



DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

Bouhalima asma et Beressa zohra

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN NUTRITION ET PATHOLOGIE

Spécialité : Nutrition et pathologie.

THÈME :

**Activité antibactérienne des feuilles
d'extrait de la *Moringa oleifera***

Soutenue publiquement le : 12/07/2021

DEVANT LE JURY :

Président: M CHAALEL. A

MCA U.MOSTAGANEM

Encadreur : Mme BOUKEZZOULA. N

MCB U.MOSTAGANEM

Examineur : Melle YAHLA .I

MCB U.MOSTAGANEM

Thème réalisé au laboratoire LMBAFS

Année scolaire : 2020/2021

Remerciements

Je remercie, tout d'abord dieu tout puissant de nous avoir donné la persévérance et l'obstination de parcourir notre chemin scientifique.

Je tiens à remercier notre directeur de laboratoire de LMBAFS, le Pr RIAZI ALI, de m'avoir donné l'opportunité d'effectuer mon mémoire de fin d'étude dans son laboratoire.

Je voudrais témoigner ma reconnaissance à Mme N. BOUKEZZOULA pour sa rigueur scientifique, son exigence, sa disponibilité et ses encouragements durant la réalisation de ce mémoire, au sein du laboratoire de recherche microorganismes bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé -LMBAFS- Université de Mostaganem.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire, pour leur aide et leur disponibilité surtout Mme MAHJOUBA.

Enfin, Je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin durant l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail...

A ma très chère mère

Qui représente pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement, et le respect que j'ai toujours eu pour lui. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit des sacrifices qui ont consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères sœurs

Fouzia, Hassiba, Rania

Je leur souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite. J'exprime ainsi mes sentiments de fraternité et d'amour.

A toute ma famille

Mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousines et cousins.

ZOHRA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail...

A ma très chère mère

Qui représente pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encouragé et de prier pour moi.

A mon père

Aucune dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement, et le respect que j'ai toujours eu pour lui Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit des sacrifices qui ont consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chères frères et sœur

Amir, akrem, houssam, kounoz

Je leur souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite. J'exprime ainsi mes sentiments de fraternité et d'amour..

A toute ma famille

Mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousines et cousins

ASMA

Résumé

Notre travail a pour objectif de savoir l'évaluation des effets antibactériens d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis six souches pathogènes testés: *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella paratyphi* A et un champignons *Candida albicans* ATCC 10231, par méthode de diffusion en puits sur agar AWDT et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

Les résultats du test d'AWDT ont révélé les diamètres suivants par ordre décroissant, avec *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 (diamètre de la zone d'inhibition =22 mm), *Escherichia coli* ATCC 25922(diamètre de la zone d'inhibition =14 mm), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (diamètre de la zone d'inhibition =12 mm) .

L'évolution de cet effet antibactérien montre que la zone d'inhibition la plus intéressante est notée par la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 .

Aucune activité antimicrobienne n'a été noté vis-à-vis des souches pathogènes *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella paratyphi* A et *Candida albicans* ATCC 10231 .

Les valeurs enregistrées de CMI la plus élevée est de 70 µg/mg pour *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, alors que la CMI la plus faible a été enregistrée est 21 µg/ml pour *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

Mots-clés : *Moringa oleifera* - Activité antimicrobienne – souches pathogènes.

Abstract

Our work aims to know the evaluation of the antibacterial effects of extract of *Moringa oleifera* leaves vis-à-vis six pathogenic strains tested: *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella paratyphi* A and a fungus *Candida albicans* ATCC 10231, by well diffusion method on AWDT agar and Minimum Inhibitory Concentration (MIC).

AWDT test results revealed the following diameters in descending order, with *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 (diameter of inhibition zone = 22 mm), *Escherichia coli* ATCC 25922 (diameter of inhibition zone = 14 mm), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 (diameter of the zone of inhibition = 12 mm).

The evolution of this antibacterial effect shows that the most interesting zone of inhibition is noted by the strain *Staphylococcus aureus* ATCC 33862.

No antimicrobial activity was noted against the pathogenic strains *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella paratyphi* A and *Candida albicans* ATCC 10231.

The highest MIC recorded values are 70 µg / mg for *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, while the lowest MIC recorded is 21 µg / ml for *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

Keywords: *Moringa oleifera* - Antimicrobial activity - pathogenic strains.

Liste des abréviations

AWDT : Agar Well Diffusion Test

C. albicans : *Candida albicans*

LMBAFS : Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé.

ECET : *Escherichia coli* entérotoxigène

E. coli : *Escherichia coli*

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae* .

