adida et al. (2014)**.

En premier lieu, nous avons commencé par l'ajustement de la concentration de toutes les bactéries à 0,5 McFarland (correspond à  $10^8$  cellules/ml). Les extraits sont préparés dans le bouillon Mueller Hinton à des concentrations décroissantes allant de **50** à **0,09** mg/ml dans les puits des microplaques (La concentration du DMSO ne dépasse pas 2% dans le premier puits). La première colonne des puits représente le contrôle négatif, rempli que par le bouillon Muller Hinton, tandis que la dernière colonne des puits est marquée comme le contrôle positif rempli que par que la suspension bactérienne. 180  $\mu$ L de chaque concentration de chaque extrait sont déposés dans chaque puits, après nous avons ajouté 20  $\mu$ L de l'inoculum pour avoir une concentration finale de  $5 \cdot 10^4$  cellules/ml. Les microplaques sont incubées à 37° pendant 24 heures. La CMI de chaque extrait est déterminée par une inspection visuelle des fonds des puits, la croissance bactérienne est indiquée par la présence d'une pelote blanche au fond du puits.

#### **2.4.1 Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB)**

La CMB est la plus faible concentration capable de tuer 99,9% des bactéries, sa détermination est confirmée par la technique de spot sur milieu gélosé, après une incubation à 37°C pendant 24 heures.

Troisième partie :

Résultats et interprétation

---

## 1 Activité antibactérienne

### 1.1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé

Les diamètres des zones d'inhibitions des différents extraits vis-à-vis les différentes souches testées sont regroupées dans le **Tableau N°10**.

-Les résultats montrent que toutes les souches bactériennes étudiées sont sensibles à la gentamicine à part *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 qui est résistante.

-Pour l'extrait hydro-méthanolique de graine :

- ✚ *Bacillus cereus* montré la plus grande sensibilité parce qu'elle a donné la plus large zone d'inhibition avec un diamètre égale à 16.5mm
- ✚ *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* ne présentent aucune activité

-Pour les extraits de feuille :

- ✚ Toutes les souches bactériennes se révèlent résistantes à l'exception d'*Escherichia coli* qui présente une faible activité avec une zone d'inhibition de 7 mm pour les deux extraits (hydro-méthanolique, la fraction acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol)

**Tableau N°10:** Diamètre des zones d'inhibition des différents extraits (en mm).

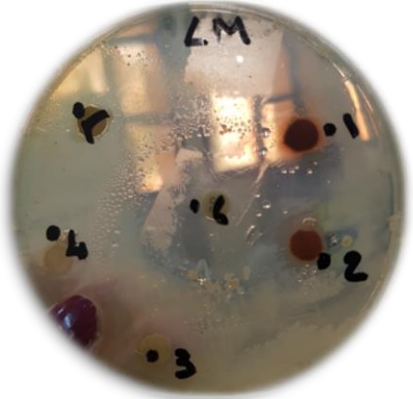
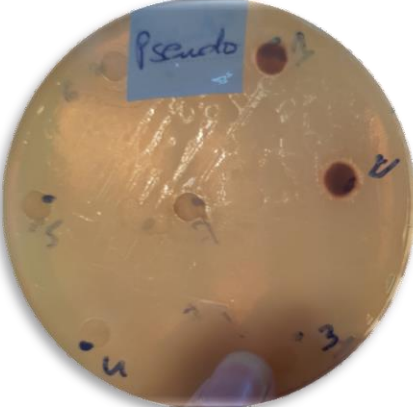
	Extraits des graines	Extraits des feuilles			GEN
	Eau-méthanol	Aqueux	Eau-méthanol	Fraction n-butanol de Eau/Méthanol	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	16.5	R	R	R	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	7.6	R	7	7	32
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	R	R	R	R	R
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10.6	R	R	R	28
<i>Microcoecus luteus</i> ATCC 9341	14	R	R	R	26
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	14	R	R	R	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	11	R	R	R	25
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	12	R	R	R	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	R	R	R	R	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	-	-	-	-	-


