



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Boussoufa Nazha

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES

Spécialité: microbiologie appliquée

THÈME

**Effet des extraits de
Moringa oleifera sur les isolats des
staphylocoques à coagulase négative**

Soutenue publiquement le 02/07/2018

DEVANT LE JURY

Président	REGUIG YASSAD Hocine.A	Pr	U. Mostaganem
Examineurs	CHADLI Rabah	Pr	U. Mostaganem
Encadreur	DJIBAOUI Rachid	Pr	U. Mostaganem
Co-encadreur	LATTAB Aicha	Dr	U. Mostaganem

Dédicaces

*A mes très chers parents qui ont toujours
été là pour moi, et qui m'ont encouragé et
soutenu pendant mes études.*

*A mon cher frère Iyess et mes chères
sœurs Sara et Imene*

A toutes ma famille.

A tous mes collègues et mes amies.

A tous ceux que j'aime.

Narha

REMERCIEMENTS

En premier, je tiens à remercier mon «DIEU», le très puissant, qui m'a donné la santé et le courage pour aller au bout de cette étude.

Je tiens particulièrement à remercier le **Pr. DJIBAOUI Rachid** qui, par sa grande compétence scientifique, ses précieux conseils et son implication assidue m'a aidé et soutenu tout au long de ce travail. Je le remercie très sincèrement pour son immense disponibilité, son dynamisme et son écoute constante, attentive et constructive.

Et je remercie aussi les membres de jury, le président **Pr. REGUIG YASSAD Hocine.A** et l'examineur **Pr. CHADLI Rabah**.

J'exprime toute ma gratitude au professeur **MEKHALDI Abdelkader**, Directeur du laboratoire de Microbiologie et biologie végétale de l'université de Mostaganem.

Je remercie vivement mon Co-encadreur **M^{elle} LATTAB Aicha** qui m'a aidé et soutenu tout au long de ce travail et pour ces conseils et informations scientifiques.

Je remercie étroitement mon cher père et ma chère mère de m'avoir toujours soutenue et encouragée durant toutes ces années.

Je tiens à remercier les membres du laboratoire de l'université de Mostaganem.

Je tiens à remercier aussi tous qui m'ont aidé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

الملخص

لطالما اعتبرت المكورات العنقودية السالبة coagulase من البكتيريا التي لا تحمل أي إمراضية وهي لا تتعدى أن تكون ملوثات بسيطة لا تحمل خطرا . أما في الوقت الحالي فقد اتضح أنها من البكتيريا الانتهازية الممرضة.

واستنادا إلى العديد من الأعمال العلمية الخاصة بفوائد نبات البان *Moringa oleifera* الغذائية والطبية والصيدلانية قمنا بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا لعدة مستخلصات أوراق شجرة هذا النبات وهي مستخلص العصير الطازج و مستخلص الأوراق المنقوعة و مستخلص الأوراق المغلية و مستخلص خلات الإيثيل و مستخلص البوتانول و مستخلص الإيثانول. حيث درس تأثيرها ضد عشرة عزلات سريرية من المكورات العنقودية السالبة coagulase .

وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها، يبدو أن المستخلصات المختبرة من نبات *M.oleifera* أظهرت خصائص مضادة للبكتيريا متفاوتة ضد عزلات المكورات العنقودية المدروسة. فقد سجلنا قدرة تثبيط عالية بمستخلص خلات الإيثيل ومتوسطة بالنسبة لمستخلصات البوتانول و الأوراق المنقوعة والمغلية أما قدرة التثبيط للمستخلص الإيثانولي فقد كانت ضعيفة على هذه البكتيريا .

تتراوح قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) التي سجلت مع المستخلصات المدروسة من 12.5 إلى 25% (v/v) لمستخلص العصير الطازج و من 0.23 mg/ml إلى 0.93 mg/ml و من 6.25 mg/ml إلى 50 mg/ml لمستخلصات خلات الإيثيل و البيتانول على التوالي و من 3.12% إلى 12.5% لمستخلص الأوراق المنقوعة .

الكلمات الرئيسية: المكورات العنقودية السالبة coagulase ، البان *Moringa oleifera*، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Les staphylocoques à coagulase négative ont été considérés longtemps comme dépourvus de pouvoir pathogène et comme de simples contaminants de prélèvements défectueux. Aujourd'hui ils sont des bactéries opportunistes potentiellement pathogènes.

Sur la base de plusieurs travaux scientifique sur l'intérêt nutritionnel, medical et pharmaceutique de *Moringa oleifera* nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits obtenus de la plante *Moringa oleifera* (extrait de jus frais, extrait d'infusion, extrait de décoction, extrait d'acétate d'éthyle, extrait butanolique et extrait éthanolique) contre dix isolats cliniques des SCN.

Selon les résultats obtenus, il ressort que les extraits testés de la plante *M. oleifera* ont présenté des propriétés antibactériennes variables contre les isolats testés des SCN. Nous avons enregistré une activité élevée de l'extrait d'acétate d'éthyle et moyenne par l'extrait butanolique, l'extrait par décoction et l'extrait par infusion. L'extrait éthanolique à monter une faible activité vis-à-vis les SCN.

Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) enregistrées par les extraits étudiés varient de 12.5 à 25 % (v/v) pour l'extrait de jus frais, de 0.23mg/ml à 0.93mg/ml et de 6.25mg/ml à 50mg/ml pour les fractions d'acétate d'éthyle et butanolique respectivement et de 3.12% à 12.5% pour l'extrait d'infusion.

Mots clés : SCN, *Moringa oleifera*, Activité antibactérienne.

Abstract

Coagulase-negative staphylococci have long been regarded as devoid of pathogenicity and as simple contaminants of defective specimens. Today they are opportunistic bacteria potentially pathogenic.

On the basis of several scientific works on the nutritional, medical and pharmaceutical interest of *Moringa oleifera*, we investigated the antibacterial activity of extracts obtained from the plant *Moringa oleifera* (fresh juice extract, infusion extract, decoction extract, ethyl acetate extract, butanolic extract and ethanolic extract) against ten clinical isolates of SCN.

According to our results, it appears that the tested extracts of the *M. oleifera* plant showed variable antibacterial properties against the tested SCN isolates. We noticed a high activity for ethyl acetate extract and medium for butanolic extract, decoction and infusion extract but low for ethanolic extract.

The minimum inhibitory concentration (MIC) values recorded by the extracts studied vary from 12,5% to 25% (v/v) for the fresh juice extract, from 0,23mg/ml to 0,93mg/ml and from 6,25mg/ml to 50mg/ml for the ethyl acetate and butanol fractions respectively and from 3,12% to 12,5% for the infusion extract.

Key words: SCN, *Moringa oleifera*, Antibacterial activity.

TABLE DE MATIÈRES

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus* à coagulase négative

I.1. Définition du Genre <i>Staphylocoques</i>	3
I.2. <i>Staphylocoques</i> à Coagulase Négative.....	3
I.2.1. Généralité.....	3
I.2.2. Pouvoir pathogène.....	4
I.2.3. Les mécanismes de pathogénéicité chez les <i>staphylocoques</i> à coagulas négative..	5
A) les enzymes.....	5
B) les toxines.....	6
C) Autre mécanismes.....	7
I.2.4. Infections des <i>staphylocoques</i> à coagulas négative.....	9
I.2.4.1. Bactériurie asymptomatique.....	9
I.2.4.2. Infection urinaire basse.....	9
I.2.4.3. Prostatite.....	9
I.2.4.4. Pyélonéphrite.....	10
I.2.4.5. Infection urinaire à SCN et matériel étranger.....	10
I.2.4.6. Les infections nosocomiales des <i>staphylocoques</i> à coagulase négative.....	11

Chapitre II : lutte contre les pathogènes par des plantes médicinales

II.1. Phytothérapie.....	13
II.2. Plante médicinale.....	13
II.3. Le potentiel antimicrobien des plantes médicinales.....	14
II.3.1. Les composés phénoliques.....	14
II.3.1.1. Flavonoïdes.....	14
II.3.1.2. Tanins.....	15
II.3.1.3. Coumarines.....	16
II.3.2. Les composés terpéniques.....	17
II.3.2.1. Stéroïdes, stérols et terpénoïdes.....	17

II.3.2.2. Saponosides.....	17
II.3.2.3. Huiles essentielles.....	18
II.3.3. Alcaloïdes.....	19
II.4. Présentations des différents modes d'extraction.....	19
II.4.1. Méthodes d'Extraction Traditionnelles.....	19
II.4.1.1. Infusion.....	20
II.4.1.2. Décoction.....	20
II.4.1.3. Macération.....	20
II.4.1.4. Distillation.....	21
II.4.2. Méthodes d'extraction modernes et nécessité de la «Chimie Verte».....	21

Chapitre III : Description et intérêt de plante *Moringa.oleifera*

III.1.Définition.....	23
III.2. Classification.....	23
III.3.Description botanique.....	24
III.4.Intérêts de <i>Moringa oleifera</i>	25
III.4.1.Intérêt nutritionnelle.....	25
III.4.2. Intérêt économique.....	29
III.4.3.Intérêt médicinaal.....	30
III.4.4. Intérêt industrielle.....	31

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes.....	34
I.1. Isolats bactériens.....	34
I.1.1. Identification confirmative des isolats.....	34

I.1.1.1. Etude microscopique.....	34
I.1.1.2. Production d'oxydase.....	34
I.1.1.3. Production de catalase.....	34
I.1.1.4. Test de coagulase.....	34
I.1.2. Conservation des souches.....	35
I.1.3. Etude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques.....	35
I. 2. Activité antibactérienne des extraits de plante <i>M. oleifera</i> contre les isolats.....	36
I.2.1. Matériel végétal.....	36
I.2.1.1. Préparations des extraits.....	37
I.2.1.1.1. Extrait brut des feuilles de <i>M. oleifera</i> (jus frais de <i>M. oleifera</i>).....	37
I.2.1.1.6. Décoction.....	37
I.2.1.1.5. Infusion.....	37
I.2.1.1.2. Extraction éthanolique.....	38
I.2.1.1.3. Extraction hydro-méthanolique.....	38
I.2.1.1.4. Extraction par l'acétate d'éthyle et le butanol.....	39
I.2.1.2. Rendement d'extraction.....	40
I.2.2. Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i>	40
I.2.2.1. L'effet antibactérien par la méthode de diffusion par disque.....	40
I.2.2.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	41
I.2.2.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	42

Chapitre II : Résultats et discussion

II. Résultats et Discussion.....	43
II.1. Identification confirmative des isolats.....	43
II.2. Etude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques.....	43
II.5. Le taux d'humidité de <i>M. oleifera</i>	46

II.6. Activité antibactérienne et effet des extraits de plantes de <i>M. oleifera</i> contre les SCN.....	46
II.6.1. Extraction.....	46
II.6.1.1. Rendement d'extraction.....	46
II.6.2 Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i>.....	47
II.6.2.1. L'effet antibactérien par la méthode de diffusion en milieu gélosé.....	47
II.6.2.2. Détermination de La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition chimique des feuilles séchées de Moringa(<i>M. oleifera</i>).....	26
Tableau 2 : Composition en acides aminés des feuilles séchées de Moringa (<i>M. oleifera</i>)....	26
Tableau 3 : Teneur en minéraux des feuilles séchées de Moringa (<i>M. oleifera</i>).....	27
Tableau 4 : Composition en acides gras des feuilles séchées de Moringa (<i>M. oleifera</i>).....	27
Tableau 5 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.....	35
Tableau 6 : Résultats d'identification partielle des isolats.....	43
Tableau 7 : Susceptibilité des isolats des SCN vers des antibiotiques testés (Les diamètre des zones d'inhibition en mm).....	45
Tableau 8 : Activité antibactérienne (Zones d'inhibition en mm) de différents extraits préparés à partir de <i>M. oleifera</i>	48
Tableau 9 : Valeurs des paramètres antibactériens (CMI et CMB) des différents extraits testé sur les souches étudiées de SCN.....	53

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Observation en microscopie électronique à balayage du versant interne d'une sonde en double J après une durée d'implantation de 32 jours.....	8
Figure 2 : Les feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	24
Figure 3: Les fleurs de <i>M. oleifera</i>	24
Figure 4: Les graines de <i>Moringa oleifera</i>	25
Figure 5 : Arbre de <i>Moringa peregrina</i>	33
Figure 6 : les fleurs de <i>Moringa peregrina</i>	33
Figure 7: Récolte de <i>M. oleifera</i> dans la wilaya de Ghardaïa.....	36
Figure 8 : Ecrasement des Feuilles fraîches de <i>M. oleifera</i>	37
Figure 9 : Extraction éthanolique par soxhlet.....	38
Figure 10: Etapes Principales réaliser dans la préparation de l'extrait hydro-méthanolique...39	39
Figure 11 : Séparation de la fraction d'acétate d'éthyle.....	39
Figure 12 : Séparation de la fraction de n-butanol.....	40
Figure 13 : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide par la technique de microdilution en microplaque.....	42
Figure 14 : Sensibilité des SCN testé aux antibiotiques testés.....	44
Figure 15 : Le taux d'humidité de <i>M. oleifera</i>	46
Figure 16 : Activité antibactérienne des extraits préparer contre <i>SCN</i> testé.....	48
Figure 17 : Activité antibactérienne des extraits préparer contre <i>S. cohini</i> testé.....	49
Figure 18 : La CMI de l'extrait butanolique des feuilles de <i>M. oleifera</i>	51
Figure 19 : La CMI de l'extrait d'infusion des feuilles de <i>M. oleifera</i>	51
Figure 20 : La CMB de l'extrait butanolique des feuilles de <i>M. oleifera</i> pour les isolats <i>S1</i> et <i>S2</i>	52

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

CA-SFM : Société Française de Microbiologie

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Da: Dalton

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines

GN : Gélose nutritive

IOA : Infections ostéo-articulaires

LDL: Low density lipoprotein

***M.oliefera* :** *Moringa oliefera*

MH : Mueller-Hinton

NNIS : National Nosocomial Infections Surveillance

SCN : Staphylococcus à coagulase ngative

SE : Enterotoxine staphylococcique (A ou B ou C ou D)

UFC : Unité Formant Colonie

VLDL: Very low density lipoprotein

Introduction

Introduction

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires, présentes parmi la flore résidente de la peau de l'homme et des animaux et de façon transitoire dans les autres flores. Morphologiquement, ce sont des cocci à Gram positif, groupés en amas (d'où l'origine de leur nom «*staphyle*» qui désigne la grappe de raisin en grec). Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont des commensaux de la peau et des muqueuses humaines. Ils ont été décrits pour la première fois en 1884 par Rodenbach comme *Staphylococcus albus*. Les SCN sont ainsi appelés pour leur incapacité à produire la coagulase, une enzyme qui provoque la coagulation du plasma sanguin par opposition aux Staphylocoques à coagulase positive chez qui l'expression d'une activité enzymatique coagulase est un critère phénotypique majeur. Les SCN ont longtemps été considérés comme dépourvus de pouvoir pathogène et comme de simples contaminants de prélèvements défectueux. Aujourd'hui il est clair qu'au moins deux espèces, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, sont des bactéries opportunistes potentiellement pathogènes.

Les infections nosocomiales sont produites par des agents pathogènes infectieux qui se développent au sein d'un hôpital ou d'autres centres de soins de santé et qui sont acquis par les patients lors de leur passage dans ces institutions. Selon l'étude du NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) portant sur la période 1986-1989, les SCN représentent 9% des bactéries responsables d'infections nosocomiales, tous sites confondus. Ils sont également responsables de 4% des infections urinaires d'origine nosocomiale (Uesugi *et al.*, 1996).

Pendant de nombreuses années, il est bien connu que les plantes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour prévenir ou guérir les maladies infectieuses. Cependant, au cours des dernières années, de nombreuses études de recherche ont signalé les propriétés des extraits de plantes pour lutter contre les agents pathogènes en les éradiquant ou en inhibant les mécanismes de leur virulence sous l'effet des différents mécanismes du système d'adaptation (Kalia, 2013).

Le but de cette étude était d'examiner l'effet des différents extraits de plante de *Moringa oleifera* sur la croissance des dix isolats cliniques des SCN. Le choix de plante ayant fait l'objet de cette étude est basé sur une recherche bibliographique puis une enquête ethno pharmacologique auprès de la population ayant connaissance de leur usage en médecine traditionnelle.

Moringa oleifera appartient à une famille mono générique d'arbres et arbustes, les Moringacées. Son origine est l'Inde, au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya. Cet arbre se rencontre à l'état naturel jusqu'à 1000 m d'altitude, il pousse rapidement, jusqu'à 6 ou 7 mètres en un an, même dans des zones recevant moins de 400 mm de précipitations annuelles (Foidl *et al.*, 2001).

La stratégie suivie durant cette étude comprend les étapes suivantes :

- L'identification confirmative des isolats de SCN.
- L'étude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques.
- Préparations des différents extraits à partir de plante de *M. oleifera*
- Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de la plante avec la détermination de la CMI et la CMB.

Les résultats présentés sont discutés et comparés avec d'autres études.

Enfin, le manuscrit est achevé par une conclusion qui permettra de résumer les résultats trouvés intéressants et de tirer quelques perspectives.

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les Staphylococcus à coagulase négative

I.1. Définition du Genre *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires, présentent dans la flore résidente de la peau de l'homme et des animaux et de façon transitoire dans les autres flores. Morphologiquement, ce sont des cocci à Gram positif, groupés en amas (d'où l'origine de leur nom « *staphyle* » qui désigne la grappe de raisin en grec). Certaines de ces espèces sont rencontrées chez l'homme et l'animal (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*), d'autres espèces sont rencontrées plus particulièrement chez l'homme (*S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. lugdunensis*) ou plus souvent chez l'animal (*S. caprae*, *S. pseudintermedius*...).

Les staphylocoques sont des germes peu exigeants, ils ont un métabolisme aérobie-anaérobie facultatif et se cultivent facilement sur les milieux usuels de laboratoire à 37°C. Ils présentent une activité catalase, ce qui les différencie du genre *Streptococcus*.

Les staphylocoques sont classiquement divisés en deux catégories :

- Ceux produisant une coagulase libre : *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. schleiferi*... (attention à *S. lugdunensis* qui possède une coagulase liée).
- Ceux n'en produisant pas : ils sont appelés staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) ou *Staphylococcus non aureus*. (Tang *et al.*, 2008 ; De Bel *et al.*, 2013 ; Pantuceket *al.*, 2013).