M. oleifera : *Moringa oleifera*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

S. Aureus : *Staphylococcus aureus*.

S. paratyphi A : *Salmonella paratyphi A*.

-

-.
.

.

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux

Tableau 1 : La systématique de *Moringa oleifera* (Laleye et al., 2015).

Tableau 2: La nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées

Tableau 3 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis des souches bactériennes et des champignons.

Liste des figures

Figure 1: L'arbre de *Moringa oleifera* (Yusoff, 2016)

Figure 2 : Les feuilles de *Moringa oleifera* ((Atakpama et al., 2014))

Figure 3 : Les fleurs de *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010)

Figure 4 : Gousses et graines de *Moringa oleifera* (Atakpama et al., 2014)

Figure 5: Les étapes de l'extraction des feuilles de *Moringa oleifera*.

Figure 6: Méthode d'extraction des feuilles de *Moringa oleifera*.

Figure 7 : Représentation graphique de rendement d'extraction de *Moringa oleifera*.

Figure 8 : La méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983) .

Figure 9 : Pouvoir antibactérien d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* par la méthode de diffusion en puits vis à vis des souches gram positifs.

Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *S. aureus*.

Figure 11 : Pouvoir antibactérien d'extrait brut (de *Moringa oleifera*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Klebsiella pneumoniae* ATTC 13883.

Figure12 : diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Figure 13 : Pouvoir antibactérien d'extrait brut (des feuilles de *Moringa oleifera*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Salmonella* .

Figure14 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella*.

Figure 15 : Pouvoir antibactérien d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis des champignons.

Figure16 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *Candidas albicans*.

Figure 17 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* en (mm) vis- à-vis toutes les souches pathogènes .

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

PARTIE 01 : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur *Moringa oleifera*.....3

I.1. Origine, répartition géographique et écologie de la plante.....3

I.2. Systématique et nomenclature.....3

I.3. Description botanique de la plante.....4

I .3.1. l'arbre.....4

I. 3 .2. Les feuilles.....5

I. 3.3. Les fleurs.....6

I. 3.4. Les fruits.....6

I .3.5. Les graines.....7

I.4. Valeurs nutritives et usages.....7

I. 4 .1. Composition chimique.....7

I.4.2. Importance Alimentaire.....8

I.4.3. Vertus thérapeutiques.....8

I.4.4. Utilisation médicinale.....8

I.4.5. Utilisation industriel.....10

I.4.6. Autres utilisations.....10

II. Généralité sur les bactéries

II.1. <i>Escherichia coli</i>	11
II.1.1 Caractéristiques.....	11
II.1.2. Pathogénicité et toxicité.....	11
II.1.2.1. Infection urinaire.....	11
II.1.2.2. Infection intestinale.....	11
II.2. Salmonella.....	12
II.2.1 Caractéristiques.....	12
II.2.2. Pathogénicité et toxicité.....	12
II.3. <i>Klebsiella</i>	13
II.3.1. Caractéristiques.....	13
II.3.2. Pathogénicité et toxicité.....	13
II.3.2.1. Maladie respiratoire.....	13
II.3.2.2. Infections du système nerveux central.....	14
II.3.2.3 Infections urinaires.....	14
II.3.2.4 Maladie hépatique.....	14
II.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
II.4.1. Caractéristiques.....	14
II.4.2. Pathogénicité et toxicité.....	14
II.4.2.1. Lésion suppurées.....	14
II.4.2.1. Septicémies et endocardites.....	15
II.4.2.1. Manifestation d'origine toxique.....	15
II.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
II.5.1. Caractéristiques.....	16
II.5.2. Pathogénicité et toxicité.....	16

II.6. <i>Candida albicans</i>	17
-------------------------------------	----

II.6.1. Caractéristiques.....	17
-------------------------------	----

II.6.2. Pathogénicité et toxicité.....	17
--	----

Deuxième Partie : Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1 Lieu de stage.	19
-------------------------	----

I. 2 Origine de la plante	19
---------------------------------	----

I. .3 Origine des souches.....	19
--------------------------------	----

I..4. Méthodologie de travail.....	20
------------------------------------	----

I..4.1. Extraction de <i>Moringa oleifera</i>	20
---	----

I.4.2.Le Rendement d'extraction de <i>Moringa oleifera</i>	22
--	----

I .4.3 Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de <i>M. oleifera</i>	22
---	----

I .4.3.1. Réactivation des souches pathogènes	22
---	----

I 4.3.2. Méthode de diffusion en puits AWDT.....	23
--	----

Chapitre II : Résultats et discussion

II. 1. Détermination de l'activité antibactérienne de <i>Moringa oleifera</i>	26
---	----

Conclusion	33
-------------------------	----

Références bibliographiques

Introduction générale

Introduction

Les plantes ont toujours été vitales pour l'Homme. Elles sont très bénéfiques spécialement dans les pays qui souffrent de pauvreté et de mal nutrition.