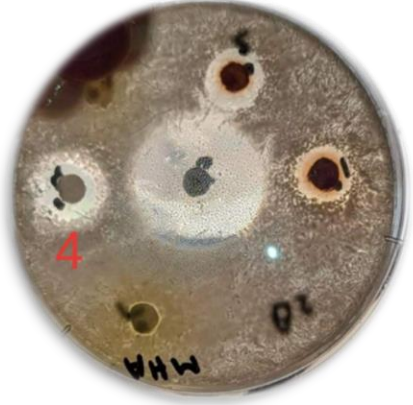
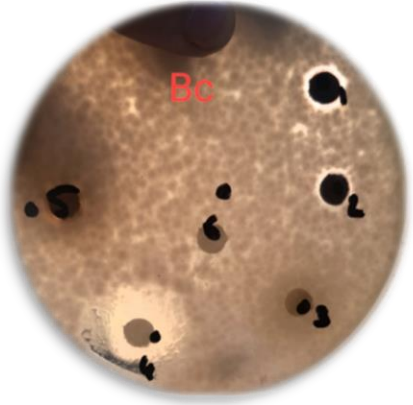
**R** : bactérie résistante (-) bactéries non testé

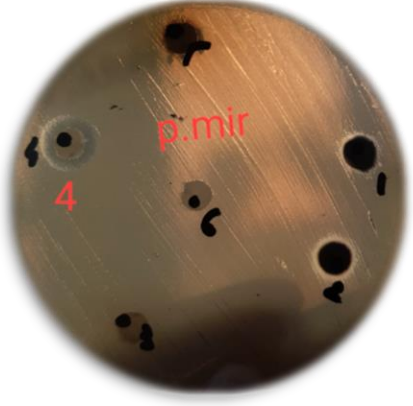
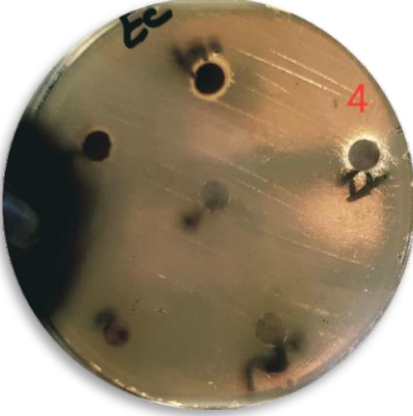
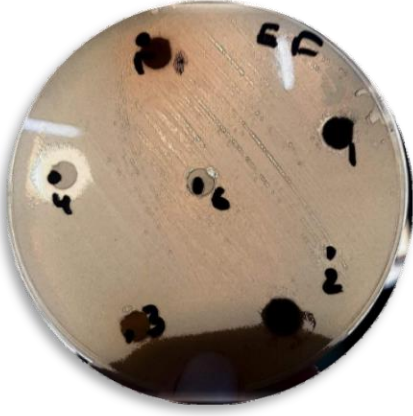


Les résultats présentés dans les figures du **tableau N°11**, montrent que les extraits hydro-méthanolique de graine (disque N°04) de *M. oleifera* testés ont des effets inhibiteurs contre toutes les bactéries avec des zones d'inhibition allant de **7 à 16,50 mm**, sauf pour *Listeria monocytogenes* , *Pseudomonas aeruginosa* qui sont résistantes. En ce qui concerne l'extrait hydro-méthanolique de feuille (disqueN°05) n'a pas montré d'effet inhibiteur presque sur toutes les bactéries sauf pour *Escherichia coli*. L'extrait aqueux de feuille (disqueN°03) n'a montré aucune activité vis-à-vis les souches testées.

**Tableau N°11:** Effet antibactérien des extraits de feuilles et des graines de *Moringa oleifera* vis-à-vis les différentes bactéries testées

Souches	Résultats de la méthode des disques
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	

<p><i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311</p>	
<p><i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633</p>	
<p><i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633</p>	

<p><i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659</p>	
<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 8739</p>	
<p><i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452</p>	

### 1.2. Méthode de micro-dilution en milieu liquide :

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de nos extraits sont variables selon les souches bactériennes testées.

Les résultats des CMI et CMB des deux extraits testés vis-à-vis les différentes souches bactériennes sont regroupés dans le **Tableau N°12** :

✚ Pour l'extrait hydro-méthanolique des feuilles :

*Enterococcus faecalis* présente la CMI la plus importante, qui est de l'ordre de 0.19 mg/mL suivie par *Microcoecus luteuset Proteus mirabilis* qui avaient une CMI de 0.78 mg /mL,

✚ Pour l'extrait hydro-méthanolique de graines :

L'extrait hydro-méthanolique présente les meilleures CMI vis-à-vis toutes les souches bactériennes, allant de 0.39 mg/mL à 3.12 mg/mL.