I.2. Staphylocoques à Coagulase Négative

I.2.1. Généralité

Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont des commensaux de la peau et des muqueuses humaines. Ils ont été décrits pour la première fois en 1884 par Rodenbach comme *Staphylococcus albus*. Les SCN appartiennent au genre *Staphylococcus* et sont ainsi appelés pour leur incapacité à produire de la coagulase, une enzyme qui provoque la coagulation du plasma sanguin par opposition aux Staphylocoques à coagulase positive chez qui l'expression d'une activité enzymatique coagulase est un critère phénotypique majeur. Les SCN regroupent une cinquantaine d'espèces. Mais de nouvelles espèces isolées à partir d'échantillons cliniques humains, sont récemment d'écrites comme des SCN. Il s'agit de *S. jettensis*, *S. massiliensis*, *S. petrasii*, *S. pettenkoferi*, *S. pseudolugdunensis* (Tang *et al.*, 2008 ; De Bel *et al.*, 2013 ; Pantuceket *al.*, 2013).

Ces microorganismes constituent un groupe très hétérogène en termes de patrimoine génétique, de facteur de virulence, de capacité à accumuler les mécanismes de résistance.

I.2.2. Pouvoir pathogène

Les staphylocoques à coagulase négative ont été considérés longtemps comme dépourvus de pouvoir pathogène et comme de simples contaminants de prélèvements défectueux. Aujourd'hui il est clair qu'au moins deux espèces, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*, sont des bactéries opportunistes potentiellement pathogènes. Trois principaux facteurs favorisent ces infections : l'immunodépression, l'antibiorésistance et la présence de matériel étranger dans l'organisme humain. Ces SCN peuvent être responsables de bactériémies, d'endocardites, d'IOA, de méningites post-opératoires ou sur du matériel de dérivation, de conjonctivites et d'endophtalmies.... (Widerstrom *et al.*, 2006).

Les SCN ont la capacité de survivre dans l'environnement de l'unité de soins intensifs sur les dispositifs médicaux ou du matériel médical pendant des semaines à des mois (Neely et Maley, 2000). Chez les nouveaux-nés, leur propagation est bien étudiée et ils sont le principal agent responsable des septicémies en Néonatalogie. Les bactériémies, liée ou non à une infection sur cathéter (Wisplinghoff *et al.*, 2004 ; Luzzaro *et al.*, 2011), et les endocardites associées à des matériels implantés (Prothèse valvulaire, pacemaker, défibrillateur implantable) (Benito *et al.*, 2007 ; Murdoch *et al.*, 2009) sont les deux types d'infections nosocomiales associées aux soins au cours desquels les SCN sont les plus souvent isolés, à égalité de fréquence avec *S. aureus*. D'autre part, les infections liées aux port de cathéters de longue durée chez les patients des services d'oncologie représentent une problématique émergente (Lebeaux *et al.*, 2012). Les SCN sont couramment en cause dans les infections post-opératoires en chirurgie cardiaque (Lepelletier *et al.*, 2005), en chirurgie orthopédique (Sheehy *et al.*, 2010) et en neuro-chirurgie (Korinek *et al.*, 2005). En milieu hospitalier, la colonisation des patients et le personnel hospitalier par un *S. epidermidis* résistant aux antibiotiques précède l'infection par ces microorganismes (Widerstrom *et al.*, 2006).

S. epidermidis est le plus fréquent des SCN identifié dans les prélèvements humains, il possède des facteurs d'adhérence et de production de biofilm (Chessa *et al.*, 2016). Cette capacité permet de coloniser des surfaces telles que des cathéters, prothèses et de le disséminer secondairement. D'autres espèces ont été reportées dans la littérature comme pouvant être

pathogènes, c'est le cas de *S. caprae* (Allignet *et al.*, 1999) et *S. lugdunensis* (Sampathkumar *et al.*, 2000). En effet, *S. lugdunensis* peut être responsable d'infections sévères locales (infections cutanées ou IOA) ou systémiques (endocardites) de manière similaire aux infections à *S. aureus* (Sampathkumar *et al.*, 2000). Par exemple, la plus grande série de cas d'IOA à *S. lugdunensis* fait état de 28 épisodes infectieux chez 22 patients sur une période de 9 ans à la *Mayo Clinic* (Etats-Unis) (Shah *et al.*, 2010). *S. capraea* été décrit comme responsable d'IOA, d'endocardites et d'infections urinaires (Vandenesch *et al.*, 1995 ; Allignet *et al.*, 1999). Quant à *S. capitis*, certains auteurs l'ont identifié comme responsable de bactériémies (Cui *et al.*, 2013) et d'IOA sur matériel (Tevell *et al.*, 2015).

I.2.3. Les mécanismes de pathogénicité chez les staphylocoques à coagulas négative

A) Les enzymes

➤ Hyaluronidase

La hyaluronidase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acide hyaluronique qui cimente ou lie les tissus conjonctifs. Ils sont également connus comme facteur d'étalement car une fois que les tissus sont cassés, ils peuvent facilement se répandre dans les tissus et provoquer une infection et cette fonction contribue également aux attributs virulents de SCN (Lambe *et al.*, 1990).

➤ Thermonucléase

La TNase hydrolyse l'ARN et l'ADN simple et double brin à la position 5'des liaisons phosphodiester par un mécanisme dépendant du calcium. Cette enzyme est connue pour décomposer ou détruire les acides nucléiques et ceci contribue également à la virulence de ces bactéries (Lambe *et al.*, 1990).

S. simulans avec une fréquence de 22,0% avait la fréquence la plus élevée d'isolats produisant l'enzyme thermonucléase (TNase) par rapport à *S. epidermidis* (7,8%), *S. kloosii* (7%), *S. xylosus* (11,2%) et *S. caprae* (15,0%) (Lambe *et al.*, 1990).

➤ **Désoxyribonucléase**

Les souches de *S. caprae* présentait le pourcentage le plus élevé de producteurs de désoxyribonucléase (DNase) avec 92,3%. ainsi que 75,8% souches de *S. epidermidis* produisent cette enzyme avec 82,1% des souches de *S. kloosii*, 77,8% des souches de *S. xylosus* et 78,0% des souches de *S. simulans* (Lambe *et al.*, 1990).

➤ **Fibrinolysine ou staphylokinase**

Cette enzyme est un activateur du plasminogène (action semblable à celle de la streptokinase), agissant sur le plasma humain et de lapin. Cette activité est mise en évidence sur des plaques de gélose contenant de la fibrine (zone d'éclaircissement). Cette substance thermolabile est antigénique. Elle dissout les caillots et pourrait jouer un rôle dans la formation d'embolies septiques (Monteil *et al.*, 1992).

➤ **Lipase**

80 % des souches des staphylocoques produisent cette enzyme qui semble constituer un facteur de virulence dans les abcès où, en modifiant les lipides bactériens, elles favorisent la survie des staphylocoques (Marie Chorie., 2003)

➤ **Sécrétion de pénicillinases**

Aujourd'hui près de 90 % des souches de staphylocoques isolées en milieu hospitalier et en milieu extrahospitaliers résistent à la pénicilline G par production de pénicillinases qui ouvrent le cycle bêta-lactame de la molécule et inactivent l'antibiotique. Ces pénicillinases sont extracellulaires, inductibles et généralement codées par des plasmides (Monteil *et al.*, 1992).

B) Les toxines

➤ **Enterotoxines**

Elles sont responsables d'intoxications alimentaires et sont caractérisées par leur masse moléculaire comprise entre 27 800 et 34 100 daltons, leur point iso-électrique et leur sérotypie. Elles sont au nombre de 7 : A, B, C, D et E. Les sérotypes A, B et D sont les plus fréquents dans les intoxications alimentaires. Certaines de ces enterotoxines ont un effet mitogène sur les lymphocytes T. Certaines (*EntB*) sont des protéines plus thermostables que les autres. Elles résistent aux enzymes protéolytiques (Monteil *et al.*, 1992).

Les enterotoxines parmi les facteurs de virulence des staphylocoques, sont capables d'hyper stimuler le système immunitaire de l'hôte. De telles caractéristiques peuvent bénéficier aux bactéries à la fois pendant le stade d'interaction parasite-hôte et dans l'environnement. Ils sont impliqués dans des maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde, l'eczéma et le syndrome du choc toxique. Les enterotoxines sont également considérées comme la principale cause d'intoxication alimentaire. Ils sont associés à une forme de gastro-entérite se manifestant cliniquement par des vomissements, avec ou sans diarrhée, résultant de l'ingestion d'une ou plusieurs enterotoxines staphylococciques contenues dans des aliments contaminés par ces bactéries. La majorité des espèces de SCN produisent la toxine SEA par rapport aux autres enterotoxines. *S. epidermidis* et *S. caprae* sont les producteurs de toxines SEA les plus élevés, tandis que *S. xylosus* et *S. caprae* sont les producteurs prédominants des enterotoxines SEB, SEC et SED. Les maladies staphylococciques transmises par les aliments, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des enterotoxines, sont les deuxièmes types de maladies d'origine alimentaire les plus fréquemment signalés (Reyes *et al.*, 2010).

➤ Hémolysines

Les hémolysines sont des facteurs importants de virulence bactérienne. Les staphylocoques à coagulas positive (*S. aureus*) produisent quatre hémolysines: α , β , γ et δ , qui sont bien connues et largement caractérisées, y compris le mécanisme de leur action et leur cytotoxicité (Dinges *et al.*, 2000 ; Foster, 2002). Ces hémolysines sont également appelées toxines ou lysines. Seules des espèces particulières des staphylocoques à coagulas négative (SCN) produisent des hémolysines α et β , alors que l'hémolysine γ n'est pas produite. L' α -toxine a été détectée chez *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* et *S. saprophyticus* par Molnar *et al.* (1994), et la β -toxine a été détectée chez *S. schleiferi* par Hebert (1990). Dans le groupe des SNC, la δ -hémolysine est produite par la majorité des espèces: *S. capitis*, *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. xylosus* et autres. L'action de la δ -hémolysine contre les érythrocytes dépend de sa concentration. À de faibles concentrations, cette hémolysine forme des pores dans la bicouche lipidique après interaction avec la membrane d'une cellule. À des concentrations plus élevées, la δ -hémolysine agit comme un agent tensio-actif qui provoque une solubilisation de type détergent de la membrane érythrocytaire. La δ -hémolysine est capable de lyser non seulement les érythrocytes, mais aussi d'autres cellules de mammifères, ainsi que les structures subcellulaires, telles que les organelles membranaires (Verdon *et al.*, 2009).

➤ **Leucocidine**

La leucocidine de Panton Valentine détruit très spécifiquement les polynucléaires et les macrophages de l'homme et du lapin. La leucocidine purifiée, provoque une dermonécrose chez le lapin. L'effet toxique sur les leucocytes serait dû à une modification de la perméabilité cationique (Monteil *et al.*, 1992).

C) Autres mécanismes

➤ **L'organisation en biofilms et la production de «slime»**

Les bactéries présentent naturellement une tendance générale à l'adhésion aux surfaces. Les micro-colonies bactériennes adhèrent ainsi aux biomatériaux. Elles réalisent en quelques heures un agrégat inclus dans une matrice polysaccharidique appelée biofilms (Characklis *et al.*, 1990) (Figure 1). C'est une stratégie dont elles tirent profit en se réfugiant à l'abri des agresseurs dans une zone de concentration idéale en matériel énergétique. De même, cette organisation confère aux bactéries une protection accrue en diminuant l'action des antibiotiques, avec de lourdes conséquences en matière de risque nosocomial. Le «slime» est une substance visqueuse extracellulaire «glucuronoconjuguée» produite par *S. aureus* et certains SCN (Christensen, 1982 ; Patrick, 1990 ; Geme *et al.*, 1991). Plusieurs études montrent que le «slime» permet aux SCN d'adhérer aux surfaces lisses comme celles des cathéters. Le «slime» semble inhiber le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles, ce qui diminue la phagocytose. Il aurait d'autres effets sur la réponse immunitaire en interférant au niveau de la sécrétion de lymphokines par les lymphocytes T (Grayl *et al.*, 1987). Ces propriétés dues au «slime» pourraient caractériser les souches nosocomiales et permettraient la distinction entre simples contaminants et isolants potentiellement pathogènes (Alain *et al.*, 1998).

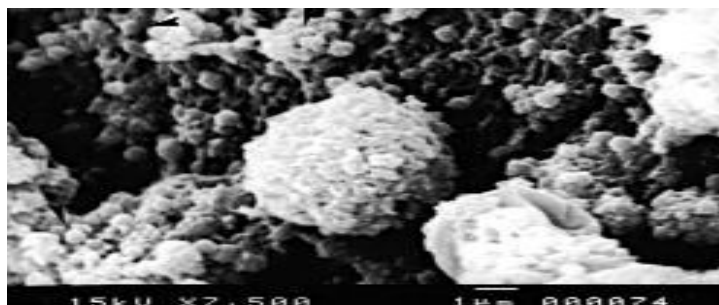


Figure 1 : Observation en microscopie électronique à balayage du versant interne d'une sonde en double J après une durée d'implantation de 32 jours. Malgré un ECBU stérile lors de l'ablation, on observe des micro-agrégats de *S. epidermidis* au sein d'un glycocalyx (X 7500) (Alain *et al.*, 1998).

➤ **Les plasmides de résistance aux antibiotiques (ou facteurs R)**

Les plasmides portent des gènes qui confèrent aux bactéries la résistance à divers antibiotiques. Contrairement à la résistance conférée par une mutation chromosomique, la résistance conférée par un plasmide peut concerner des antibiotiques appartenant à plusieurs familles si le plasmide porte plusieurs gènes de résistance. La résistance codée par les gènes plasmidiques est souvent liée à la production d'enzymes qui inactivent les antibiotiques. Par exemple des plasmides de résistance très fréquents chez les staphylocoques portent un gène qui code pour la production d'une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et les pénicillines du groupe A (ampicilline) ce qui rend la bactérie résistante à ces pénicillines. Les gènes peuvent être organisés dans le plasmide au sein de transposons (Marie Chorie., 2003)

I.2.4. Infections des staphylocoques à coagulas négative

I.2.4.1. Bactériurie asymptomatique

Les SCN sont responsables de bactériuries asymptomatiques chez l'homme âgé en institution dans 2% des cas et, une fois sur deux, il s'agit de *S. epidermidis* (Mims *et al.*, 1990). Par contre, *S. epidermidis* ne semble pas être impliqué dans les bactériuries asymptomatiques chez la femme âgée (Boscia *et al.*, 1986). Ces bactériuries, souvent intermittentes et de résolution spontanée, sont dues à des bactéries à Gram positif retrouvées dans l'urètre antérieur et habituellement considérées comme non pathogènes (Meares, 1990).

I.2.4.2. Infection urinaire basse

S. saprophyticus est la principale espèce responsable d'infections urinaires symptomatiques. Il représente 6% des infections urinaires communautaires chez la femme et 8% chez l'homme (Ferry *et al.*, 1988). Chez la femme jeune, *S.saprophyticus* est fréquemment responsable de dysurie, d'hématurie avec parfois des signes d'infection du haut appareil.

I.2.4.3. Prostatite

Dans les formes aiguës, l'agent le plus fréquemment isolé est *Escherichia coli*. Parmi les cocci à Gram positif, *S. aureus* est le principal responsable des abcès prostatiques. Par contre, en pathologie chronique, WEIDNER a observé une bactériurie à Cocci Gram+, et plus particulièrement à *S. epidemidis*, chez 43% des hommes présentant une prostatite chronique bactérienne (Wedrenh, 1989). La prostatite chronique à SCN s'accompagne dans la plupart des cas d'un nombre normal de leucocytes dans les sécrétions prostatiques (Krieger et Mcgonagle, 1989).

I.2.4.4. Pyélonéphrite

Dans une étude de TOKUNAGA portant sur 202 patients chez lesquels un SCN a été isolé, 91,5% des patients présentaient une infection urinaire favorisée par une lésion anatomique, par un obstacle fonctionnel de la voie excrétrice ou par l'existence d'un matériel de drainage urinaire (Tokunaga *et al.*, 1993). Certaines complications telles qu'une insuffisance rénale aiguë transitoire ont pu être corrigées après un traitement antibiotique adapté (Hovelius *et al.*, 1979 ; Lewis *et al.*, 1982).

I.2.4.5. Infection urinaire à SCN et matériel étranger

➤ Sondes vésicales

Actuellement, 5 à 10% des sujets âgés en institution sont porteurs d'une sonde vésicale à demeure. 8% des bactéries responsables d'une infection urinaire nosocomiale associée à un cathétérisme urétral de courte durée (2 à 4 jours) sont des SCN (Radonski et Herschorn, 1992). Les bactériuries à SCN sur sondes vésicales, souvent asymptomatiques, exposent les patients à des risques d'infections urinaires symptomatiques avec risque de pyélonéphrite aiguë et de bactériémie ainsi qu'à des problèmes d'obstructions de sondes et de lithiases vésicales. Les SCN produisent une uréase et peuvent être responsables de la formation de lithiases par précipitation de struvite (Alain *et al.*, 1998).

➤ Endoprothèses urétérales en double J

60 à 70% des germes adhérant à la surface des sondes en double J sont des SCN. Ces micro-organismes ne sont retrouvés à l'ECBU que dans 30% des cas (Alain *et al.*, 1998).

➤ **Infection prothétique à SCN**

En urologie, cela concerne principalement les prothèses péniennes et les sphincters artificiels. Une colonisation bactérienne est retrouvée dans 36% des sphincters et 40% des prothèses péniennes, mais avec des taux faibles ($< 10^5$ CFU/ml) (Licht et Montague, 1995). Des taux plus importants sont retrouvés dans les infections prothétiques par rapport aux simples colonisations. *S. epidermidis* est responsable de 75 à 80% des cas d'infections sur prothèses péniennes (Teichman *et al.*, 1994 ; Boyce, 1996). Selon PARSONS, la contamination se fait au moment de l'implantation (Parsons *et al.*, 1993). Cependant, certaines séries rapportant 5 cas d'infection sur prothèse pénienne, retrouvent à la culture uniquement la présence d'entérobactéries. Cette observation est rapportée par les auteurs à une réduction des taux cutanés de SCN due à l'association d'une préparation cutanée adéquate et d'une anti biophylaxie ciblés (Alain *et al.*, 1998).