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'ils utilisent pour diverses fonctions adaptatives.

Il est par ailleurs reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives qui présentent une large variété d'activités biologiques : antitumorale, antivirale, antimicrobienne et antioxydante (**Pothitirat et al., 2009**), médicinales ainsi que pour influencer la saveur des aliments.

De nos jours, les extraits et les poudres sèches d'échantillons d'espèces de plantes médicinales et aromatiques sont utilisés pour le développement d'une médecine alternative (**Baydar et al., 2004**).

Actuellement, il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (**Muthu et al., 2006**). Parmi ces plantes médicinales *Moringa oleifera* (Moringaceae) est utilisée pour ses différentes propriétés et pour la qualité de son huile.

M. oleifera aussi appelé « l'arbre de la vie », cultivée dans plusieurs pays asiatiques et africains (**Sreelatha et al., 2009**), est largement utilisé dans la médecine traditionnelle (**Alhakmani et al., 2013**).

La plupart des parties de cet arbre (feuilles, fleurs, fruits et gousses immatures) sont utilisées dans diverses formulations alimentaires traditionnelles, médicaments et à usage industrie. Les feuilles sont riches en vitamines et en composés phénoliques (**Makkar et al., 1996 ; Coppin et al., 2013**).

Notre travail a pour objectif de déterminer l'éventuelle activité antimicrobienne de l'extrait des feuilles de *M. oleifera* vis-à-vis de différents souches bactériennes pathogènes à Gram négatif et à Gram positif ainsi qu'un champignons.

Partie bibliographique

I. Généralités sur *Moringa oleifera*

La plante *Moringa oleifera* est considérée comme l'un des arbres les plus utiles au monde, elle possède de nombreuses propriétés intéressantes qui lui confèrent un grand intérêt scientifique, elle est décrite comme l'arbre miracle, l'arbre de vie (Ijarotomi *et al.*, 2013 ; Haldar et Kosankar., 2017).

I.1. Origine et répartition géographique

Moringa oleifera est originaire d'Asie du Sud où elle pousse sur les contreforts de l'Himalaya, du nord-ouest de l'Inde, du Pakistan et de l'Afghanistan (Mangale, 2012 ; Atakpama, 2014) .C'est de l'Inde et du Pakistan que la culture de Moringa s'est étendue vers le Moyen-Orient puis l'Afrique, et tout le long de la ceinture tropicale, puis a gagné la Méditerranée et finalement les Indes Occidentales et qui a été ensuite distribué en Amérique Centrale, Amérique du Nord et les Caraïbes (Vilaseca *et al.*, 2014) .

Aujourd'hui, *Moringa* a une extension géographique très développée et on le retrouve dans la plupart des pays subtropicaux ou tropicaux à saison sèche, voire en zone aride en raison de son adaptabilité à un large éventail de types de sols, peut être trouvé même dans les sols les plus durs et les plus secs (Minaiyan *et al.*, 2014 ; Leone *et al.*, 2016 ; Mashela, 2017), et elle supporte des températures de 22-35°C maximum 48 °C à l'ombre (Freire *et al.* , 2015 ; Neto *et al.*, 2017).

I.2. Systématique et nomenclature

Moringa oleifera souvent appelée simplement Moringa, est le seul genre des Moringaceae. Il existe environ 13 espèces dont *M. oleifera* est la plus connue (Foidl *et al.*,2001 ; Tahir Mahmood *et al.*, 2010 ; Hêdji *et al.*, 2014).

La systématique de *M. oleifera* est représentée dans le tableau suivant (Tableau 1). Nom scientifique de *M. oleifera* Lamk (synonyme : *Moringa parvifolia* Noronha), elle possède aussi d'autres dénominations, en anglais, connue sous « west Indian tree », ou« Drums tick Tree », ou encore « Never die tree » en référence à sa résistance à la sécheresse, en arabe : « Rawag », ou « Shagara Al Ruwag » (Fuglie, 2001 ; Lim, 2012).

Tableau N° 1 : La systématique de *Moringa oleifera* (Laleye et al., 2015)

Règne	Plantae.
Sous-règne	Tracheobiophyta.
Division	Magnoliophyta.
Classe	Mangoliopsida.
Sous-classe	Dilleniidae.
Ordre	Capparales
Famille	Moringaceae.
Genre	Moringa.
Espèce	Moringa oleifera.