**Tableau N°12:** Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des différents extraits exprimées en mg/mL

	Les extraits de la plante			
	De feuilles	De graine	De feuilles	De graine
	Eau-méthanol	Eau-méthanol	Eau-méthanol	Eau-méthanol
	CMI		CMB	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	/	3.12	/	12.5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	/	0.39	/	3.12
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	1.56	0.39	12.5	3.12
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	/	1.56	/	12.5
<i>Microcoecus luteus</i> ATCC 9341	0.78	0.39	6.25	3.12
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	0.19	0.78	1.56	6.25
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	/	0.78	/	6.25
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	0.78	0.78	6.25	6.25

(/) pas de CMI

Dans cette étude, les rapports CMB/CMI des extraits de *M. oleifera* sont compris entre :

- ✚ 4 et 8.01. Pour l'extrait des graines
- ✚ 8 et 8.2 pour l'extrait eau-méthanol des feuilles vis-à-vis *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Microcoecus luteus*, *Enterococcus faecalis* et *Proteus mirabilis*

Les extraits des graines et des feuilles semblent donc exercer une action bactériostatique contre toutes souches bactériennes de la présente étude (Adida *et al.*, 2014) (Tableau N°13).

Tableau N°3: Le rapport CMB/CMI des différents extraits

	Extrait de plante			
	Extrait de graine Eau-méthanol		Extrait de feuille Eau-méthanol	
	CMB/CMI	EFFET	CMB/CMI	EFFET
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 6633	/	Bactériostatique	<b>4</b>	Bactériostatique
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	/	Bactériostatique	<b>8</b>	/
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	<b>8.01</b>	Bactériostatique	<b>8</b>	Bactériostatique
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	/	Bactériostatique	<b>8.01</b>	/
<i>Microcoecus luteus</i> ATCC 9341	<b>8.01</b>	Bactériostatique	<b>8</b>	Bactériostatique
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	<b>8.21</b>	Bactériostatique	<b>8.01</b>	Bactériostatique
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	/	Bactériostatique	<b>8.01</b>	/
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	<b>8.01</b>	Bactériostatique	<b>8.01</b>	Bactériostatique

**Quatrième partie :**

**Discussion**

---

D'après les recherches effectuées, il a été constaté que la *M. oleifera* est utilisée pour traiter une variété d'affections allant de toutes les formes d'infections microbiennes (**Aneyet al.,2009**).

Dans cette étude la sensibilité des souches bactériennes aux extraits de *M. oleifera* peut être un indice de son potentiel en tant que plante médicinale, qui pourrait être utilisé contre certaines souches bactériennes sensibles.

En outre, la résistance aux antibactériens, en particulier certaines bactéries à Gram négatif, est une question importante qui a créé des problèmes dans le traitement des maladies infectieuses et qui nécessite un traitement plus efficace (**Khosravi et al., 2006**). La différence dans la réponse bactérienne était possible en raison de la nature des espèces bactériennes. Il est à noter que l'extrait méthanolique des graines de *M. oleifera* a montré un effet antibactérien contre les bactéries à Gram positif et négatif.

Le milieu d'extraction de graine de *M. oleifera* semble avoir un impact sur la puissance des principes actifs puisque l'extrait de méthanol a produit des zones d'inhibitions plus larges de 7 à 16.5 mm et des concentrations minimales inhibitrices plus intéressantes, contrairement aux extraits des feuilles, dont presque toutes les bactéries sont résistantes. À l'exception de l'extrait hydro-méthanolique et les fractions acétate d'éthyle et n-butanol de l'extrait eau-méthanol de feuilles de *Moringa oleifera* qui ont montré une faible activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli*.

Par ailleurs, cette sensibilité varie d'une souche bactérienne à l'autre au regard des CMI déterminées. La souche la plus sensible est celle qui présente les CMI les plus basses, qui permet de faire une classification par ordre de sensibilité croissante selon la CMI. *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Microcoecus luteus* (CMI = 0.39 mg/mL) c'est avéré les plus sensibles, puis : *Enterococcus faecalis*, *Mirabilis Protes* (CMI=0.78 mg/mL) suivent par *Bacillus subtilis* (CMI=1.56 mg/mL) et *Bacillus cereus* (CMI=3.12mg/mL) pour l'extrait hydro-méthanolique des graines.

Pour l'extrait hydro-méthanolique des feuilles : *Enterococcus faecalis* (CMI = 0.19mg/ml) semble la plus sensible, suivi par *Microcoecus luteus*, *Proteus mirabilis* (CMI=0.78 mg/ml) et *Listeria monocytogenes* (CMI=1.56 mg/mL).

D'après les résultats obtenus et selon cette classification, le rapport CMB/CMI des extraits testés est supérieur à 4 ce qui leur confère un pouvoir bactériostatique, quand ce rapport est inférieur à 4, l'extrait est qualifié de bactéricide (**Eberlin, 1994**).