I.2.4.6. Les infections nosocomiales des staphylocoques à coagulase négative

En dehors des infections à *S. aureus* qui sont souvent responsables d'infections hospitalières, de nombreuses infections dues à des espèces de staphylocoques SCN peu virulentes sont observées en milieu chirurgical ou en réanimation. L'espèce la plus souvent rencontrée est *S. epidermidis*, germes commensaux des muqueuses et de la peau glabre ou il représente 65-90 % des staphylocoques isolés de la flore normale de l'homme. *S. saprophyticus* est plus rarement rencontrée en pathologie nosocomiale, de même que *S. haemolyticus* ou *S. hominis* qui sont exceptionnelles (Patrichet *et al.*, 1988).

Selon l'étude du NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance) portant sur la période 1986-1989, les SCN représentent 9% des bactéries responsables d'infections nosocomiales, tous sites confondus. Ils sont également responsables de 4% des infections urinaires d'origine nosocomiale (Uesugi *et al.*, 1996). Une étude japonaise plus récente retrouve même jusqu'à 10% de SCN isolés dans les urines. Dans les différentes spécialités médico-chirurgicales, *Staphylococcus epidermidis* est l'espèce dont les manifestations cliniques (infection vraie et non simple colonisation) sont les plus fréquentes. *S. epidermidis* est particulièrement retrouvée dans les bactériémies rencontrées à l'hôpital (Martin *et al.*, 1989), dans les infections des shunts ventriculo-péritonéaux (Patrick, 1990), dans les infections sur cathéters de dialyse péritonéale

(Freeman et Falkiner, 1991), ainsi que dans les infections sur prothèses valvulaires cardiaques (Karchmer *et al.*, 1993).

En urologie, *S. epidermidis* est isolé dans les infections urinaires à SCN avec une fréquence qui varie de 36 à 48%. On le retrouve plus particulièrement chez les patients hospitalisés et/ou porteurs d'une sonde vésicale (MIMS *et al.*, 1990). *S. saprophyticus* représente la deuxième cause d'infection urinaire de la femme jeune. Il est responsable de 42,3% des bactériuries communautaires chez les femmes âgées entre 16 et 25 ans, avec un sexe ratio homme/femme qui varie de 1/60 à 1/82 (Wallmark *et al.*, 1978). On peut aussi isoler cette espèce lors d'infections urinaires chez l'homme de plus de 50 ans. Dans ce cas il s'agit, comme pour *S. epidermidis*, de patients hospitalisés et porteurs d'une sonde à demeure. Tous sites confondus, *S. haemolyticus* est le second des SCN le plus souvent isolé. On le retrouve plus fréquemment associé aux endocardites sur valves natives, bactériémies, péritonites et infections sur cathéters veineux centraux (Leighton et Little, 1986). Il est responsable de 1,5% des infections urinaires et représente de 7,2 à 22% des infections urinaires à SCN (Alain *et al.*, 1998).

Chapitre II : lutte contre les pathogènes par des plantes médicinales

II.1. Phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl et Anton, 2003), qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.

De nos jours, la Phytothérapie est basée sur les avancées scientifiques et les recherches des extraits actifs des plantes. Une fois identifiés ces derniers sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans un pays, la circulation de ces derniers est soumise à l'autorisation de mise sur le marché. On parle alors de Pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (Monnier, 2002). La phytothérapie moderne trouve donc sa justification dans la pharmacognosie, aspect multidisciplinaire de la connaissance du végétal et de ses propriétés.

II.2. Plante médicinale

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques ». On peut distinguer deux utilisations distinctes des plantes médicinales :

- La plante entière ou une partie de la plante est utilisée en l'état sans avoir subi d'extraction physico-chimique préalable. Le terme de totum est alors employé pour désigner l'ensemble ou la partie du végétal utilisé. Le totum contient de nombreuses familles d'actifs agissant en synergie.
- La plante entière ou une partie de la plante subit une extraction physico-chimique. On obtient alors un extrait aqueux, hydroalcoolique selon le solvant d'extraction utilisé. Cet extrait liquide subit généralement une étape de dessiccation. On obtient alors un extrait sec. L'extrait sec est concentré en actifs de la même famille chimique.

II.3. Le potentiel antimicrobien des plantes médicinales

Les plantes sont des êtres vivants qui utilisent l'eau, la matière minérale et l'énergie du soleil pour produire de la matière organique. Ce processus permet à la plante de synthétiser dans une première étape des hydrates de carbone (les glucides) (Bruneton, 2009 ; Dewick, 2011). Ces glucides de faibles poids moléculaires (oses) sont utilisés pour la synthèse de métabolites primaires nécessaires pour la survie. Il s'agit de glucides complexes (l'amidon, la cellulose, les pectines ...), des acides aminés (pour la synthèse de protéines), et d'acides gras.

A partir des oses et des métabolites primaires, la plante synthétise une grande variété de métabolites dits secondaires, plus complexes.

Aujourd'hui, plusieurs de ces phytomolécules ont déjà été décrites mais un grand nombre reste encore mal connu et non caractérisé. Ces composés constituent les principes actifs des plantes médicinales exploités dans la médecine traditionnelle. Ce sont des produits, à structure chimique souvent complexe. Selon les espèces, ces métabolites sont très dispersés et très différents. Ce n'est seulement qu'à partir de la deuxième moitié du 20^e siècle, qu'il y a eu explosion des recherches en ce domaine grâce à l'évolution du matériel d'analyse chimique. Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires (Bouhadjera, 2005) classés selon leur appartenance chimique en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité.

II.3.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié des groupements hydroxyles, ces molécules représentent une famille de plus 8000 composés (Dacosta, 2003). Parmi les composés polyphénoliques présents chez les plantes étudiées on retrouve dans une grande mesure les flavonoïdes les tanins et les coumarines.

II.3.1.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes), souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Bruneton, 1993 ; Ghestem *et al.*, 2001). A l'état naturel ils

existent le plus souvent sous forme d'hétérosides : les flavonosides (Ghestem *et al.*, 2001 ; Marfak, 2003). C'est-à dire des dérivés de génines sur lesquelles un ou plusieurs oses sont greffés (Hadi, 2004). Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 carbones (C6-C3-C6), correspondant à la structure du 2-phényl-benzopyrone (Fiorucci, 2006). Ce groupe comprend plusieurs classes, subdivisées selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (Bruneton, 1999 ; Marfak, 2003 ; Kim *et al.*, 2004) et dont les plus importantes sont :

- Flavones,
- Flavonols,
- Flavanones,
- Dihydroflavonols, Isoflavones,
- Isoflavon,
- Flavanes,
- Flavanols et anthocyanines.

Comme la majorité des polyphénols, les flavonoïdes ont une activité antifongique très puissante. L'une des études sur cette activité est celle d'Orturno (2005), qui démontre l'activité des flavanones glycosides et des polyméthoxyflavones de *Cirtus parasidi* et de *Cirtus sinensis* sur *Penicillium digitatum*. Les flavonoïdes de *Conyza aegyptica* L. ont une action fongicide et fongistatique sur différents agents de mycoses : *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida zeylanoïdes* (Batawita, 2002). D'autres flavonoïdes extraits de la poudre des inflorescences mâles de *Borassus dethiopum* ont une activité contre des dermatophytes comme *Trichophyton rubrun* grâce à des fractions flavoniques (Guanon, 2003). Alors que les flavonoïdes des espèces *Macluratinctoria* (El Sohly *et al.*, 2001) et *Terminalia alata* (Srivastava *et al.*, 2001) ont une forte activité anti-candidose.

II.3.1.2. Tanins

Composés aromatiques polyphénoliques, non azotés, hydrosolubles et comme les flavonoïdes, dérivés d'extension du phénylpropane de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, à saveur astringente et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Frutos *et al.*, 2004 ; Sahrpaz, 2013). Chez les végétaux supérieurs on distingue deux groupes de tanins de structures différentes : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables, ou tanins condensés (Traoré, 1999 ; Frutos *et al.*, 2004).

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (Hatano *et al.*, 2005). Les tannins condensés comme les hydrolysables, ont une action inhibitrice contre les moisissures et les levures. Comme exemple, on a les proanthocyanidines du thé qui ont montré un rôle dans la protection de cette plante contre *Exobasidium vexans* (Punyasiri, 2005), et les tannins hydrolysables des différentes plantes qui agissent contre une large gamme de champignons filamenteux (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporium cassis*, *Trichophyton rubrum*, *Penicillium italicum*, *Aspergillus fumigatus*,...) et de levures opportunistes (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*...) (Latte, 2000). Cette action antifongique est couramment utilisée pendant les opérations œnologiques lors de la manufacture des vins car les tannins polaires de ces derniers ont une grande capacité à se fixer sur les champignons néfastes (Mazauric, 2005).

II.3.1.3. Coumarines.

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix odorata* Wild., Fabaceae) d'où fut isolée en 1982 (Bruneton, 1993). Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford *et al.*, 2001). Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Guignard, 1998 ; Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hoffmann, 2003), Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (Hofmann, 2003).

Des activités antifongiques significatives ont également été signalées pour certaines coumarines. Al-Amiery *et al.* (2012) dans leurs études *in vitro* ont montré que des coumarines de synthèse limitent la prolifération des espèces : *Aspergillus niger* et *Candida Albicans*. Tandis que

les coumarines naturelles de l'espèce *Rutagraveolens* se comportent comme des fongicides actifs contre les *Candida* et les *Fusarium* (Ojala *et al.*, 2000). De plus les furocoumarines de la même espèce sont utilisés pour soigner l'eczéma et le psoriasis. (Abadie, 2007). Enfin Pour l'activité antibactérienne, les coumarines sont efficaces contre les bactéries à Gram positif (Cottiglia *et al.*, 2001 ; Laure, 2005 ; Khan *et al.*, 2005).

II.3.2. Les composés terpéniques

II.3.2.1. Stéroïdes, stérols et terpénoïdes

Les stéroïdes, les stérols et les terpénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, ils regroupent plusieurs sous familles. Les stérols jouent un rôle important dans la qualité des graisses et des huiles. Ils se présentent sous forme d'alcool libre (sitostérol), ou sous forme des esters associés par le glucose (glucoside stérols). Les stérols végétaux possèdent généralement une double liaison ou plus ; ils sont alors appelés les phytostérols par contre leurs analogues saturés sont appelés les phytostanols (Tanya, 1997).

Parmi les stérols ou phytostérols les plus fréquemment rencontrés chez les végétaux on cite : le stigmastérol et le β -sitostérol. Ils représentent 80 % des stérols biosynthétisés à la surface du globe terrestre. Les stéroïdes et les triterpènes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées dérivées du 2-méthylbutadiène. Chaque groupe de terpènes est issu de la condensation tête à queue d'un nombre variable d'unités isoprènes.

Leur nomenclature et leur classification se font en fonction du nombre d'unité isopréniques qui constituent la molécule. Des activités antimicrobiennes des terpénoïdes ont été mises en évidence (Oussou *et al.*, 2004; Bourkhiss *et al.*, 2007; Goetz et Ghedira, 2012). On les classe en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes et caroténoïdes.

II.3.2.2. Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, appartenant aux stérols ou triterpènes. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes, ils sont caractérisés par leur action tensioactive (abaissement de la tension superficielle). La plupart des saponosides

présentent des propriétés hémolytiques, certains sont des matières premières pour l'hémisynthèse de molécules médicamenteuses stéroïdiques.

Des recherches montrent que les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle, possèdent des propriétés anti-bactérienne et antifongique (Bouhadjera, 2005).

II.3.2.3. Huiles essentielles

Ce sont des essences, des huiles dites volatiles. Elles existent presque exclusivement chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans de nombreuses parties : fleurs, feuilles, fruits, écorces, racines. L'huile essentielle extraite de ses différentes parties n'aura pas la même composition. Sa production met souvent en jeu des organes spécialisés. Leurs facteurs de variabilité sont nombreux, comme le chimiotype de l'espèce, le stade de développement de la plante, le climat ainsi que le procédé d'extraction utilisé qui peut entraîner des réarrangements moléculaires.

Les huiles essentielles sont souvent volatiles, de densité inférieure à celle de l'eau, peu ou pas colorées. Elles sont solubles dans les solvants organiques, liposolubles et entraînaibles par la vapeur d'eau bien que très peu soluble dans celle-ci.

Elles comportent les terpénoïdes les plus volatils (monoterpènes, sesquiterpènes), des composés aromatiques (dont les allyl- et propényl-phénols, ainsi que parfois des aldéhydes).

Leurs propriétés pharmacologiques sont nombreuses. Elles ont un grand pouvoir antiseptique, particulièrement contre les bactéries, mais aussi contre les champignons, levures et autres. Cela concerne notamment les huiles essentielles de sarriette, cannelle, thym, girofle, lavande et eucalyptus. On peut citer certains composés responsables de ces propriétés, comme le linanol, le citral, le géraniol, le thymol. Elles ont aussi des propriétés spasmolytiques, comme les huiles essentielles d'angélique, basilic, camomille, testées *in vitro*, ainsi que des propriétés sédatives. Ces composés sont cependant irritants, notamment par voie externe. Elles sont entre autres utilisées dans des onguents ou cataplasmes contre les entorses, courbatures ou douleurs myo-arthro-squelettiques.

Leur utilisation est fréquente dans le domaine pharmaceutique, notamment par voie orale en infusion ou pour l'aromatisation de certains produits. Ses composants sont majoritairement lipophiles donc par conséquent rapidement absorbés, que ce soit par voie orale, pulmonaire ou

cutanée. Le fait qu'elles contiennent des principes très concentrés entraîne souvent l'utilisation de dilution, notamment lors d'usage par voie topique. Elles sont aussi utilisées par l'industrie de la parfumerie ou l'industrie agro-alimentaire. Cependant, leur instabilité relative peut entraîner une conservation se révélant compliquée.

II.3.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Leur extrême importance tient d'une part à leur activité et d'autre part à leur toxicité (Cordell, 1981). Le terme d'alcaloïdes a été introduit par W. Meissner au début du XIXe siècle ; pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe al kaly, la soude et du grec eidos, l'aspect), il rappelle le caractère alcalin de ces substances, mettant à profit leur extraction et leur dosage.

Les alcaloïdes sont donc des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe (Hemingway et Phillipson, 1980 ; Bruneton, 2009). La présence d'azote confère à la molécule un caractère basique plus au moins prononcé, de distribution restreinte et douée d'activité pharmacologique significative (Waller et Nowacki, 1978). Les alcaloïdes existent sous forme de sels (malates, méconates, isobutyrate) et sous forme d'une combinaison avec les tanins.

Ils sont des précurseurs de nombreux médicaments. Les alcaloïdes jouent aussi le rôle d'antibiotique comme la cyclosérine, la mytomycine (Badiaga, 2012).

II.4. Présentations des différents modes d'extraction

II.4.1. Méthodes d'Extraction Traditionnelles

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handa, 2008).

La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec *ptisané* qui désignait orge mondé, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée parmi les méthodes

les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains constituants actifs hydrosolubles (Goetz, 2004). D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées (Benzeggouta, 2005). La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa solubilité dans le solvant utilisé, la température et la durée d'extraction et la fragmentation de la plante (Goetz, 2004).

II.4.1.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (Baba-Aïssa, 2000 ; Kraft et Hobbs, 2004).

II.4.1.2. Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (Baba-Aïssa, 2000 ; Kraft et Hobbs, 2004).

II.4.1.3. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (Kraft et Hobbs, 2004). Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition (Baba-Aïssa, 2000).

II.4.1.4. Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs (Shakeel, 1999 ; Goetz et Busser, 2007).

II.4.2. Méthodes d'extraction modernes et nécessité de la «Chimie Verte»

Les débuts de l'usage des solvants organiques pour l'extraction des plantes médicinales sont mal connus, mais on pense que c'est l'apothicaire français Nicolas Lémery (1645-1715) qui a utilisé l'alcool comme solvant et a également prolongé la durée de l'extraction. Robert Boyle (1627-1691) n'a pas extrait un alcaloïde de l'opium mais il était dans la bonne voie en le traitant par le carbonate de potassium et l'alcool. En 1747 le saccharose a été isolé à partir de plusieurs plantes par l'allemand Andreas Sigismund Marggraf (1709-1780). Alors que le suédois Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) avait beaucoup de succès dans le domaine de la phytochimie en isolant les acides citrique, gallique, malique, oxalique, tartrique et prussique (cyanure d'hydrogène) (Evans, 2002).

Au 19^e siècle le progrès de la phytochimie était plus rapide, plusieurs principes actifs ont été isolés des plantes médicinales tels que les alcaloïdes du pavot en 1803 (narcotine), l'inuline (polysaccharide) de l'aunée officinale (*Inula helenium*) en 1804 et une variété de d'autres principes actifs. En 1838, l'acide salicylique, un précurseur chimique de l'aspirine, était extrait du saule blanc (*Salix alba*). Il sera synthétisé en laboratoire pour la première fois en 1860. A partir de cette date la médecine prend un nouvel essor loin de la phytothérapie traditionnelle : l'isolement et la synthèse des principes actifs des plantes médicinales (Chevallier, 2001).

Les méthodes d'extraction conventionnelles des plantes médicinales utilisaient les solvants organiques, soit par macération (extraction discontinue) ou en utilisant certains appareils comme le Soxhlet qui est une extraction continue inventé pour la première fois en 1879 par l'allemand Franz von Soxhlet (1848-1926), mais certains inconvénients se présentent avec

cet appareil à cause de la taille limitée de la cartouche qui porte la plante, et la chaleur qui peut dégrader les composés chimiques (Wikipédia, 2014).

Les solvants organiques sont des composés chimiques volatils et relativement inertes chimiquement et dans la plupart des applications ils jouent un rôle transitoire en facilitant le processus d'extraction, pour être ensuite évacués (Bégin et Gérin, 2002). Certains solvants organiques ont été remplacés ou suspendus de l'utilisation pour leurs dangers sur les organismes vivants ou sur l'environnement. Pour cela, la réduction des substances toxiques est devenue une nécessité pour la protection de l'homme et son environnement et pour un développement mondial durable (Gérin, 2002), utilisant des conditions alternatives comme la suppression des solvants (telle que les micro-ondes), l'utilisation de solvants facilement séparables et sûrs comme les fluides supercritiques, l'utilisation de solvants non volatils comme les liquides ioniques ou, encore, l'utilisation de solvants n'ayant pas d'impact sur l'environnement comme l'eau (Scherrmann *et al.*, 2008).