I.3. Description botanique de la plante

I .3.1. l'arbre

Moringa est une plante à croissance rapide qui, en fin de croissance, peut atteindre jusqu'à 10 à 15 m de haut et son diamètre jusqu'à 3 mètres (**Agroconsult, 2016, Neto et al.,2017**) avec une couronne ouverte en forme de parapluie, un tronc droit qui mesure 20 à 40 cm de diamètre, parfois très peu développé, en général, il atteint 1,5 à 2 mètres bien qu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres de haut avant de se ramifier en branches, ces branches poussent de manière désorganisée, son écorce est de couleur gris foncé violacé ou blanchâtre, le feuillage est persistant, l'arbre produit une racine pivotante tubéreuse (**Yusoff, 2016**) (**Fig 1**).



Figure 1: L'arbre de *Moringa oleifera* (Yusoff, 2016)

I. 3 .2. Les feuilles

Sont caduques, duveteuses, recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes, et se développent principalement dans la partie terminale des branches, ont un long pétiole mesurant 20 à 70 cm de long, comptent 2 à 6 paires de pinnules comprenant chacune 2 à 5 paires de pinnules secondaires, divisées elles-mêmes en 1 à 2 paires de folioles opposés plus une foliole terminale à l'apex plus grande que les autres, de forme ronde ou ovale de 1 à 2 cm de long (Ijarotomi *et al.*, 2013; Hédji *et al.*, 2014; Agroconsult, 2016) .



Figure 2 : Les feuilles de *Moringa oleifera* (Atakpama *et al.*, 2014)

I. 3.3. Les fleurs

Après 8 à 12 mois, l'arbre commence à fleurir sur une base continue tout au long de l'année. Le *Moringa* est considéré comme une plante ornementale à cause de sa floraison exubérante. L'inflorescence est en panicule axillaire et tombante de 10 à 25 cm, aux fleurs irrégulières mesurent 2,5 cm de large. Ces dernières sont de couleur blanche tirant sur le crème, avec des points jaunes à la base, délicatement parfumées, se composent de 5 sépales sont symétriques et lancéolés, 5 pétales inégaux, sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur, et entourent, 5 étamines et 5 staminodes (**Fig. 3**). L'ovaire a une seule loge. (**Hêdji et al., 2014; Agroconsult, 2016**)



Figure 3 : Les fleurs de *Moringa oleifera* (Saint Sauveur et Broin, 2010)

I. 3.4. Les fruits

Forment des gousses à trois lobes, mesurant 20 à 60 cm de long et de 2 cm de diamètre, ses côtés forment un triangle, la capsule a une extrémité aiguë, une surface bosselée qui pendent des branches. Les fruits (gousses) sont initialement vert clair, minces et tendres, devenant finalement marron et ferme. Lorsqu'ils sont secs, ils s'ouvrent en trois parties, en libérant 12 à 35 graines de forme ronde. Un arbre peut produire 15 000 à 25 000 graines par an. (**Yusoff , 2016**)

I .3.5.Les graines

Sont globulaires, à trois angles, elles ont un diamètre de 10 à 12 mm, avec une coque marron semi-perméable légèrement boisée. La coque présente trois ailes latérales blanches qui s'étendent de la base au sommet à 120 degrés d'intervalle, sont de 2 à 2,5 cm de long, de 0,4 à 0,7 cm de large (**Fig. 4**). (**Ijarotomi et al., 2013; Hédji et al., 2014; Agroconsult, 2016**). Le poids moyen d'une graine est de 0,3 g, le noyau est blanc ou crème et est responsable de 70% à 75% du poids, et la coque représente 25% du poids de la graine. (**Leone et al ., 2016**).



Figure 4 : Gousses et graines de *Moringa oleifera* (**Atakpama et al., 2014**)

4. Valeurs nutritives et usages

M. oleifera se distingue par une grande utilité de toutes ses différentes parties dans plusieurs domaines. Elle est d'usage courant en médecine populaire et en alimentation humaine et animale dans les sociétés africaines et asiatiques (**Aberra et al., 2011; Giridhari et al., 2011**).

4.1. Composition chimique

La valeur nutritive des feuilles de *Moringa* est d'une richesse rarement observée. En effet, les feuilles contiennent une très grande concentration de vitamines, de protéines, de certains minéraux et phénomène assez rare pour une plante, elle possède les acides aminés et les acides gras essentiels, (**Broin, 2005; Nouman et al., 2012; Osman et al., 2012 ; Harimalala et Razanamparany, 2014**).