Ces résultats sont en concordance avec celui rapporté par **Bello et al. (2016)** qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de graine par méthode de diffusion en puits d'agar contre, *Escherichia coli*. Les résultats ont rapporté que l'extrait de graine méthanolique avait la plus forte activité contre *Escherichia coli* à des concentrations de 200 mg/mL avec une zone d'inhibition de 18 mm, contrairement au résultat de *Pseudomonas aeruginosa* qui a montré une zone d'inhibition de 20 mm et dans notre étude elle semble sans activité (résistante).

**Lucía et ses collaborateurs en (2018)** en utilisant la méthode de diffusion par puits, qui ont montré que les extraits méthanoliques de *M. oleifera* avaient un effet antibactérien contre *E. faecalis* par une zone d'inhibition égale à 32 mm. D'autres résultats obtenus par **Priya (2011)** a montré que les extraits méthanoliques de graine possèdent une activité sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* avec des zone d'inhibitions de 12mm,18 mm respectivement.

**Bukaret ses collaborateurs en (2010)**, ont signalé que l'extrait éthanolique des graines de *Moringa oleifera* était actif sur deux isolats bactériens sur *E. coli* (07 mm) et *Salmonella typhimurium* (10 mm). Ce résultat est en accord avec nos résultats et les résultats menés par **Laret al. (2011)** qui ont constaté que les extraits méthanoliques sont plus efficaces par rapport aux extraits éthanoliques.

L'efficacité antimicrobienne des graines de *Moringa oleifera* est attribuée à l'huile qu'elles contiennent. Quand elle est consommée forme un film mince sur la paroi intestinale ce qui réduit ou empêche les agents pathogènes de traverser les parois intestinales (**Nwosu et Okafor., 1995**). Certains chercheurs ont également montré que l'activité antibactérienne des graines de *Moringa oleifera* est liée à une gomme contenue dans la graine (**Harristoyet al.,2005**). D'autres travaux ont montré que l'activité antibactérienne est liée à la présence de divers composants phytochimiques tels que les saponines, les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les glycosides dans la graine (**Nepolean et al., 2009**).

Les mécanismes d'action de ces constituants ont été prouvés via des perturbations des membranes cellulaires des bactéries (**Esimone et al., 2006**).

Selon **Dahot (1998)**, les extraits de *Moringa oleiferae* comportent de petits peptides qui pourraient jouer un rôle majeur dans l'effet antimicrobien. On pense que les protéines ou les peptides participent au mécanisme de défense contre les micro-organismes en inhibant la croissance des micro-organismes par le biais de divers mécanismes moléculaires, comme la liaison à la chitine ou l'augmentation de la perméabilité des membranes ou de la paroi cellulaire (**Chuanget al., 2007**). Cela induit à une déstabilisation des membranes, sachant que les

bactéries sont tuées par la fuite du contenu cytoplasmique, la modification de la perméabilité des membranes la déstabilisation de la distribution des lipides, l'entrée de peptides et le blocage des composants anioniques de la cellule ou le déclenchement d'enzymes autolytiques (**Zasloff, 2002**). Une autre stratégie utilisée par les plantes pour prévenir les envahisseurs est basée sur la production localisée de métabolites secondaires antimicrobiens de faible poids moléculaire connus sous le nom de phytoalexines (**Dahot, 1998**).

L'extrait des graines était le plus efficace contre les bactéries à Gram positif par rapport à leur activité contre les bactéries à Gram négatif. Cette constatation était en accord de celui obtenu par **Saadabi et al. (2011)** qui a indiqué que l'extrait était plus efficace contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif,

Et cette sensibilité différentielle des bactéries à Gram positif et à Gram négatif aux extraits de plantes peut s'expliquer par les différences morphologiques entre ces micro-organismes. Les bactéries Gram à négatif possèdent une membrane phospholipidique externe qui porte les composants structurels du lipopolysaccharide imperméable aux solutés lipophiles, tandis que les porines constituent une barrière sélective aux solutés hydrophiles avec une limite d'exclusion d'environ 600 Da. Les bactéries à Gram positif devraient être plus sensibles puisqu'elles n'ont qu'une seule couche externe de peptidoglycane, qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (**Benedicte, 2016**).

Des résultats obtenus par **Dahot (1998) et Priya (2011)**, ont rapporté que les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles de *M. oleifera* ayant une activité antibactérienne contre *E. coli*. Avec des zones d'inhibitions de 17mm, 18 mm respectivement.