L'idée de « chimie verte » ou « chimie durable » est alors fondée vers les années 90. Ce concept est introduit en 1998 par les chimistes américains Paul Anastas et John Warner pour être appliquée d'abord à l'industrie chimique, afin de mettre en œuvre des principes pour réduire et éliminer l'usage ou la génération de substances néfastes pour l'environnement, par de nouveaux procédés chimiques et des voies de synthèses propres, c'est-à-dire respectueuses de l'environnement, parmi ses douze principes, le cinquième est celui d'utiliser des solvants plus sûrs (Gérin, 2002).

Chapitre III : Description et intérêt de la plante *Moringa oliefera*

III.1. Définition

Moringa oleifera appartient à une famille monogénérique d'arbres et arbustes, les *Moringaceae*. Il semble être originaire des régions d'Agra et de Oudh, au nord-est de l'Inde, au sud de la chaîne de montagne de l'Himalaya. *Moringa oleifera* est mentionné dans le «Shushruta Sanhita», écrit au début du premier siècle, sous le nom de «Shigon». Les Indiens savaient que les graines, qu'ils utilisaient en médecine, contenaient de l'huile comestible. Il semblerait également que la plupart des gens connaissent sa valeur en tant que fourrage ou comme légume. Cet arbre se rencontre à l'état naturel jusqu'à 1000 m d'altitude, il pousse relativement bien sur les versants mais est plus répandu dans les zones de pâturages et les bassins des rivières. Il pousse rapidement, jusqu'à 6 ou 7 mètres en un an, même dans des zones recevant moins de 400 mm de précipitations annuelles. Dans la langue Dravidienne, on trouve diverses appellations locales pour désigner cet arbre, mais la plupart dérivent du nom générique « Moringa ». En anglais, on le connaît sous les noms de «Horseradish tree», «Drumstick tree», «Never die tree», «West Indian Ben tree », ou encore « Radish tree » (Foidl *et al.*, 2001).

III.2. Classification

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Tracheobionta
Super Division :	Spermatophyta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Dilleniidae
Ordre :	Capparales
Famille :	Moringaceae
Genre :	<i>Moringa</i>
Espèce :	<i>oleifera</i> (Mishra <i>et al.</i> , 2011)

III.3. Description botanique

Moringa est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur dont le tronc mesure 20 à 40cm de diamètre. Le tronc est généralement droit, mais il est parfois très peu développé. En général, il atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, bien qu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme de parasol. Les feuilles se développent principalement dans la partie terminale des branches (figure 2). Elles mesurent 20 à 70cm de long et sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes, elles portent un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposés, plus un l'apex, ovales ou en forme d'ellipse, et mesurant 1 à 2cm de long.



Figure 2 : Les feuilles de *Moringa oleifera* (Louni, 2009).

Les fleurs mesurent 2,5cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombantes de 10 à 25cm (Figure 3). Elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable. Elles sont blanches ou de couleur crème, avec des points jaunes à la base. Les sépales, au nombre de cinq, sont symétriques et lancéolés. Les cinq pétales sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur, et entourent cinq étamines.



Figure 3: Les fleurs de *M. oleifera* (Louni, 2009).

Les fruits forment des gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long, qui pendent des branches. Lorsqu'ils sont secs, ils s'ouvrent en trois parties. Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines. Les graines sont rondes, avec une coque marron semi-perméable (Figure 4). La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet à 120 degrés d'intervalle. Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an. Une graine pèse en moyenne 0,3 g et la coque représente 25% du poids de la graine (Louni, 2009).



Figure 4: Les graines de *Moringa oleifera* (Louni, 2009).

III.4. Intérêts de *Moringa oleifera*

III.4.1. Intérêt nutritionnelle

Les feuilles séchées de *Moringa* ont une teneur en CP de 30,3% (tableau 1) avec 19 acides aminés (tableau 2). La plus grande valeur des acides aminés est celle de l'alanine, qui a une valeur de 3,033% et le moins de contenu est la cystéine avec 0,01%. Le calcium a la valeur la plus élevée de 3,65% suivie par le potassium (1,5%) et le phosphore a la plus faible valeur de 0,30% parmi les macro-éléments (tableau 3). La valeur la plus élevée parmi les micro-minéraux est celle du Fer avec 490mg/kg suivi de Se avec 3,63mg/kg. Le cuivre a la valeur la plus faible de 8,25mg/kg (tableau 3). Les feuilles de *Moringa* séchées contenaient 17 acides gras (tableau 4).

Tableau 1 : Composition chimique des feuilles séchées de *Moringa (M. oleifera)* (Busani *et al.*, 2011).

Valeur nutritive	Quantité
Humidité (%)	9.533
Protéine brute (%)	30.29
Graisse (%)	6.50
Cendres (%)	7.64
Fibre détergente neutre (%)	11.40
Fibre détergente acide (%)	8.49
Détergent acide lignine (%)	1.8
Cellulose détergente acide (%)	4.01
Tanins condensés (mg / g)	3.12
Polyphénols totaux (%)	2.02

Tableau 2 : Composition en acides aminés des feuilles séchées de *Moringa (M. oleifera)* (Busani *et al.*, 2011).

Les acides aminés	Quantité %
Arginine	1,78
Sérine	1.087
Acide aspartique	1,43
Acide glutamique	2,53
Glycine	1.533
Thréonine	1,357
Alanine	3,033
Tyrosine	2,650
Proline	1,203
HO-Proline	0.093
Méthionine	0,297
Valine	1,413
Phénylalanine	1,64
Isoleucine	1,177
Leucine	1,96
Histidine	0,716
Lysine	1,637
Cystéine	0.01
Tryptophane	0,486

Tableau 3 : Teneur en minéraux des feuilles séchées de *Moringa (M. oleifera)* (Busani *et al.*, 2011)

Minéraux	Quantité
Macroéléments%	
Calcium	3,65
Phosphore	0,30
Magnésium	0,50
Potassium	1,50
Sodium	0,164
Soufre	0,63
Micro-éléments (mg / kg)	
Zinc	31,03
Cuivre	8,25
Manganèse	86,8
Fer	490
Sélénium	363
Bore	49,93

Tableau 4 : Composition en acides gras des feuilles séchées de *Moringa (M. oleifera)* (Busani *et al.*, 2011)

Les acides gras	Quantité
Extrait d'éther	6,50
Caprique (C10: 0)	0,07
Palmitique (C16: 0)	11,79
Palmitoléique (C16: 1c9)	0,17
Acide stéarique (C18: 0)	2,13
Oléique (C18: 1c9)	3,96
Linoléique (C18; 2c9, 12 (n-6)	7,44
Arachidique (C20: 0)	1,61
Acides gras saturés totaux (AGS)	43,31
Acides gras mono-insaturés totaux (AGMI)	4,48
Total des acides gras polyinsaturés (AGPI)	52,21

Les feuilles de *Moringa* sont une bonne source potentielle de protéines supplémentaires dans les régimes alimentaires des animaux. Ce niveau de teneur en protéines brutes a une importance nutritionnelle particulière car il peut répondre aux besoins en protéines et en énergie de l'animal et stimuler le système immunitaire contre les maladies (Kyriazakis et Houdijk, 2006 ; Brisibe *et al.*, 2009). Les ruminants en croissance comme les chèvres ont besoin de 16% de CP (Luginbuhl et Poore, 1998).

Il a été rapporté que des composées phénoliques ont de multiples effets biologiques bénéfiques qui incluent l'activité antioxydante, l'action anti-inflammatoire, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, les activités antimicrobiennes et les activités anti tumorales (Thurber et Fahey, 2009). Les feuilles ont un fort dépôt d'éléments minéraux. Le calcium est nécessaire pour la formation et le maintien des os et des dents, empêchant ainsi l'ostéoporose. Il est également nécessaire pour la coagulation sanguine normale et la fonction nerveuse. Le Fer a été trouvé en abondance dans les feuilles de cette plante. Le fer est une composante nécessaire de l'hémoglobine et de la myoglobine pour le transport de l'oxygène et les processus cellulaires de croissance et de division (Kozat, 2007). Il est également un oligo-élément essentiel au fonctionnement normal du système nerveux central et à l'oxydation des glucides, des protéines et des graisses (Umar *et al.*, 2007). Le fer joue également un rôle dans le métabolisme énergétique car il facilite le transfert d'électrons dans le Chaîne de transport d'électrons pour la formation de l'ATP (Kozat, 2007). Des résultats d'étude présentaient des niveaux plus élevés de zinc (31,03mg/kg). Le zinc est essentiel à la synthèse de l'ADN, de l'ARN, de l'insuline et de la fonction et/ ou de la structure de plusieurs enzymes (Brisibe *et al.*, 2009). Le zinc est également nécessaire pour la reproduction cellulaire et la croissance, en particulier les spermatozoïdes. En outre, le Zn est connu pour ses propriétés antivirales, antibactériennes, antifongiques et anticancéreuses (Brisibe *et al.*, 2009). Les feuilles séchées de *Moringa* contenaient du Cu, qui est considéré comme ayant de forts effets sur le système immunitaire (Anwar *et al.*, 2007). Le cuivre est impliqué dans la stimulation du système de défense du corps, car il est actif dans la production de neutrophiles et affecte la capacité à tuer les phagocytes. Il est requis pour le développement d'anticorps et la répllication lymphocytaire (Burke et Miller, 2006). Le cuivre en combinaison avec le Zn joue un rôle dans l'élimination des radicaux libres de l'oxygène. Le *Moringa* contient aussi du soufre nécessaire à l'efficacité de la croissance et de l'activité microbienne du rumen (Brisibe *et al.*, 2009). La composition minérale de *Moringa* joue un rôle important dans les valeurs nutritionnelles, médicinales et thérapeutiques (Al-kharusi *et al.*, 2009). La poudre de *Moringa* est riche en vitamine E et de

β -carotène, thiamine, riboflavine et vitamine K (Broin, 2006). Le bêta-carotène est le précurseur le plus puissant de la vitamine A. Les animaux sont capables de convertir le bêta-carotène en vitamine A dans leur corps (Panday et Tiwari, 2002). Le *Moringa* serait riche en vitamine C, ce qui augmenterait l'absorption du fer dans le corps de l'animal (Anwar *et al.*, 2007). La vitamine A est nécessaire pour de nombreuses fonctions chez les ruminants, y compris la vision, la croissance osseuse, l'immunité et le maintien du tissu épithélial. La vitamine E est connue pour aider à maintenir et augmenter le stockage de la vitamine A et du fer dans le corps. La poudre de *Moringa* est en fait l'une des sources végétales les plus riches en vitamines (Anwar *et al.*, 2007).

III.4.2. Intérêt économique

La considération socio-économique est un aspect très important de chaque composante de tout type d'agriculture. Les produits des arbres de ferme peuvent être des sources importantes de revenu agricole. Comme indiqué ci-dessus, l'arbre de *Moringa* a une croissance rapide et produit dans une très courte durée, elle est donc une bonne source de revenus. Presque tous les produits de l'arbre sont mis sur le marché pour la vente et sont consommés par les gens et leur bétail. Les semis de *Moringa* sont préparés en pépinière et mis sur le marché qui rapporte un prix raisonnable et une source de revenus. L'arbre présente donc de multiples avantages pour la société et constitue une source de subsistance pour la vie des pauvres.

L'arbre de *Moringa oleifera* ouvre une nouvelle dimension dans le domaine de l'agroforesterie en raison de son port facile à établir, à croissance rapide courte rotation, diversifier la nature de ses produits, avantages multiples pour les gens et leur bétail et plusieurs autres avantages directs et indirects. Ces caractéristiques extraordinaires d'un arbre ouvrent une nouvelle dimension dans le domaine de l'agroforesterie. Cependant, il existe plusieurs contraintes qui entravent l'économie réelle de ces arbres miraculeux comme, le manque de marchés, le manque de connaissances appropriées sur les pratiques culturelles, le manque de matériel végétal et la concurrence pour la terre avec d'autres cultures vivrières. Pour surmonter ces contraintes et pour stimuler l'arbre parmi les producteurs, de nombreuses activités de recherche et de vulgarisation sont nécessaires. La valeur ajoutée des produits bruts de *Moringa* a accru son économie et son utilité parmi les gens qui attirent le plus de producteurs à travers le monde. Les activités de vulgarisation favorisent la consommation de

l'arbre pour améliorer les fonctions nutritionnelles et médicinales, ainsi que pour atténuer les changements climatiques (Yogesh *et al.*, 2017).

III.4.3.Intérêt médicinaal

Moringa oleifera a également de nombreux usages médicinaux, reconnus depuis longtemps dans les systèmes de médecine ayurvédique et grec.

➤ Antihypertenseur, diurétique et hypocholestérolémiant activités

La combinaison généralisée de diurétique et de composants abaissant la pression artérielle et les lipides rend cette plante très utile dans les troubles cardiovasculaires. On sait que le jus de feuilles de *Moringa* a un effet stabilisateur sur la pression artérielle. Du nitrile, des glycosides d'huile de moutarde et des glycosides de thiocarbamate ont été isolés à partir de feuilles de *Moringa*, responsables de l'effet hypotenseur. La plupart de ces composés, portant des groupements thiocarbamate, carbamate ou nitrile, sont des glycosides entièrement acétylés, qui sont très rares dans la nature.

Il a été démontré que les racines de *Moringa*, les feuilles, les fleurs, la gomme et l'infusion aqueuse de graines possèdent une activité diurétique et que ces composants diurétiques joueront probablement un rôle complémentaire dans la pression artérielle globale. L'extrait brut de feuilles de *Moringa* a une action hypocholestérolémiante significative dans le sérum des rats nourris avec un régime riche en graisses. Le fruit de *Moringa* abaisse le cholestérol sérique, les phospholipides, les triglycérides, les lipoprotéines de basse densité (LDL), le cholestérol des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) en phospholipides et réduit le profil lipidique du foie, du cœur et de l'aorte (Anwar *et al.*, 2007).

➤ Activités antispasmodiques, antiulcéreuses et hépato protectrices

Il a été rapporté que les racines de *M. oleifera* possèdent une activité antispasmodique. Les feuilles de *Moringa* ont fait l'objet d'études pharmacologiques approfondies et on a découvert que l'extrait à l'éthanol et ses constituants avaient des effets antispasmodiques possiblement par blocage des canaux calciques. De plus, l'activité spasmolytique présentée par différents constituants fournit une base pharmacologique pour les utilisations traditionnelles de cette plante dans le trouble de la motilité gastro-intestinale. La fraction méthanoïque de l'extrait de feuilles de *M. oleifera* a montré des effets anti-ulcérogènes et

hépatoprotecteurs chez les rats. Les extraits aqueux de feuilles ont également montré un effet anti-ulcéreux indiquant que le composant anti-ulcéreux est largement distribué dans cette plante. On a également rapporté que les racines de *Moringa* possèdent une activité hépatoprotectrice. Les extraits aqueux et alcooliques de fleurs de *Moringa* ont également montré un effet hépatoprotecteur significatif, qui peut être dû à la présence du flavonoïde bien connu ayant une activité hépatoprotectrice (Anwar *et al.*, 2007).

➤ **Activités anti tumorales et anticancéreuses**

Makonnen *et al.* (1997) ont trouvé que les feuilles de *Moringa* étaient une source potentielle d'activité anti tumorale. Les extraits de graines se sont également révélés efficaces sur les enzymes hépatiques métabolisant des carcinogènes. Il a été trouvé aussi que la niaziminine, un thiocarbamate provenant des feuilles de *M. oleifera*, présente une inhibition de l'activation du virus Epstein-Barr induite par un promoteur de tumeur (Anwar *et al.*, 2007).

➤ **Autres activités**

Il a également été rapporté que *Moringa oleifera* présente d'autres activités diverses. Les extraits aqueux de feuilles régulent l'hormone thyroïdienne et peuvent être utilisés pour traiter l'hyperthyroïdie et présenter un effet antioxydant. Un extrait au méthanol de feuilles de *Moringa oleifera* a conféré une protection radiologique significative aux chromosomes de la moelle osseuse chez la souris. Les feuilles de *Moringa* sont efficaces pour la régulation du statut des hormones thyroïdiennes. Un rapport récent a montré que les feuilles de *M. oleifera* peuvent être utilisées comme anti-VHS (Herpès simplex virus type 1) prophylactique ou thérapeutique et peut être efficace contre la variante résistante à l'acyclovir. Les fleurs et les feuilles sont également considérées comme ayant une valeur médicinale élevée et une activité antihelminthique. Les différentes parties de *M. oleifera* sont également incorporées dans diverses formulations de santé commercialisées, qui sont réputés comme des remèdes disponibles pour une variété de troubles de la santé humaine. Les graines de *Moringa* ont des fractions protéiques spécifiques pour les soins de la peau (Anwar *et al.* 2007).

III.4.4. Intérêt industrielle

➤ **Graines de *Moringa* comme coagulant**

Les graines de *Moringa* sont l'un des meilleurs coagulants naturels découverts jusqu'à présent. Les graines broyées sont un substitut viable des coagulants synthétiques. Au Soudan,

les femmes rurales utilisent l'extrait brut de graines à la place de l'alun pour traiter l'eau très trouble du Nil en raison de la peur traditionnelle de l'alun causant des troubles gastro-intestinaux et la maladie d'Alzheimer. Les graines de *Moringa* sont très efficaces pour l'eau à haute turbidité et montrent des effets de coagulation similaires à ceux de l'alun. L'efficacité de la coagulation de *M. oleifera* varie en fonction de la turbidité initiale et il a été rapporté que *M. oleifera* pouvait réduire la turbidité de 92% à 99%. Les graines de *Moringa* ont également des propriétés adoucissantes en plus d'être un correcteur de pH (réduction de l'alcalinité), ainsi qu'une capacité tampon naturelle, capable de traiter des eaux de surface et souterraines modérément hautes à alcalines élevées. Les graines de *Moringa* peuvent également être utilisées comme antiseptique dans le traitement de l'eau potable. Des recherches en cours tentent de caractériser et de purifier les composants coagulants des graines de *Moringa*. On pense que la graine est un polymère organique naturel. Les ingrédients actifs sont des protéines dimères avec un poids moléculaire d'environ 1300 Da et un point isoélectrique entre 10 et 11. La poudre de protéine est stable et totalement soluble dans l'eau (Anwar *et al.*, 2007).

Autre espèces du genre *Moringa* :

Ce genre comprend 13 espèces d'arbres en plus de *M. oleifera* on trouve *Moringa peregrina*, *M. stenopetala*, *M. longituba*, *M. Drouhardii*, *M. ovalifolia*, *M. concanensis*... poussant sous climat tropical ou subtropical. L'espèce africaine *Moringa stenopetala* est largement cultivée, quoique moins que *Moringa oleifera*.. L'espèce *Moringa peregrina* est aussi une espèce d'une grande importance qui se trouve à l'état sauvage dans la région de la Mer Morte, le long de la Mer Rouge, au Nord de la Somalie, autour de la péninsule arabique et dans les Montagnes du Sinaï (Boulos, 1999). *Moringa peregrina* (figure 5 et 6) pourrait bientôt devenir l'une des plantes les plus précieuses de terre aride. Ses graines qui contiennent 53% d'huile sont d'une grande importance alimentaire et médicinale. En raison de leur composition d'une huile unique, de protéines, de fibres, des hydrates de carbone et des teneurs minéraux (Hussein, 2012).



Figure 5 : Arbre de *Moringa peregrina*

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Moringa>



Figure 6 : les fleurs de *Moringa peregrina*

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Moringa>

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1. Isolats bactériens

Les isolats relativement résistants aux antibiotiques, de *Staphylococcus* à coagulase négative sont fournis par Mme ZATOUT Asma du laboratoire de Microbiologie et de Biologie végétale de Mostaganem. Ces souches ont été isolées à partir des prélèvements cliniques des patients au niveau du centre anti cancer de Batna.

I.1.1. Identification confirmative des isolats

I.1.1.1. Etude microscopique

Cette étude est réalisée par une coloration de Gram qui permet de connaître le type de Gram de la bactérie ainsi que leur morphologie.

I.1.1.2. Production d'oxydase

Ce test est basé sur la détection de la production de l'enzyme cytochrome oxydase par les bactéries.

Il s'agit de mettre en contact une colonie bactérienne avec un disque d'oxydase. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette, soit immédiatement, soit après quelques secondes. La lecture est limitée à 30s.

I.1.1.3. Production de catalase

Ce test est basé sur la détection de la production de l'enzyme catalase par la bactérie. Il s'agit de mettre en contact une colonie bactérienne avec une goutte d'eau oxygénée. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'un dégagement gazeux sous forme de mousse ou de bulles.

I.1.1.4. Test de coagulase

La coagulase n'est pas une enzyme mais une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte. La thrombine ainsi activée transforme le fibrinogène en fibrine. C'est un marqueur de l'identification de Staphylocoques (test de la coagulase en tube).

Dans un tube à hémolyse, on a introduit successivement :

- 0,5ml de Plasma de lapin
- 0,5ml d'une culture de 24 heures pratiquées dans un bouillon Brain Heart Infusion (BHI), à partir des staphylocoques à tester.

Après l'homogénéisation on incube les tubes à 37°C et la lecture du résultat est réalisée après 2h, 4h et 24h.

La réaction est considérée comme positive lorsque le coagulum occupe les 3/4 du volume initialement mis en jeu.

I.1.2. Conservation des souches

L'ensemencement des isolats est effectué sur gélose nutritive (GN) inclinée en tubes, et incubé à 37°C pendant 20h ensuite les cultures en tubes sont conservées à 4° C.

I.1.3. Etude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques

La sensibilité des isolats aux 7 antibiotiques (Tableau 5) a été réalisée par la méthode conventionnelle de diffusion des disques en milieu gélosé Mueller-Hinton (MH). A partir d'une culture pure de 20 heures sur milieu gélosé non sélectif, une suspension bactérienne est préparée et ajustée à 10^6 UFC/ml en eau physiologique (0,9% NaCl). Un ml de cette suspension a été déposé dans chaque boîte de Pétri contenant 20 ml de gélose Mueller-Hinton. Après une imprégnation de 2 min, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. Cinq min plus tard, les disques d'antibiotiques ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose des boîtes inoculées. Les boîtes sont incubées dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques. La lecture des résultats est faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibition après une durée d'incubation de 24h à 37°C. La comparaison des résultats et l'interprétation ont été réalisées suivant les recommandations de 2015 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Tableau 5 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme

Classe	Antibiotique	Abréviation	Charge de disque
Penicillines	Pénicilline G	P	10 UI
	Oxacilline	OX	1µg
Aminoside	Gentamycine	CN	15 µg
	Nétilmicine	NET	10 µg
	Tobramycine	TOB	10 µg
Divers	Fosfomycine	FF	50 µg
	Vancomycine	VA	30 µg

I. 2. Activité antibactérienne des extraits de plante *M. oleifera* contre les isolats

I.2.1. Matériel végétal

➤ La récolte

Des échantillons des feuilles de *Moringa oleifera* ont été récoltés en mois de Mars 2018, dans la région cultivable de la wilaya de Ghardaïa (Figure 7)



Figure 7: Récolte de *M. oleifera* dans la wilaya de Ghardaïa.

➤ Préparation de la poudre végétale

La matière végétale (Feuilles de *M. oleifera*) préalablement rincée puis séchée à l'abri du soleil. Après leur séchage, les feuilles ont été réduites en poudre fine à l'aide d'un mortier et la poudre obtenue a été conservée dans des sachets en papier dans un endroit sec jusqu'à utilisation.

➤ Le taux d'humidité

Le taux d'humidité de plante a été calculé selon la relation suivante :

$$H\% = \text{poids } \alpha - \text{poids } \beta / \text{poids } \alpha$$

- α : poids d'échantillon (plante fraîche) en gramme
- β : poids d'échantillon (plante sèche) en gramme
- H% : le taux d'humidité exprimé en pourcentage

I.2.1.1. Préparations des extraits

I.2.1.1.1. Extrait brut des feuilles de *M. oleifera* (jus frais de *M. oleifera*)

Les feuilles fraîches de *M. oleifera*, nettoyés et écrasés dans un mortier (Figure 8). Ensuite l'extrait a été filtré à l'aide des compresses stériles, puis la partie liquide extraite a été stérilisée par des filtres millipore 0,45 μm après une centrifugation à 4000 tpm pendant 20min (Mashiar *et al.*, 2009). Pour éviter toutes transformations des composés, l'extrait des feuilles de *M. oleifera* est préparé le jour même des expériences.



Figure 8 : Ecrasement des Feuilles fraîches de *M. oleifera* .

I.2.1.1.6. Décoction

Elle consiste à faire bouillir 10g de poudre de plante de *M. oleifera* dans 100 ml de l'eau distillé pendant 30 min. Puis filtré par le papier filtre Whatman. Le filtrat est réuni, centrifugé à 4000 tr/min pendant 20 min et conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

I.2.1.1.5. Infusion

Elle consiste à faire infuser 10 g de la poudre de plante de *M. oleifera* dans 100 ml de l'eau distillée, portée initialement à ébullition, pendant 30 minutes (à l'obscurité). A La fin de l'extraction l'extraits a été récupérés, filtrés puis centrifugés à 4000 tr/min pendant 20 min et conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

I.2.1.1.2. Extraction éthanolique

Une quantité de 50 g de poudre végétale de *M. oleifera* a été extraite par percolation type Soxhlet avec 500 ml d'éthanol sous réfrigérant à reflux jusqu'à épuisement (figure 8). L'extrait recueilli dans un ballon a été concentré à l'aide du rotavapor. Après concentration, l'extrait a été recueilli dans un flacon stérile (Harborne, 1998).



Figure 9 : Extraction éthanolique par soxhlet

I.2.1.1.3. Extraction hydro-méthanolique

L'extraction a été effectuée par macération de 40 g de la poudre végétale (*M. oleifera*) dans 500 ml d'un mélange Méthanol-Eau (70/30, V/V) (Fathiazad *et al.*, 2011). Le mélange a été agité vigoureusement pendant 48 heures à l'aide d'un agitateur. Après filtration sous vide (à l'aide d'une pompe) par le papier filtre Whatman, la phase hydro-alcoolique résultant a été évaporée à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 50°C pour éliminer le méthanol (Figure 10).



Figure 10: Etapes Principales réaliser dans la préparation de l'extrait hydro-méthanolique

I.2.1.1.4. Extraction par l'acétate d'éthyle et le butanol

Plus tard, la phase aqueuse obtenue par l'extraction hydro-méthanolique a été fractionnée par extraction liquide-liquide par les solvants, d'abord avec l'acétate d'éthyle et puis avec le n-butanol, en utilisant une ampoule à décanter. Les fractions ont été ensuite concentrées à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C pour l'évaporation de l'acétate d'éthyle (Figure 11) et à 60°C pour l'évaporation de n-butanol (Figure 12) (Bekkara *et al.*, 1998).

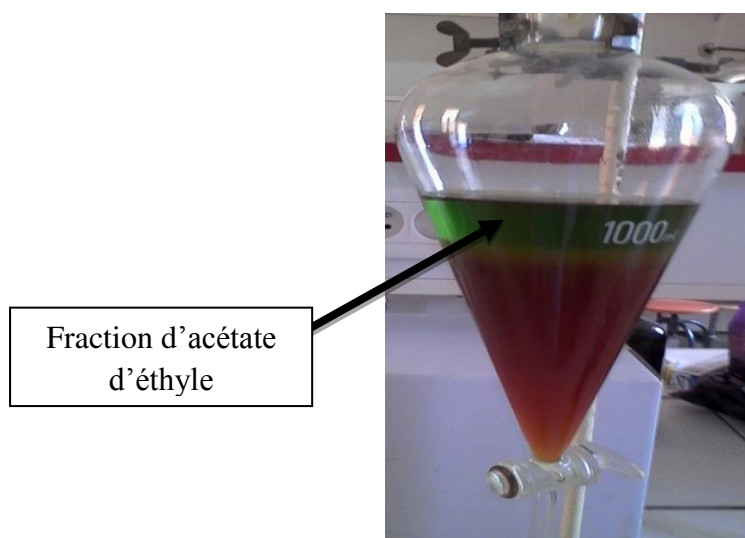


Figure 11 : Séparation de la fraction d'acétate d'éthyle

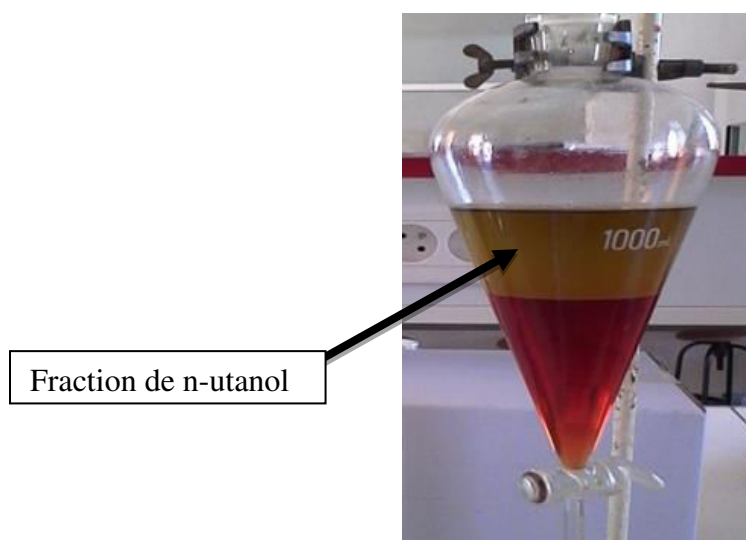


Figure 12 : Séparation de la fraction de n-butanol

I.2.1.2. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids d'extrait et le poids de la plante sèche à traiter. Il est exprimé en pourcentage suivant la formule donnée par Falleh *et al.* (2008)

$$R (\%) = 100 \text{ Mext/Méch.}$$

Où :

R est le rendement en %.

Mext est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en gramme.

Méch est la masse sèche de l'échantillon végétal en gramme.

I.2.2. Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

I.2.2.1. L'effet antibactérien par la méthode de diffusion par disque

L'activité antimicrobienne des différents extraits préparés a été déterminée par la méthode de diffusion par disque en milieu gélosé Mueller-Hinton (MH) (Sacchetti *et al.*, 2005; Celiktas *et al.*, 2007).

A partir d'une culture pure de 20 heures sur gélose nutritif (GN), une suspension bactérienne a été préparée et ajusté à 10^6 UFC/ml avec de l'eau physiologique. 1 ml de cette suspension a été déposé sur chaque boîte de Pétri contenant 20 ml de gélose MH. Après une imprégnation de 2 min, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. 5 min plus tard, des disques en papier Whatman de 6 mm de diamètre stérile et imprégnés durant 15-20 min dans des solutés d'extraits ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose des boîtes

inoculées. Les boîtes sont laissées 15 min à température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24 heures, l'activité antimicrobienne a été traduite par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques.

I.2.2.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24h. La technique de micro dilution dans des microplaques à 96 puits est la méthode choisie pour déterminer la concentration minimale inhibitrice des différents extraits testés.

Avant la préparation de la gamme de concentration, les extraits sous forme de poudre ont été solubilisés dans 10% de diméthylsulfoxyde (DMSO) pour préparer une solution de 50mg/ml puis stérilisés par une filtration par filtre millipore 0,45 µm. A partir de cette solution stérile pour chaque extrait préparé, une gamme de concentrations a été préparée dans des tubes à essai par la méthode d'une dilution selon une progression géométrique de raison 2.

La répartition d'extrait végétal s'est faite de sorte que les puits de première ligne de microplaque remplie par 100 µl de la plus grande concentration. Les puits de la deuxième ligne par la deuxième concentration et ainsi de suite. La dernière ligne recevra 100 µl d'eau distillée stérile à chaque puits qui a servi de témoin de croissance. Ensuite les puits de la microplaque sont inoculés par 100 µl de TSB double concentré inoculé avec 10^6 UFC/ml. Les résultats sont lus après une incubation de la microplaque à 37°C pendant 24 h. La CMI a été donc la concentration du premier puits à partir duquel aucun trouble à l'œil nu n'a été observé (Choukchou-Braham *et al.*, 2010) (Figure 13). Cette opération a été répétée 2 fois.

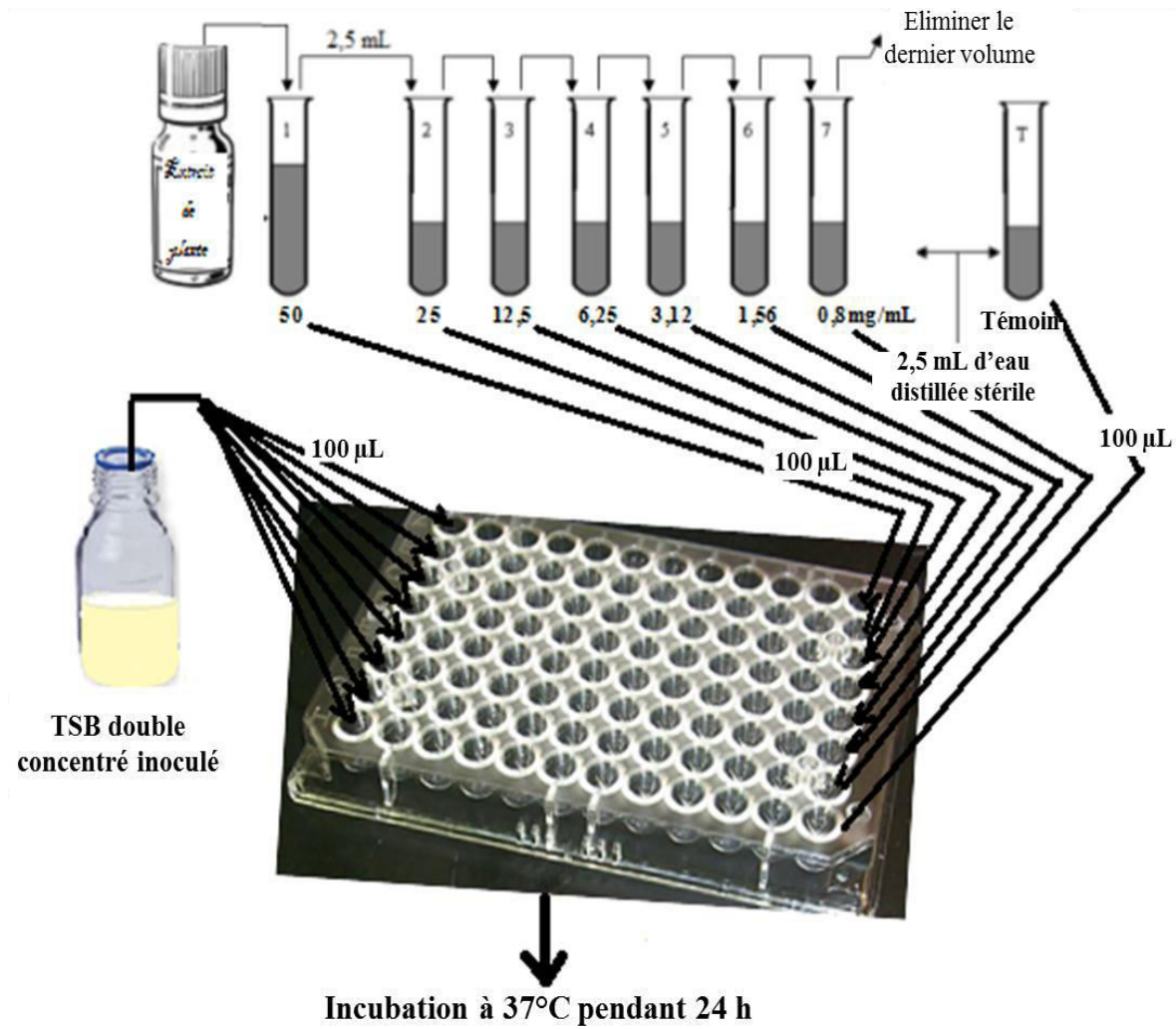


Figure 13 : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide par la technique de microdilution en microplaque.

I.2.2.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Pour sa détermination, des prélèvements sont effectués dans chacun des puits dépourvus de trouble bactérien puis déposés « en stries » sur gélose Mueller Hinton puis incubés à 37°C. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures (Biyiti *et al.*, 2004).