Ces résultats suggèrent la nécessité d'autres études sur les extraits des feuilles de *M.oleifera*, car leur activité contre les bactéries étudiés est en désaccord avec les travaux [(**Aiyegoro et al., 2008**) ; (**Ashafaet et al., 2009**)].

Cette différence pourrait être attribuée à l'influence de divers facteurs propre à la plante (les facteurs génétiques liés au cultivar, le degré de maturation, l'âge des graines et des feuilles, la composition, ... etc.), les conditions climatiques et environnementales, méthodes d'extraction et de dosage (type de solvant et sa concentration, méthodes et température d'extraction, ...) des extraits [(**Avallone et al., 1997**) ; (**Makkar, 2003**) ; (**Telliet et al., 2010**)].

Les activités bactériostatiques des extraits de *M. oleifera* contre ces organismes pathogènes ont été établies. Cette plante pourrait donc enrichir le réservoir d'herbes et d'arbustes à partir

desquels les industries pharmaceutiques modernes peuvent s'approvisionner. Et peuvent également soulager les symptômes de certaines maladies infectieuses.

Cinquième partie :

Conclusion générale

---

Cette étude a été menée pour démontrer l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des graines de *M. oleifera* qui pourrait potentiellement servir à traiter les maladies d'infection bactérienne qui sont devenues plus résistantes à la plupart des antibiotiques communément utilisés pour le traitement. L'incidence croissante de la résistance des micro-organismes aux agents antimicrobiens conventionnels est une source de préoccupation à l'échelle mondiale. Même si l'antibiotique conventionnel (gentamycine) utilisé dans cette étude a montré plus d'effet contre les pathogènes en termes de zones d'inhibitions ; les extraits de plantes, en particulier l'extrait hydro-méthanolique, qui ont également montré des zones d'inhibitions comparables. Ainsi, l'utilisation de cette plante sera d'un grand potentiel en termes de coût, d'accessibilité, de disponibilité et d'effets sur la santé associés au médicament synthétique.

En perspective, il serait fort intéressant d'approfondir cette étude par une expérience *in vivo* et de s'en assurer de l'innocuité totale chez un modèle animal de choix. L'efficacité peut être améliorée par exemple en testant différentes méthodes d'extraction pour augmenter la concentration des composants chimiques actifs.

# Références bibliographiques

---

1. **Adamczyk B., Kitunen V., Smolander A. (2013).** Response of soil C and N transformations to condensed tannins and different organic N-condensed tannin complexes. *Applied Soil Ecology*. 64 : 163-170.
2. **Adida H., Frioui E., Djaziri R., Mezouar D. (2014).** *In vitro* antibacterial activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria. *Int J. Biol. Chem. Sci.* 8(5): 2095-2108.
3. **Aires A., Marques E., Carvalho R., Rosa E. A. S. and Saavedra M. J. (2013).** Evaluation of biological value and appraisal of polyphenols and glucosinolates from organic baby-leaf salads as antioxidants and antimicrobials against important human pathogenic bacteria. *Molecules*. 18: 4651- 4668.
4. **Aiyegoro O.A., Akinpelu, D.A., Afolayan, A.J. and Okoh, A.L. (2008).** Antibacterial activities of crude stem bark extracts of *Distemonathus benthamianus* Baill. *Journal of Biological Science*. 8(2): 356-361.
5. **Alhakmani F., Kumar S. and Alam Khan S. (2013).** Estimation of Total Phenolic Content, *In- Vitro* Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3 (8): 623-627
6. **Aney J.S., Rashmi T., Maushumi K., Kiran B. (2009).** Pharmacological and pharmaceutical potential of *Moringa oleifera*: A review. *Journal of Pharmacy Research*. 2(9):1424-1426.
7. **Anwar F., Ashraf M., Bhangar M.I. (2005).** Interprovince variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. *J Am Oil Chem Soc*82: 45–51.
8. **Anwar F., Latif S., Ashraf M., Gilani A.H. (2007).** *Moringa oleifera*: A Food Plant with multiple Medicinal Uses. *Phytother. Res.* 21, 17–25
9. **Ashafa A.O.T., Afolayan A.J. (2009).** Screening the root extracts from *Biden Pilosa* L.var. radiata (Asteraceae) for antimicrobial potentials *Journals of Medicinal Plant Research*. 3(8):568-572.
10. **Avallone R., Plessi M., Baraldi M., Monzani A. (1997).** Determination of Chemical Composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins. *Journal of food composition and analysis*, 10: 166–172.
11. **Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M. (2013).** Techniques for extraction Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 17 : 426-436