Chapitre II

Résultats et discussion

II. Résultats et Discussion

II.1. Identification confirmative des isolats

Le tableau suivant (tableau 6) représente les résultats de quelques tests réalisés pour confirmer l'identification qui été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie et de biologie végétale (Mostaganem) thèse de doctorat en cours. On trouve que tous les isolats montrent une coloration de Gram positive, présence de catalase et absence de caogulase et de l'oxydase. Ces caractères affirment l'appartenance des isolats au groupe des *Staphylococcus* à coagulase négative (Becker et von Eiff, 2011)

Tableau 6 : Résultats d'identification partielle des isolats.

isolats préalablement identifiés par le Laboratoire de Microbiologie et Biologie Végétale	La coloration de Gram	Coagulase	Catalase	Oxydase
<i>S. xylosus</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. epidermidis</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. cohini</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. epidermidis</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. hominis</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. epidermidis</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. haemolyticus</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. xylosus</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. xylosus</i>	Staph-G ⁺	-	+	-
<i>S. haemolyticus</i>	Staph-G ⁺	-	+	-

II.2. Etude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques

Les résultats de la susceptibilité des isolats testés aux antibiotiques utilisés ont été déterminés suivant les valeurs de référence fournies par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2015) (Figure 14 et Tableau 7). Tous les isolats montrent une résistance élevée envers les antibiotiques testés appartenant aux groupes des β -lactames (Pénicilline G, Oxacilline). Aujourd'hui près de 90 % des souches de staphylocoques isolées en milieu hospitalier et en milieu extrahospitaliers résistent à la

pénicilline G par production de pénicillinases qui ouvrent le cycle bêta-lactame de la molécule et inactivent l'antibiotique. Ces pénicillinases sont extracellulaires, inductibles et généralement codées par des plasmides (Monteil *et al.*, 1992).

Les résultats de notre étude montrent aussi la sensibilité de la plupart des souches aux antibiotiques testés appartenant aux groupes des Aminosides (Gentamycine, Nétilmicine, Tobramycine) et aussi vers Vancomycine. Ces résultats sont similaires aux résultats obtenus par Joshua (2016) où il été trouvé parmi des 106 des isolats SCN de l'infection urinaire : 86% des isolats sont sensibles à Gentamycine, 88% des isolats résistances à Oxacilline. Les isolats ont montré une susceptibilité variable vers le Fosfomycine.

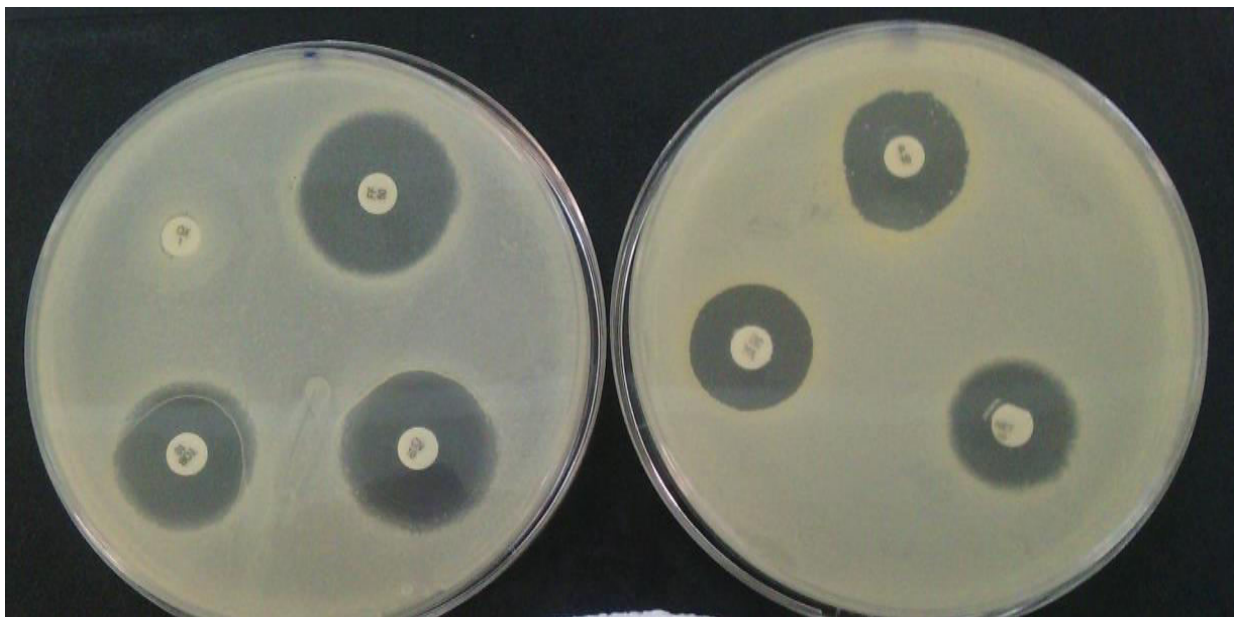


Figure 14 : Sensibilité des SCN testé aux antibiotiques testés

Pénicilline G (P), Gentamycine (CN), Nétilmicine (NET), Tobramycine (TOB), Fosfomycine (FF),
Oxacilline(OX), Vancomycine (VA).

Tableau 7 : Susceptibilité des isolats des SCN vers des antibiotiques testés (Les diamètres des zones d'inhibition en mm)

Les isolats testés	Pnicillines		Aminoside			Divers	
	P	OX	CN	NET	TOB	FF	VA
<i>S. xylosus</i>	17	/	30	30	30	/	18
	R	R	S	S	S	R	S
<i>S. epidermidis</i>	13	16	20	15	20	20	20
	R	R	S	R	S	S	S
<i>S. cohini</i>	/	/	25	19	20	20	20
	R	R	S	R	S	S	S
<i>S. epidermidis</i>	18	8	30	25	28	/	25
	R	R	S	S	S	R	S
<i>S. hominis</i>	IM	IM	IM	12	IM	IM	20
	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. epidermidis</i>	/	/	/	10	/	/	20
	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. haemolyticus</i>	IM	/	/	10	/	/	20
	R	R	R	R	R	R	S
<i>S. xylosus</i>	15	15	21	18	20	22	25
	R	R	S	R	S	S	S
<i>S. xylosus</i>	/	/	25	21	21	20	22
	R	R	S	S	S	S	S
<i>S. haemolyticus</i>	/	/	/	12	IM	/	25
	R	R	R	R	R	R	S

S : Isolats testés de Staphylocoques à Coagulase Négative

S : sensible

R : résistant

P : Pénicilline G, CN : Gentamycine, NET : Nétilmicine, TOB : Tobramycine, FF : Fosfomycine, OX : Oxacilline,

VA : Vancomycine.

II.5. Le taux d'humidité de *M. oleifera*

Les résultats indiquent que le taux d'humidité de la plante *M. oleifera* est élevé (Figure 15). Cette plante résiste bien à la sécheresse grâce à ses racines tubéreuses lui permettant d'accumuler de l'eau (Arbonnier, 2000). *M. oleifera* est capable de tolérer les mauvaises conditions du sol. Elle est originaire des régions sub-himalayennes du nord-ouest de l'Inde, mais elle est actuellement trouvée dans les régions tropicales à travers le monde (Quintin *et al.*, 2011).

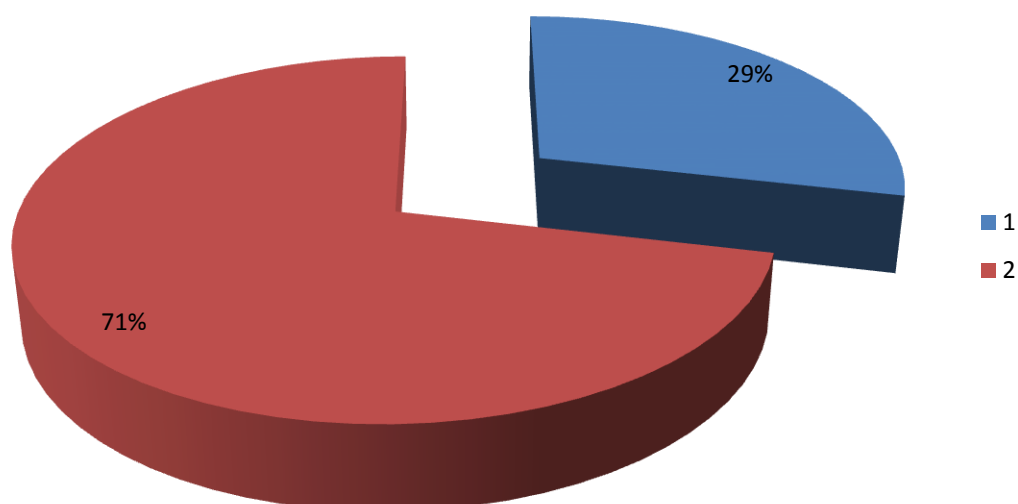


Figure 15 : Le taux d'humidité de *M. oleifera*.

1: partie du poids sec de la plante, 2 : taux d'humidité

II.6. Activité antibactérienne et effet des extraits de plantes de *M. oleifera* contre les SCN

II.6.1. Extraction

II.6.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des fractions d'acétate d'éthyle et de butanol de *M. oleifera* a été calculé par rapport au poids total de la poudre végétale de la plante. Selon les résultats obtenus on a remarqué que le rendement d'extraction varie suivant le solvant utilisé. Les résultats montrent que l'extrait obtenu par le butanol à un rendement d'extraction de 9% est plus important que l'extrait obtenu par l'acétate d'éthyle de 4,66%. Cette remarque a été enregistrée aussi par Anis *et al.* (2011) ou ils ont mentionné un rendement plus important pour

l'extrait butanolique des feuilles d'une autre plante *L. inermis* comparativement avec d'autres solvants testés dont l'extrait d'acétate d'éthyle.

II.6.2 Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

II.6.2.1. L'effet antibactérien par la méthode de diffusion en milieu gélosé

On a utilisé la méthode de diffusion par disques sur le milieu gélosé MH pour caractériser l'activité antibactérienne des extraits étudiés (Figure16). C'est une technique qualitative basée sur la détermination du diamètre des zones d'inhibition apparentées autour des disques chargés par les extraits testés. Le tableau 8 représente les diamètres des zones d'inhibition de différents extraits réalisés de *M. oleifera*.

L'extrait d'acétate d'éthyle montre une activité antibactérienne la plus élevée contre tous les isolats testés avec des zones d'inhibition comprises entre 15 et 30 mm. A l'inverse de l'extrait d'éthanol qui montre une activité antimicrobienne la plus faible ou nulle contre tous les isolats testés. Ces résultats sont proches des résultats obtenus par Rathi *et al.* (2006) où ils mentionnent que trois extraits des feuilles de plante de *M. oleifera* (aqueuse, méthanolique, éthanolique), l'extrait d'éthanol possède la plus faible activité antibactérienne. Les autres extraits montrent une activité antibactérienne moyenne. L'activité antimicrobienne de jus frais des feuilles et des extraits de *M. oleifera* contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* a été montrée aussi par les travaux de Cáceres *et al.* (1991) et contre certaines bactéries pathogènes humaines par Alam *et al.* (2009) et contre *Staphylococcus aureus* (SAMR) et *Klebsiella* sp. Par Kamath *et al.* (2016).

Tableau 8 : Activité antibactérienne (Zones d'inhibition en mm) de différents extraits préparés à partir de *M. oleifera*.

Les isolats testés	Les extraits testés de plante <i>M. oleifera</i> .					
	Extrait de jus frais	Extrait de Décoction	Extrait d'infusion	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait de Butanol	Extrait d'éthanol
<i>S. xylosus</i>	IM	IM	9.5	19	9	/
<i>S. epidermidis</i>	/	IM	8	15.5	16	IM
<i>S. cohini</i>	9.5	8.5	IM	30	10	IM
<i>S. epidermidis</i>	/	IM	IM	18	/	7.5
<i>S. hominis</i>	/	/	/	19.5	9	IM
<i>S. epidermidis</i>	11.5	/	12	16	IM	/
<i>S. haemolyticus</i>	6.5	10	9	16.66	14	/
<i>S. xylosus</i>	7.5	/	/	16.5	IM	/
<i>S. xylosus</i>	10.66	9.66	9	25	10.5	7.5
<i>S. haemolyticus</i>	9.33	6	IM	18	8.5	/

IM : Diamètre de zone d'inhibition ≤ 7 mm

/ : Pas de zone d'inhibition

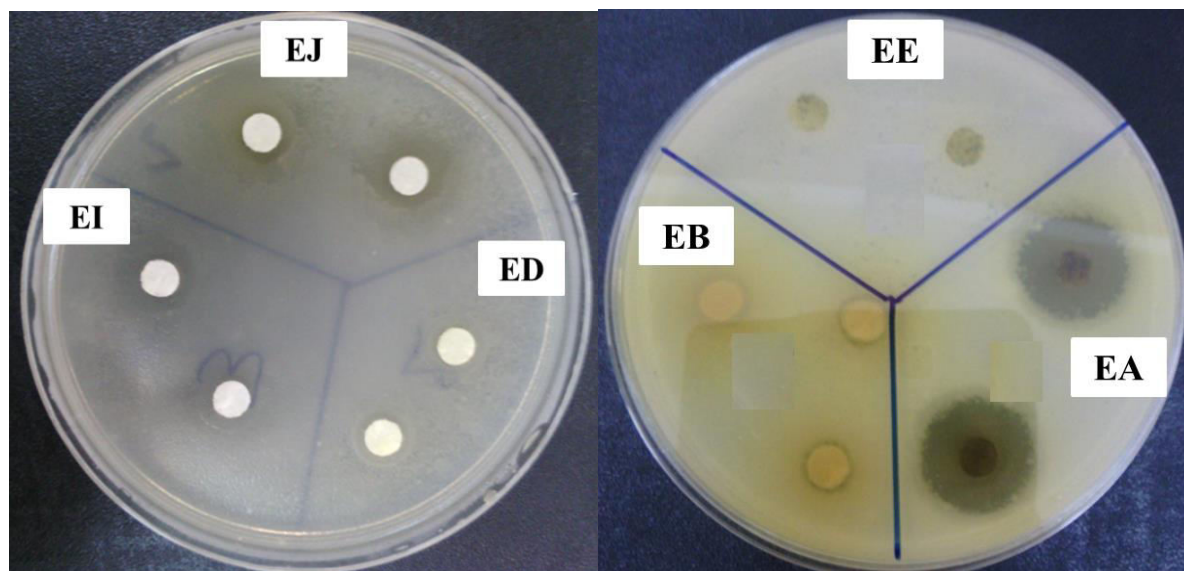


Figure 16 : Activité antibactérienne des extraits préparés contre *SCN* testé

(EJ : extrait de jus frais, ED : extrait de décoction, EI : extrait d'infusion, EA : extrait d'acétate d'éthyle, EB : extrait butanolique. EE : extrait éthanolique).

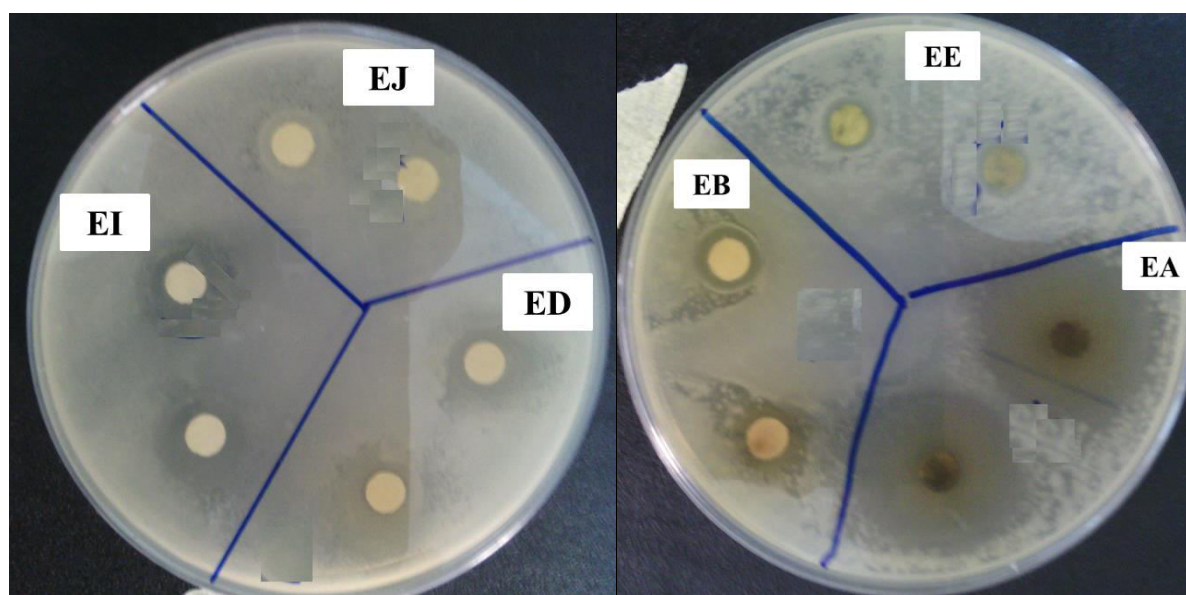


Figure 17 : Activité antibactérienne des extraits préparés contre *S. cohini* testé (EJ : extrait de jus frais, ED : extrait de décoction, EI : extrait d'infusion, EA : extrait d'acétate d'éthyle, EB : extrait butanolique. EE : extrait éthanolique).

II.6.2.2. Détermination de La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La technique de micro-dilution en milieu liquide dans des microplaques de 96 puits a révélé les valeurs de la CMI de différents extraits testés de *Moringa oleifera* (Tableau 9).

La comparaison de l'activité antibactérienne entre les deux fractions obtenues par l'acétate d'éthyle et le butanol indique que la fraction d'acétate d'éthyle, qui a des valeurs de la CMI de 0.23 mg/ml à 0.93 mg/ml inhibe la bactérie testée plus que la fraction butanolique qui montre une CMI de 12.5 mg/ml et 50 mg/ml). Ceci peut être dû à la grande quantité des substances actives extraites au cours du processus d'extraction dans la fraction d'acétate d'éthyle.

La concentration minimale bactéricide (CMB) était d'environ 0.93mg/ml à 3.75mg/ml pour l'extrait d'acétate d'éthyle et de 25 mg/ml à 50mg/ml pour l'extrait butanolique (Tableau 9).

On a enregistré aussi une activité antibactérienne élevée par l'extrait d'infusion avec des valeurs de CMI allant de 3.12 % à 12.5 %.