12. **Balasuriya B. W. N., Rupasinghe H. P. V. (2011).** Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension. *Functional Foods in Health and Disease* 5:172-188.
13. **Bello S.A and Jamiu, A.T (2016).** Antibacterial Activity of *Moringaoleifera* Seed Extracts on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus*. *Nigerian Journal of Microbiology* 31(1): 3873-3881
14. **Sanogo Idrissa S. A., Benariba Nabila. (2019).** Mémoire de fin d'étude. Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits de *Moringa oleifera* de la région de Bomako au Mali. Mémoire de fin d'étude en biochimie appliquée. Université Aboubakar Belkadi. Tlemcen.
15. **Berche P. (2018).** L'évolution du concept d'agent infectieux The evolution of the concept of infectious agent. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 202(2) : 1379-1391.
16. **Besse F. (1996).** L'Arbre du mois. *Moringa oleifera Lam.* Le flamboyant – *Bulletin de liaison des membres du réseau Arbres tropicaux* ,40 : 5.
17. **Bouhadjera K. (2005).** Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana R.Br.* et *Aristidiapungens L.* Thèse de Doctorat en chimie organique appliqué. Université Aboubakar Belkadi, Tlemcen. Algérie. 143 p.
18. **Bruneton, J. (1993)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2e édition, Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 915 p.
19. **Bukar A., Uba A., Oyeyi T.I. (2010).** Antimicrobial profile of *Moringa oleifera lam.* extracts against some food – borne microorganisms. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences* 3(1): 43 – 48.
20. **Cannas S., Molicotti P., Usai D., Maxia A., Zanetti S. (2014).** Antifungal, antibiofilm and adhesion activity of the essential oil of *Myrtus communis L.* Against *Candida* species. *Natural Product Research*. 28 (23): 2173 – 2177.
21. **Chae S. C., Lee J., Park S. U. (2013).** Recent studies on flavonoids and their antioxidant activities. *EXCLI Journal* 12: 225-230.
22. **Chuang P., Lee C., Chou J., Murugan M., Shieh B., Chen H. (2007).** Antifungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera Lam.* *Bioresources Technology*, 98: 232-236.



23. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M2-A9. (2010).** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, 9th ed., CLSI, Wayen, PA.
24. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), M07-A8. (2010).** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eighth Edition.
25. **Cossart H., Bierne P. (2014).** Des microbes à l'attaque du noyau. Pour la science, Société Pour la Science 2014, 437 :46-53.
26. **Dahot M.U. (1998).** Antimicrobial activity of Small Protein of Moringa oleifera leaves. Journal of Islamic World Academy of Sciences, 11(1): 27-32.
27. **Daglia M (2011).** Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology, 23:1-8.
28. **Dhakad A.K., Ikram S., Sharma S., Khan V.V., Pandey A., Singh. (2019).** Biological, nutritional, and therapeutic significance of Moringa oleifera Lam. Phytother. Res. 33 (11): 2870-290.
29. **Dewick P.M. (2009).** Medicinal natural products - a biosynthetic approach. 3rd edition., Wiley (Ed). Chippenham, Great Britain, 539 p.
30. **Dóka O., Ficzek G., Bicanic D., Spruijtc R., Luterotti S., Tóth M., Buijnsters G. J. and Végvári G. (2011).** Direct photothermal techniques for rapid quantification of total anthocyanin content in sour cherry cultivars. Talanta 84: 341–346.
31. **Dong W.H. and Kim J. (2013).** Dietary flavonoid intake and risk of stomach and colorectal cancer. World Journal Gastroenterol 19 (7) : 1011-1019.
32. **Éberlin T (1994).** Les antibiotiques Classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. Nathan. Paris. 88p.
33. **Elzaawely A.A., Xuan TD and Tawata S (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of Rumex japonicus HOUTT, aerial parts. Biol Pharm Bull 28: 2225—2230.
34. **Esimone C.O., Iroha I.R., Ibezim E.C., Okeh C.O. and Okpana E.M. (2006).** In vitro evaluation of the interaction between tea extracts and penicillin G against Staphylococcus aureus. African Journal of Biotechnology, 5 (11): 1082-1086.
35. **Evans B.E., Rittle K.E., Bock M.G., DiPardo R.M., Freidinger R.M., Whitter, W.L., Lundell G.F., Veber D.F., Anderson P.S., Chang R.S.L., Lotti V.J., Cerino D.J., Chen T.B., Kling P.J., Kunkel K.A., Springer J.P. and Hirshfield, J (1988).** Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. J. Med. Chem, 31, 2235-2246.

36. **Foidl N., Makkar H.P.S., et Becker K. (2001).** Potentiel de *Moringa Oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du *Moringa*. 29 octobre – 2 novembre 2001. Dar Salaam, Tanzania.
37. **Gurib-Fakim A. (2006).** Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Asp. Med.* 27, 1-93.
38. **Harborne J.B. (1998).** *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* London, UK: Chapman & Hall.
39. **Harristoy X., Fahey J., Scholtus I. and Lozniewski A. (2005).** Evaluation of antimicrobial effects of several isothiocyanates on *Helicobacter pylori*. *Plantamedica*, 71 : 326- 330.
40. **Hêdji C., Gangbazo K. D. N.S., Houinato M. R. et Fiogbé E. D. (2014).** Valorisation de *Azolla spp*, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en Alimentation animale : synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences.* 81 :7277–7289.
41. **Hernandez Ochoa, L.R.(2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine "solvant/actif" d'origine végétale.
42. **Jash S. K and Brahmachari G. (2013).** Recent progress in the research of naturally occurring flavonoids: A look through. *Signpost Open Access J Org Biomol Chem.* 1: 65-168.
43. **Khosravi A.D. and Behzadi A. (2006).** Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of *Quercus brantii* on some gram-negative bacteria. *Pakistan Journal of Medical Science.* 22(4):429-432.
44. **Lar P.M., Ojile E.E., Dashe E. and Oluoma J.N. (2011).** The antibacterial activity of *Moringa oleifera* seed extracts on some gram-negative bacterial isolates. *African Journal of Natural Sciences* 14 :57 – 62
45. **Larry M, Bush. (2020).** Présentation des maladies infectieuses. *Le manuel msd.* Disponible sur <https://www.msdmanuals.com/fr>
46. **Lizelle T, Fox M. G. (2011).** Transdermal Drug Delivery Enhancement by Compounds of Natural Origin. *Molecules* .16(12) :10507-10540
47. **Louni S. (2009).** Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach.
48. **Lucia A.H., Miguel Á., Néstor C.S., Juana D. V. (2018).** Antibacterial and Cytotoxic Effects of *Moringa oleifera* (*Moringa*) and *Azadirachta indica* (*Neem*)

- Methanolic Extracts against Strains of *Enterococcus faecalis*. International Journal of Dentistry. 2018. 1-5.
- 49. Mahieu V. D. (2020).** Dévalement des antibiotiques. Les essentiels en médecine intensive et réanimation. Elsevier, p 664
- 50. Makkar H. P. S. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research. 49: 241-256.
- 51. Makkar H.P.S. et BECKER K. (1997).** Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the Moringa oleifera tree. Journal of Agricultural Science, Cambridge 128 : 311-322.
- 52. Malo T. (2014).** Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de Moringa oleifera Local et Moringa oleifera PKM-1 dans la Région des Cascades (Burkina Faso). Mémoire de fin De cycle Institut du Developpemet Rural Université Polytechnique de Bobo –Dioulasso.
- 53. MAMECHE A. (2020).** Pharmacologie générales antibiotiques. *Mystidia*. Disponible sur <https://mystidia.com>.
- 54. MARTIN S., ANDRIANTSITOHAINA R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie. (51), 304-315.
- 55. Mishra G., Singh P., Verma R., Kumar S., Srivastav S., Jha K. K., et Khosa R. L. (2011).** Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of Moringa oleifera plant. An overview der Pharmacia letter. 3 (2): 141-164.
- 56. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., and Jimenez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr 79: 727-747.
- 57. Muthu C., Ayyanar M., Raja N. and Ignacimuthu S. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu. India. J. Ethnobiol. Ethnomed. 2 : 43p.
- 58. Navie S., et Csurhes S. (2010).** Horseradish tree Moringa oleifera.
- 59. Nepolean P., Anitha J. and Emilin R. (2009).** Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of Moringa oleifera Lam. Current Biotica. 3:33-39.
- 60. Nwosu M. and Okafor J. (1995).** Preliminary studies on antifungal activities of some medicinal plants against *Basidiobolus* and some other pathogenic fungi. Mycoses .38:191-195.