Cette activité enregistrée contre les isolats testés des SCN suggère que ces extraits contiennent des composés phytochimiques efficaces responsables de l'inhibition de la croissance des bactéries testées.

En plus des activités antimicrobiennes de cette plante montrés par quelques travaux dans la littérature (Peixoto *et al.*, 2011 ; Zaffer *et al.*, 2014 ; Dzutam *et al.*, 2016), Cáceres *et al.* (1992) ont signalé une activité anti-inflammatoire des infusions d'eau chaude des fleurs, des feuilles, des racines, des graines et des tiges ou de l'écorce de *M. oleifera*. Mahajan *et al.* (2009) ont évalué l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de n-butanol des graines de *M. oleifera* contre l'inflammation des voies respiratoires induite par l'ovalbumine chez les cobayes.

Fiona *et al.*, 2016 ont indiqué que Les composés isolés à partir des feuilles et des graines de la plante étaient la quercétine-3-O-glucoside (1), l'isothiocyanate de 4- (β -D-glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy) -benzyle (2), la lutéine (3) et le sitostérol (4). L'activité antioxydante du composé 1 était significative par rapport à celle du témoin, tandis que le composé 2 présentait une activité modérée. La cytotoxicité des composés 1 et 2 a été testée dans trois lignées cellulaires, à savoir, carcinome hépatocellulaire hépatique (HepG2), carcinome du côlon (Caco-2) et une lignée cellulaire non cancéreuse Human Embryonic Kidney (HEK293), en utilisant le test de viabilité cellulaire MTT et comparé à un médicament anticancéreux standard, le 5-fluorouracile. La quercétine qui est l'un des flavonoïdes les plus biologiquement actifs. Il agit comme un polyphénol puissant antioxydant et modulateur du système immunitaire. Elle est le composé naturel qui améliore la santé osseuse, élimine les radicaux libres qui endommagent les membranes cellulaires et altèrent l'ADN et provoquent même la mort cellulaire.

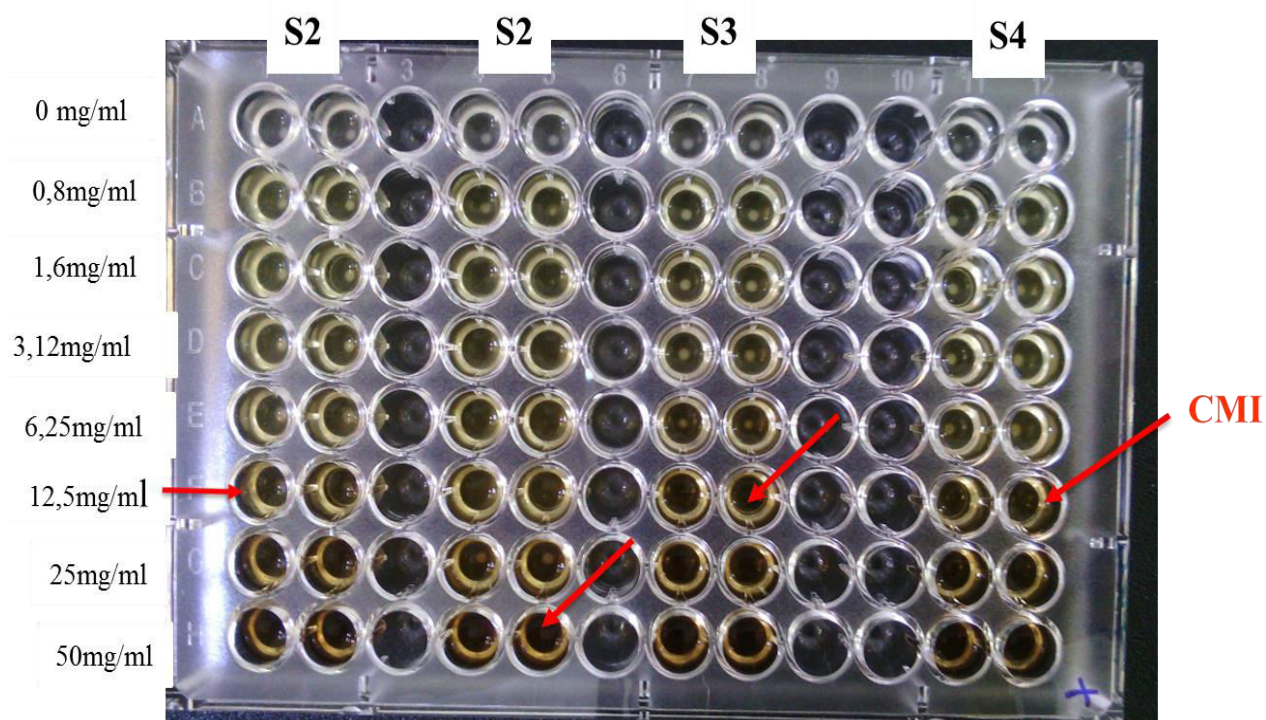


Figure 18 : La CMI de l'extrait butanolique des feuilles de *M. oleifera*

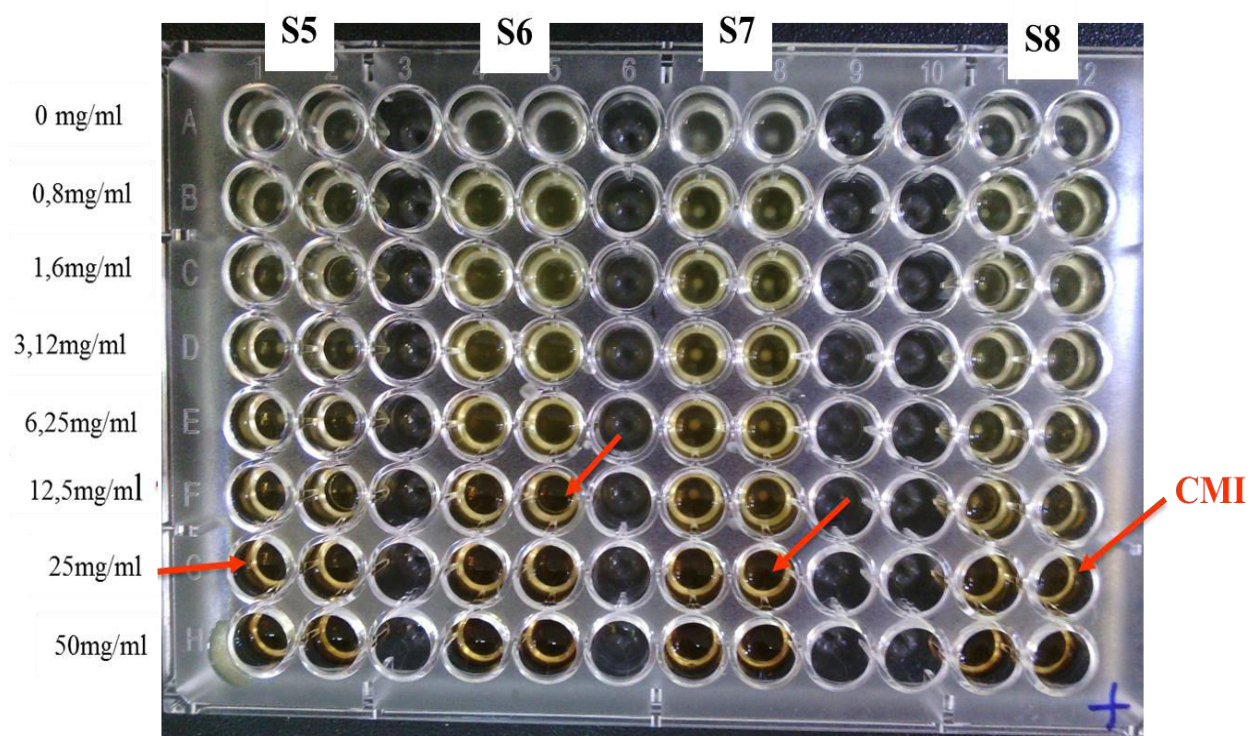


Figure 19 : La CMI de l'extrait d'infusion des feuilles de *M. oleifera*

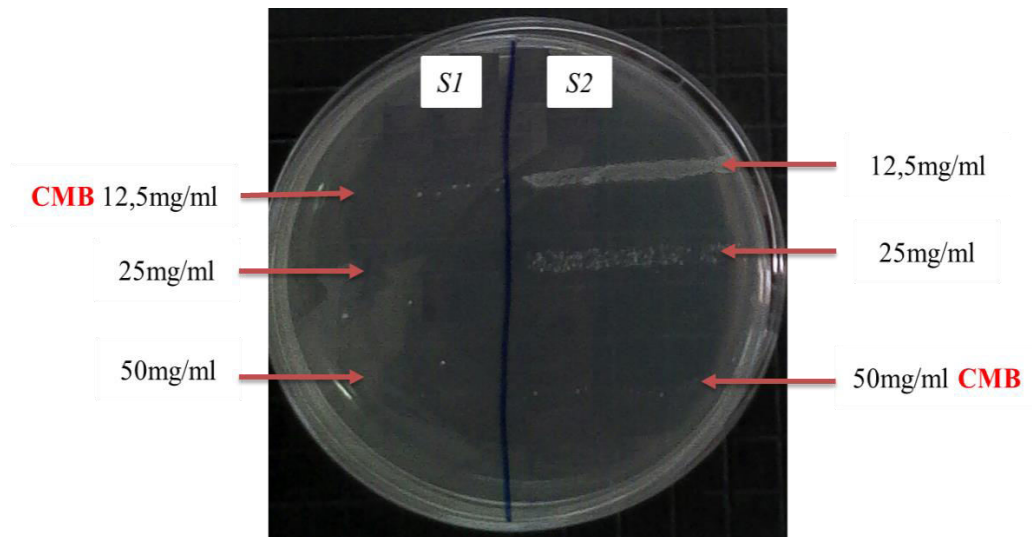


Figure 20 : La CMB de l'extrait butanolique des feuilles de *M. oleifera* pour les isolats *S1* et *S2*.

Tableau 9 : Valeurs des paramètres antibactériens (CMI et CMB) des différents extraits testés sur les souches étudiées de SCN

Extraits des plantes		Les isolats testés									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
EJ	CMI (%)	25	12.5	12.5	12.5	25	25	25	25	12.5	12.5
	CMB (%)	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
ED	CMI (%)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	CMB (%)	/	/	/	/	50	/	50	50	/	/
EA	CMI (mg/ml)	0.23	0.23	0.46	0.64	0.46	0.93	0.46	0.93	0.46	0.93
	CMB (mg/ml)	0.93	0.93	/	0.93	1.87	3.75	1.87	1.87	0.93	1.87
EB	CMI (mg/ml)	12,5	50	12.5	12,5	25	12,5	25	25	12.5	50
	CMB (mg/ml)	12,5	50	12,5	25	25	12,5	25	25	25	50
EI	CMI (%)	3.12	6.25	12.5	6.25	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
	CMB (%)	6.25	50	12.5	50	50	50	50	25	12.5	12.5

EJ : extrait de jus frais.

ED : extrait de décoction.

EA : extrait d'acétate d'éthyle. **EB :** extrait butanolique.

EI : extrait d'infusion.

1, 8,9 : *S.xylosus*.

2, 4,6 : *S.epidermidis*.

7, 10 : *S.haemolyticus*.

3 : *S.cohini*.

5 : *S.hominis*.

Conclusion

Conclusion

Les staphylocoques à coagulase négative ont été considérés longtemps comme dépourvus de pouvoir pathogène et comme de simples contaminants de prélèvements défectueux. Aujourd'hui il est clair qu'au moins deux espèces, *S. epidermidis* et

S. saprophyticus, sont des bactéries opportunistes potentiellement pathogènes. Trois principaux facteurs favorisent ces infections : l'immunodépression, l'antibiorésistance et la présence de matériel étranger dans l'organisme humain.

Dans cette étude, nous avons testé l'activité antibactérienne des extraits obtenus à partir de la plante *Moringa oleifera* sur la croissance des isolats des SCN.

Selon nos résultats obtenus, il ressort que les extraits testés de la plante *M. oleifera* ont présenté des propriétés antibactériennes variables contre les isolats testés des SCN. Nous avons remarqué une activité inhibitrice élevée par l'extrait d'acétate d'éthyle et une activité moyenne par les extraits de butanol, de décoction et d'infusion. L'extrait d'éthanol a montré une activité faible ou nulle vis-à-vis le groupe étudié des SCN.

Les résultats de cette étude confirment l'intérêt médical et pharmaceutique de la plante de *M. oleifera* et confirme les multiples descriptions qui ont été dites à propos de cette « plante magique - arbre de vie - arbre miracle ».

En perspectives, les recommandations suivantes sont suggérées :

- Etablir des études phytochimiques des extraits de cette plante pour pouvoir connaître leur composition et comprendre leur mode d'action.
- Réaliser une étude sur les effets antioxydants, antiviraux et antiparasitaires de cette plante
- Confirmer par des tests «*in vivo*» l'intérêt thérapeutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abadie J., (2007). La traite des plantes. La recherche. 51 (411) : 50-52.
- ALAIN HERARD, LUCIEN BRASME, ROLAND JAUSSAUD, JEROME COLIN, VERONIQUE VERNET-GARNIER, BERTRAND LARDENNOIS, 1998 .Place actuelle des staphylocoques à coagulas négative en urologie.
- Al-Amiery Ahmed A., Kadhum Abdul Amir Hassan., Abu Bakar Mohamed (2012) Antifungal activities of new coumarins. *Molecules* 17, 5713-5723 ISSN 1420-3049.
- Al-Kharusi LM, Elmardi MO, Ali A, Al-Said FAJ, Abdelbasit KM, Al- Rawahi S (2009). Effect of mineral and organic fertilizers on the chemical characteristics and quality of date fruits. *Int. J. Agric Biol.*, 11: 290-296.
- Anis BH, Mohamed T, Gérald C, Yves B, Samir J. 2011. Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chemistry*, 125(1), 193–200.
- Anwar F, Sajid L, Muhammad A, Anwarul HG (2007). *Moringa oleifera*: A Food plant with Multiple Medicinal Uses. *Phytother. Res.*, 21: 17- 25.
- Baba-Aïssa F. (2000), Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.
- Badiaga M., (2012). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse Docteur d'université. Ecole doctorale des sciences fondamentales. 183 p.
- Batawita K, Kokon K, Akpagona K, Koumaglo K, Bouchet P. (2002). Activité antifongique d'une espèce en voie de disparition de la flore togalaise : *Conyza aegyptiaca* (L) Ait. Var. *lineariloba* (DC) O. Hoffum (Asteraceae).
- Becker, K. & von Eiff, C. (2011). *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci. In *Manual of Clinical Microbiology*, pp. 308–330. Edited by J. Versalovic, K. C. Carroll, G. Funke, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & D. W. Warnock Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Bégin D., Gérin M. (2002) Les Grandes Familles de Solvants Organiques, Utilisation et Aspects Physico-Chimiques. In: Gérin M. (Ed) Solvants industriels: Santé, Sécurité, Substitution. Masson, Paris. p13-38.
- Bekkara F, Jay M, Viricel MR, Rome S. 1998. Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. *Plant and Soil*, 203(1), 27-36.
- Biyiti LF, Meko'o DJL, Tamzic V, Amvam Zollo PH. 2004. Recherche de l'Activité Antibactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 13, 11-20.
- Booth N.L., Dejan N., Richard B., Stoci E., (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 50:120-123.
- BOSCIA J.A., KOBASA W.D., KNIGHT R.A., ABRUTYN E., LEVISON M.E., KAYE D, 1986, Epidemiology of bacteria in an elderly ambulatory population.
- Bouhadjera K.,(2005). contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* r.br. et *Aristida pungens* l. thèse Diplôme de Doctorat d'état université abou bekr belkaid Algérie 149p.
- Boulos, L. ,1999. *Flora of Egypt*. Vol. 1 (Azollaceae-Oxalidaceae). *Nordic. J. Bot.* 19, 328.

- Bourkhiss, M., M. Hnach, B. Bourkhiss, M. Ouhssine and A. Chaouch (2007). "Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc." *Afrique Sciences* 3: 232 - 242.
- BOYCE JM, 1996, Treatment and control of colonization in the prevention of nosocomial infections.
- Brisibe EA, Umoren UE, Brisibe F, Magalhaes PM, Ferreira JFS, Luthria D, Wu X, Prior RL (2009). Nutritional characterization and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L. *Food Chem.* 115: 1240-1246.
- Broin M (2006). The nutrient value of *Moringa oleifera* Lam. leaves: What can we learn from figure? 2006 Moringa news work shop.
- Bruneton J., (1993). *Pharmacognosie et Phytochimie des plantes médicinales*. 2^{ème} édition, Paris.P 914.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales*, Tec & Doc Lavoisier 1269 pages.
- Bruneton, J., (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales*. 3eme Ed, Tec&Doc Lavoisier, Paris, pp.1120.
- Busani Moyo, Patrick J. Masika, Arnold Hugo, Voster Muchenje, 2011. Nutritional characterization of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves
- Cáceres, O. Cabrera, O. Morales, P. Mollinedo, P. Mendia. *Journal of*
- Celiktas OY, Hames Kocabas EE, Bedir E, Vardar Sukan F, Ozek T, Baser, KHC. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.
- CHARACKLIS W.G., MARSHALL K.C. 1990, *Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach*.
- Chevallier A. (2001) *Encyclopédie des plantes médicinales*. Larousse. pp: 61, 293.
- Choukchou-Braham N, Rahmoun MN, Benabdallah M, Villemin D, Boucherit K, Mostefa-Kara B, Ziani-Cherif C. 2010. Antimicrobial screening of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Der Pharma Chemica*, 2(6), 320-332.
- CHRISTENSEN G.D, 1982, Adherence of slime-producing strains of staphylococcus epidermidis to smooth surfaces.
- Cordell, G. A., (1981). *Introduction to alkaloids, a biogenetic approach*, John Wiley, New York.
- Cottiglia F., Loy G., Garan D., Floris C., Casu M., Pompei R., Bonsignore L., (2001). Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine*, 8(4): 302-305.
- Dacosta Y., (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. (Ed)Paris.317p.
- Deina M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F., Bonsignore L., (2003). *Natural product: their chemistry*
- Dewick, P. M. (2011). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, Wiley 550 pages.
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM, 2000, Exotoxins of *Staphylococcus aureus*.
- Dzatam JK, Touani FK, Kuete V (2016) Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. *BMC complementary and alternative medicine* 16: 1.
- El Sohly H.H., Joshi A.S., Nimrod A.C., (2001) Antifungal chalcones from *Maclura tinctoria*. *Planta. Med.*, 67,87-89.
- ETESSE M, 1992, *Infections et matériel étranger*.
- *Ethnopharmacology*, 1991, 33(3), 213-216.