61. **Okuda T. and Ito H. (2011).** Tannins of constant structure in medicinal and food plants. hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules* 16: 2191-2217.
62. **Olson M.E., et Carlquist S. 2001.** Stem and root anatomical correlations with life form diversity, ecology, and systematics in *Moringa* (Moringaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 135 (4) : 315–348.
63. **Perez. (2009).** La grippe booste la recherche sur les maladies infectieuses. *Les Echos*. Disponible sur : <https://www.lesechos.fr>.
64. **Pincemail J., Degruné F., Voussure S., Malherbe C., Paquot N., Defraigne J O. (2007).** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition Clinique et metabolism*, 21: 66–75.
65. **Priya V, P., Abiramasundari S., Gayathri Devi and G.P. Jeyanthi. (2011).** Antibacterial Activity of the Leaves, Bark, Seed and Flesh of *Moringa Oleifera*. 2(8): 2045-2049
66. **Ravindra C., Joshi B., Vasantharaj D., Rashmi K. (2016).** A review of the insect and mitepests of *Moringa oleifera* Lam. *Agriculture for Development*.
67. **Roloff A., Weisgerber H., Lang U., et Stimm B. (2009).** *Moringa oleifera* Lam 1785. *Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie*
68. **Rosnay. (2021).** Terpénoïdes. *Futura science*. Disponible sur : <https://www.futura-sciences.com>.
69. **Saadabi A. M., & Abu, Z. A. I. (2011).** *in vitro* antimicrobial activity of *Moringa oleifera* L. seed extracts against different groups of microorganisms. *Asian J. Basic Appl. Sci*, 5, 129-134.
70. **Saini R., Kumar and Sivanesan., Iyyakkannu and Keum., Young-Soo. (2016).** Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance
71. **Sardi J.C., Almeida A.M. & Mendes Giannini M.J. (2011).** New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites a brief review. *Archives of Oral Biology*; 56 (10): 951 – 59.
72. **Scherrer A.M., Motti r. & Weckerle C.S. (2005).** Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1) : 129 – 43

- 73. Sekkoum K. (2011).** Composition phytochimique et effet, in vitro, des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat en chimie. Université El Djillali. Sidi Bel Abbès
- 74. Sereme A., Millogo-Rasolodimby J., Guinko S. and Nacro M. (2010).** Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du Burkina Faso. *Journal des Sciences*. 10 (2) : 24-32.
- 75. Séverin F. (2002).** *Plant akpye Bwa tè d’Ayiti* ; Éditions Quitel de Desk Top Advisory ; 143p.
- 76. Shears P. T. (2006).** Les maladies d’origine bactérienne. *Sonafi*. Disponible sur <https://www.antibio-responsable.fr>.
- 77. Singleton p. (2004).** Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies : Sciences sup, 6<sup>e</sup> Ed. Dunod. 542p
- 78. SMAOUI S. (2010).** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie, Toulouse : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).
- 79. Sreelatha S. and Padm R. (2009).** Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. In *Plant foods human nutrition*. 64: 303-311.
- 80. TABUTI J.R., LYE K.A. & DHILLION S. (2003).** Traditional herba drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*; 88 (1): 19–44.
- 81. Taguri T, Tanaka T and Kouno I (2006).** Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biol Pharm Bull*, 29(11), 2226—2235.
- 82. TEIXEIRA DA SILVA J. A. (2004).** Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol.* 3: 706-720.
- 83. Telli M., Guiral E., Martínez J. A., Almela M., Bosch J., Vila J., et Soto S. M. (2010).** Prévalence of enterotoxins among *Escherichia coli* isolates causing bacteraemia. *FEMS Microbiology Letters* 306 (2): 117–121.
- 84. Tenover F, C. (2006).** Mechanisms of antimicrobial resistance in Bacteria. *The American journal of medicine*, 3-10.
- 85. Thanina A.C. (2015).** Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l’activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée. Université Aboubakar Belkadi. Tlemcen.

- 86. Veyssiere A. (2020).** La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires état des lieux en 2019. *Sciences du Vivant*. Disponible sur <https://dumas.ccsd.cnrs.fr>.
- 87. Walsh C. (2003).** Antibiotics: actions, origins, resistance. USA: Amer Society for Microbiology.
- 88. Xie J., Lin Y. S., Shi X. J., Zhu X. Y., Su W. K. and Wang P. (2013).** Mechanochemical-assisted extraction of flavonoids from bamboo) *Phyllostachys edulis*) leaves. *Industrial Crops and Products* 43: 276-282.
- 89. Zasloff M. (2002).** Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415(6870): 389-39.
- 90. Zgurskay Helen, L. B. (2015).** Permeability barrier of Gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infectious Diseases*, 1 (11), pp. 512–522.