- Evans W.C. (2002) Trease and Evans Pharmacognosy. Saunders, Edinburgh, UK. p137, 138.
- Fathiazad F, Mazandarani M, Hamedeyazdan S. 2011. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* L. from Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1(2), 63-67.
- FERRY S., BURMAN L.G., HOLM S.E, 1988, Clinical and bacteriological effects of therapy of urinary tract infection in primary health care
- Fiona C. Maiyo, Roshila Moodley, Moganavelli Singh.2016. Cytotoxicity, Antioxidant and Apoptosis Studies of Quercetin-3-O Glucoside and 4-(β-D-Glucopyranosyl-1→4-α-L-Rhamnopyranosyloxy)-Benzyl Isothiocyanate from *Moringa oleifera* Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry Volume 16.
- Fiorucci S., (2006). Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes: Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis, 212 p.
- Foidl N., Makkar H.P.S, et Becker K, 2001.Potentiel de *moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie.
- Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M., (2001).The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39: 153-162.
- Foster TJ, 2002, *Staphylococcus aureus*. In *Molecular Medical Microbiology*
- FREEMAN D.J., FALKINER F.R, 1991, Coagulase-negative staphylococci and continuous ambulatory peritoneal dialysis.
- Frutos P, Hervás G, F Giráldez and A Mantecón., (2004). Review : Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2), 191-202.
- GEME J.W.III, HARRIS, M.C, 1991, Coagulase-negative staphylococcal infection in the neonate.
- Gérin M. (2002) Solvants et Prévention : Nouvelles Perspectives. In: Gérin M. (Ed) Solvants industriels: Santé, Sécurité, Substitution. Masson, Paris. p1-12.
- Ghestem A., Segun E ., Paris M ., Orecchioni A-M. (2001).Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273p.
- Goetz P. (2004) Plaidoyer pour la tisane médicinale, *Phytothérapie*, 1, 8-15.
- Goetz P., Busser C. (2007) *La Phytocosmétologie Thérapeutique*. Springer-Verlag France, Paris. p53-54.
- Goetz, P. and K. Ghedira (2012). Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. in *Phytothérapie anti-infectieuse*, Springer Paris: 193-208.
- GRAY L.D., REGELMANN W.E., PETERS G, 1987, Staphylococcal slime and host defenses. In *Pathogenicity and clinical significance of coagulase negative staphylococci*.
- Guignard J.L., (1998). Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris, 212p.
- Hadi M., (2004). La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p.
- Handa S.S. (2008) An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. p 21-54.
- Hatano T., Kusuda M., inada K., Ogawa T.O., Shiota S., Tsuchiya T., Yoshida T., (2005). Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 66:2047-2055.

- Hebert GA,1990, Hemolysins and other characteristics that help differentiate and biotype *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus*
- Hemingway, S. R. and Phillipson, J. D., (1980) Alkaloids of the Rubiaceae. In : J. D. Phillipson and M.H. Zenk (Eds), Indome and Biogenetically Related Alkaloids. Academic Press, London, pp. 62-90.
- HERARD A., YOUINOU Y., LARDENNOIS B.1997, Quantification du biofilms sur les biomatériaux : étude sur 40 End prothèses urétérales en double J.
- Hoffmann L., (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg, 245p.
- HOVELIUS B., MARDH P.A., BYGREN P, 1979, Urinary tract infections caused by *Staphylococcus saprophyticus*: recurrences and complications.
- HOVELIUS B., THELIN I, MARDH P.A, *Staphylococcus saprophyticus* in the etiology of nongonococcal urethritis.
- Hussein E. Osman and Atalla A. Abohassan (2012). Morphological and Analytical characterization of *Moringa peregrina* *International Journal of Theoretical & Applied Sciences*, 4(2): 174-184 (2012)
- Joshua Mbanga, Sithabile Masukua,Silence Luphahla.2016, Antibiotic Resistance Patterns and Virulence Factors of Coagulase Negative *Staphylococcus* Associated with Urinary Tract Infections in Bulawayo Province, Zimbabwe.
- Kamath N, R Swaminathan and N Desai(2016) Antibacterial activity of Indian medicinal plant-*Moringaoleifera* against MRSA and *Klebsiella*Spp.(ESBL) which are commonly isolated bacteria in hospital environments.*International Journal of Applied Research*; 2(8): 515-517
- KARCHMER A.W., ARCHER G.L, DISMUKESW.E, 1993, : *Staphylococcus epidermidis* causing prosthetic valve endocarditis :microbiologic and clinical observations as guides to therapy
- Khan I., Kulkari M.V., Gopal M., Shahabuddin., (2005). Synthesis and biological evaluation of novel angularly fused polycyclic coumarins. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15: 3584-3587.
- Kim H P, Son K H, Chang H W and kong S S., (2004). Antiinflammatory plant flavonoids .
- Kozat S (2007). Serum T3 and T4 concentrations in lambs with nutritional myodegeneration. *J. Vet. Intern. Med.*, 21: 1135-1137.
- Kraft K., Hobbs C. (2004) *Pocket Guide to Herbal Medicine*. Thieme, Stuttgart, New York. p16.
- KRIEGER J.N, McGONAGLE L.A, 1989. Diagnosis considerations and interpretation of microbiological findings for evaluation of chronic prostatitis.
- Kyriazakis I, Houdijk JG (2006). Nutritional control of parasites. *Small Ruminant Res.*, 62: 79-82.
- Lambe, Jr. D.W., Ferguson, K.P., Keplinger, J.L., Gemmell, C.G. and Kalbfleisch, J.H. 1990. Pathogenicity of *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus schleiferi*, and three other coagulase-negative staphylococci in a mouse model and possible virulence factors.
- Latte LP, Kolodziej H., (2000). Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch* 55(5-6): 467-72.
- Laure F., (2005). Etude de la composition chimique et de la biodiversité du Calophylum urophyllum de Polynésie française. Thèse de doctorat, Nice.373p.
- LEIGHTON P.M., LITTLE J.A., 1986, Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from urinary tract infections.

- LEWIS J.F., BRAKE S.R., ANDERS, N D.J., VREDEVELD G.N, 1982. Urinary tract infection due to coagulase-negative Staphylococcus.
- LICHT M.R., MONTAGUE D, 1995, Cultures from genitourinary prostheses at reoperation: questioning the role of *Staphylococcus epidermidis* in per prosthetic infection.
- LICHT M.R., MONTAGUE D, 1995, Cultures from genitourinary prostheses at reoperation: questioning the role of *Staphylococcus epidermidis* in per prosthetic infection.
- Louni Sofiane, 2009. Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera*
- Luginbuhl JM, Poore, MH (1998). Nutrition of meat goats.
- M. Mashiar Rahman, M. Mominul Islam Sheikh, Shamima Akhtar Sharmin, M. Soriful Islam, M. Atikur Rahman, M. Mizanur Rahman and M. F. Alam. (2009), Antibacterial Activity of Leaf Juice and Extracts of *Moringa oleifera* Lam. against Some Human Pathogenic Bacteria. *CMU. J. Nat. Sci.* Vol. 8(2) 219.
- M.M. Rahman, M. M. Islam Sheikh, S. A. Sharmin, M. S. Islam, A. Rahman, M. Mizanur Rahman, M. F. Alam. *CMU Journal*, 2009, 8(2), 219-228.
- Makonnen E, Hunde A, Damecha G. 1997. Hypoglycaemic effect of *Moringa stenopetala* aqueous extract in rabbits. *Phytother Res* 11: 147–148.
- Małgorzata.Różalska¹, Anna.Derczyńska, Agnieszka.Maszewska, 2015 Synergistic hemolysins of coagulase-negative staphylococci (CoNS)
- Marfak A., (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGE.187 p.
- Marie Chorie., 2003. Bactériologie
- MARTIN M.A., PFALLER M.A., WENSEL R.P, 1989, coagulase-negative staphylococcal bacteremia.
- Mazauric JP, Salmon JM. (2005). Interactions between yeast less and tannins and related compounds on demathophytes, mould fungi and yeasts.
- MEARES E.M, 1990, Prostitutes and related disorders.
- MIMS A.D., NORMAN D.C., YAMAMURA R.H., YOSHIKAWA T.T, 1990, clinically inapparent bacteriuria in ambulatory elderly men: epidemiological, clinical and microbiological findings.
- MIMS A.D., NORMAN D.C., YAMAMURA R.H., YOSHIKAWA T.T, 1990, clinically inapparent bacteriuria in ambulatory elderly men: epidemiological, clinical and microbiological findings.
- Mishra Garima, Pradeep Singh, Ramesh Verma, Sunil Kumar, Saurabh Srivasta, K. K. Jha and R. L. Khosa, 2011.Traditional uses, photochemistry and pharmacological properties of *Moringa oleifera* plant.
- Molnar C, Hevessy Z, Rozgonyi F, Gemmell CG,1994, Pathogenicity and virulence of coagulase negative staphylococci in relation to adherence, hydrophobicity and toxin production
- Monnier C. *Les plantes médicinales - vertus et traditions*, Ed. Privat, 2002.
- Monteil. Henri, Jean Loup. Avril, Henry. Dabernat, François .Denis, 1992, Bactériologie Clinique
- Murdoch, D.R., Corey, G.R., Hoen, B. Hoen, B., Miró, J.M., Fowler, V.G., Bayer, A.S., Karchmer, A.W., Olaison, L., Pappas, P.A., et al. (2009). Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century : the International Collaboration on Endocarditis-Pro prospective Cohort Study. *Archive of internal Medicine*. 169, 463-473.

- Neely, A.N., Maley, M.P., (2000). Survival of Enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *Journal of Clinical Microbiology*. 38, 724-726.
- Ojala T., Rames S., Haansu P., Vuorela H., Hiltunen R., Haahtela K., Vuerela P., (2000). Antimicrobial activity of some coumarin containing hebal plants growing in filand. *Journal of Enthopharmacology*, 73: 299-305.
- Orturno A., Baidez A., Gomey P., Arenas MC., (2005). Citrus perasidi and Citrus sinensis flavonoïds : Their influence in the defense mechanism against *Penicillium digitatum*.
- Oussou, K. R., C. Kanko, N. Guessend, S. Yolou, M. Dosso, Y. T. N'Guessan, G. Figueredo, J.-C. Chalchat and G. Koukoua (2004). "Activités antibactériennes des huiles essentielles trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire." *Comptes Rendus Chimie* 7: 1081-1086.
- Pal SK, Mukherjee PK, Saha K, Pal M, Saha BP (1995) Antimicrobial action of the leaf extract of moringa oleifera lam. *Anc Sci Life* 14: 197-199.
- Panday SB, Tiwari MR (2002). Ruminant livestock production and their role in sustainable development in Mountain Regions of Nepal.
- Pantucek, R., Svec, P., Dajcs, J.J., Machová, L., Cernohlavkova, J., Sedo, O., Gelbicova, T., Maslanova, I., Doskar, J., Zdrahal, Z., et al., (2013). *Staphylococcus petrasii* sp. nov. Including *S. petrasii* subsp. *Petrasii* sub sp nov. and *S. petrasii* subsp. *Croceilyticus* subsp. nov., isolated from human clinical specimens and humanear infections. *Systematic and Applied Microbiology*. 36, 90-95.
- PARSONS C.L., STEIN PC., DOBKE M.K., VIRDEN C.P., FRANK D.H, 1993, Diagnosis and therapy of sub clinically infected prostheses.
- PATRICK C, 1990, Coagulase-negative staphylococci, pathogens with increasing clinical significance.
- PATRICK C.C, 1990, Coagulase-negative staphylococci: pathogens with increasing clinical significance.
- Peixoto JR, Silva GC, Costa RA, Vieira GH, Fonteles Filho AA. (2011) In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic Moringa leaf extracts. *Asian Pacific journal of tropical medicine* 4: 201-204.
- Pharmacopée française (2010). Xème éd (<http://www.afssaps.fr/Activites/Pharmacopee>).
- Punyasiri PA, Abeysinghe SB, Kumar V., (2005). Performed and induced chemical resistance of tea leaf against *Exobasidium vexans* infections. *J Chem Agri*:31(6):1315-24
- QUINTIN E. MUHL1, ELSA S. DU TOIT AND PETRUS J. ROBBERTSE. *Moringa oleifera* (Horseradish Tree) Leaf Adaptation to Temperature Regimes *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 13, No. 6, 2011.
- RADONSKI S.B., HERSCHORN S, 1992, Risk factors associated with penile prosthesis infection.
- Rathi, B. S., Bodhankar, S. L. and Baheti, A. M. (2006). Evaluation of aqueous extract of *Moringa oleifera* for wound healing in albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 44:898-901.
- S.G. Mahajan, A.A.Mehta. *J Immunotoxicol*. 2007, 4(4), 287-294.
- Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M, Bruni R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*. 91, 621-632.
- Sahpaz S (2013) Composés aromatiques polyphénoliques laboratoire de pharmacogonose EA GRIOTT. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques Univ Lille 2.

- Sampathkumar P, Osmon DR, Cockerill FR. Prosthetic joint infection due to *Staphylococcus lugdunensis*. *Mayo Clin Proc.* 2000 May;75 (5):511–2.
- Scherrmann M.-C., Malacria M., Goddard J.-P., Ollivier C. (2008) *Chimie dans l'Eau* (K1210). Editions Techniques de l'Ingénieur, Paris, France.
- Shah NB, Osmon DR, Fadel H, Patel R, Kohner PC, Steckelberg JM, et al. Laboratory and clinical characteristics of *Staphylococcus lugdunensis* prosthetic joint infections. *J Clin Microbiol.* 2010 May;48 (5):1600–3.
- Shakeel A.J. (1999) *L'Industrie du Parfum dans la Civilisation Islamique*, Afaq Magazine, 25/26, 153-167. (Article en Arabe).
- Sheehy, S.H., Atkins, B.A., Bejon, P., Byren, I., Wyllie, D., Athanasou, N.A., Berendt, A.R., McNally, M.N. (2010). The microbiology of chronic osteomyelitis : prevalence of resistance to common empirical anti-microbial regimens. *Journal of infection.* 60, 338-343.
- Srivastava S.K., Srivastava S. D., and Chouksei B.K. (2001). New antifungal constituents from *Terminalia alata*. *Fitoterapia*, 72, 106-112.
- Tang, Y.W., Han, J., McCormac, M.A., Li, H., Stratton, C.W., (2008). *Staphylococcus pseudolugdunensis* sp. nov., a Pyrrolidonyl arylamidase/ ornithine decarboxylase-positive bacterium isolated from blood cultures. *Diagnostic Microbiology and infectious Disease.* 60, 351-359.
- Tanya, J.H., (1997). Effect of Natural of Synthetic phytosterol Administration on cholesterol Metabolism in Normolipidemic Humans, National Library of Canada.
- TEICHMAN J.M., ABRAHAM V.E., STEIN P.C., PARSONS C.L, 1994, Protamine sulfate and vancomycin are synergistic against *Staphylococcus epidermidis* prosthesis infection in vivo.
- Tevell S, Hellmark B, Nilsson-Augustinsson Å, Söderquist B. *Staphylococcus Capitis* Isolated from Prosthetic Joint Infections. *Bone Jt J.* 2015 Dec 1; 97-B(SUPP 15):64–64.
- Thurber MD, Fahey JW (2009). Adoption of *Moringa oleifera* to Combat Under-Nutrition Viewed Through the Lens of the “Diffusion of Innovations” Theory. *Ecol Food Nutr.*, 48(3): 212 – 225.
- TOKUNAGA S., OHKAWA M., YAMAGUCHI K., NAKASHIMA T., NISHIKAWA T., FUJITA S, 1993. Drug resistance of coagulase-negative staphylococci from patients with urinary tract infection.
- Traoré C.M. L., (1999). Contribution à l'étude des Combretaceae médicinales du Mali. Thèse de pharmacie, Bamako, 99 p 38, 165 p.
- UESUGI A., OGURI T., IGARI J, 1996, Studies on coagulase negative *Staphylococci* isolated from urine.
- Umar KJ, Hassan LG, Dangoggo IM, Almustapha MN (2007). Nutritional content of *Melochia corcholia* (Linn) leaves. *Int. J. Biol. Chem.*, 1: 250-255.
- Vandenesch F, Eykyn SJ, Bes M, Meugnier H, Fleurette J, Etienne J. Identification and ribotypes of *Staphylococcus caprae* isolates isolated as human pathogens and from goat milk. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(4):888–92.
- Verdon J, Berjeaud JM, Lacombe C, Hechard Y, 2009, Characterization of anti-*Legionella* activity of warnericin RK and delta-lysin I from *Staphylococcus warneri*
- Waller, G. R. and Nowacki, E. K., (1978). *Alkaloids Biology and Metabolism in plants*. Plenum Press, New York, 294 p.
- WALLMARK G., ARREMARK I., TELANDER B, 1978, *Staphylococcus saprophyticus*: a frequent cause of acute urinary tract infection.
- WEDREN H, 1989. On chronic prostatitis with special studies of *Staphylococcus epidermidis*. *Scand.*

- Wichtl M., Anton R. *Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*, 2ème édition, Ed. TEC & DOC, 2003.
- Widerstrom, M., Monsen, T., Karlsson, C., Wistrom, J. (2006). Molecular epidemiology of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in a Swedish country hospital : evidence of intra and interhospital clonal spread, *Journal of Hospital Infection*. 64, 177-183.
- Wiseman GM, 1975, the hemolysins of *Staphylococcus aureus*.
- Wisplinghoff H., Bischoff, T., Tallent, S.M., Seifert, H., Wenzel, R.P., Edmond, M.B., (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals : analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance for the 1990s and effective control measure. *Am J Med* 91(Suppl. 3B), 2215-2275.
- Zaffer M, Ahmad S, Sharma R, Mahajan S, Gupta A. (2014) Antibacterial activity of bark extracts of *Moringa oleifera* Lam. against some selected bacteria. *Pak J Pharm Sci* 27: 1857-1862.