De ce fait, les feuilles de *Moringa oleifera* constituent alors un met très apprécié (**Aregheore, 2002; Louis et al., 2003; Ayssiwede et al., 2011**). Des études ont montré que les feuilles matures de + contiennent moins de protéines que les jeunes feuilles du fait de leur teneur élevée en fibres, notamment en cellulose brute variant de 9,13-28,2% de la matière sèche. (**Richter et al., 2003; Tchiégang et Kitikil, 2004; Pamo et al., 2005; Kakengi et al., 2007; Ndong et al., 2007; Olugbemi et al., 2010**).

Les feuilles de *Moringa oleifera* contiennent aussi des alcaloïdes, flavonoïdes et des composés phénoliques entre 0,67% et 3,4 % des phénols totaux et de 0,5% à 1,4% en tanins, les tanins condensés sont absents ou sous forme de traces. Les teneurs en saponines varient entre 5 et 6,4 %. (**Makkar et Becker, 1996 ; Richter et al., 2003 ; Siddhuraju et Becker, 2003 ; Tchiégang et Kitikil, 2004**).

Des études faites sur l'écorce de tige et les fleurs de *Moringa oleifera* ont indiqué la présence des stérols, des glycosides, des alcaloïdes, des triterpénoïdes, des flavonoïdes, des anthraquinones, des caroténoïdes et des tannins ce qui affirme le potentiel antioxydant de cette plante (**Kumbhare et al., 2012 ; Alhakmani et al., 2013**).

Les graines de *Moringa oleifera* sont du type oléagineuse elles renferment 42% d'huile dont le profil d'acides gras comporte 70% d'acide oléique proche de l'huile d'olive 72%. La teneur en acides gras saturés et insaturés est respectivement de 13% et 82% et celle en acides gras libres varie de 0,5 à 3% (**Foidl et al., 2001**). L'huile de *Moringa* présente les mêmes avantages que celle d'huile d'olive pour la santé (**Creighton, 2001; Saint Sauveur et Armelle, 2001**)

4.2. Importance Alimentaire

Les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (**Broin, 2005**) et même associées aux épices comme le piment. Elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade. Les jeunes gousses vertes peuvent être consommées bouillies comme des haricots (**Foidl et al., 2001**).

En alimentation animale, les qualités nutritives de *Moringa* sont excellentes, ce qui en fait une source de fourrage de très bonne qualité (**Foidel et al., 2001**).

4.3. Vertus thérapeutiques

Selon Saint Sauveur et **Broin (2006)**, les feuilles de *Moringa* sont maintenant utilisées dans certains programmes de lutte contre la malnutrition en particulier au Sénégal, en Inde, au Bénin et au Zimbabwe. De ce fait, les populations incluent les feuilles de *M. oleifera* dans la formulation de la poudre infantile à base de ces feuilles comme complément alimentaire des nourrissons (**Madi et al., 2012**). Toutes les parties (feuilles, fleurs, fruits, écorces et racines) de *M. oleifera* ont des vertus médicinales confirmées par des travaux et des études expérimentales dans les différents pays africains, asiatiques et panaméricains (**Kooltheat et al., 2014**).

4.4. Utilisation médicinale

➤ Antioxydant

Le moringa possède une très forte action antioxydante qui a été étudiée à de nombreuses reprises (**Siddhuraj et Becker, 2003 ; Shih et al., 2011**). Elles concluent toutes à la forte capacité des antioxydants contenu dans le moringa à piéger les radicaux libres responsable de l'oxydation des cellules, de leur vieillissement.

➤ **Hypoglycémiant**

Une revue scientifique datant de 2012 regroupe toutes les études scientifiques qui ont été faites sur l'effet hypoglycémiant du Moringa. Elle conclue que « Les études rapportées chez les animaux de laboratoire et les humains, bien que limitées en nombre et de conception variable, semblent concordantes dans leur soutien à ce potentiel hypoglycémiant », bien que de nouvelles études plus rigoureuses soient nécessaires pour le confirmer (**Mbikay, 2012**).

➤ **Action purifiante**

C'est la chlorophylle, présente en très grande quantité dans le moringa qui lui confère cette action purifiante. Ce pigment, responsable de la couleur verte des feuilles de moringa favorise la détoxification des cellules de l'organisme. Elle est également bénéfique à la santé de la flore intestinale et permet de lutter contre les ballonnements et la prolifération bactérienne.

➤ **Antidiabétique**

Plusieurs études suggèrent un effet positif du moringa dans le traitement du diabète. La plupart ont été faites sur des rats, à l'image de cette étude de 2015⁵ menée en Arabie Saoudite a étudié l'effet du moringa sur le rat mâle, qui montre un effet positif sur les marqueurs du diabète et sur l'histologie du rein (**Al-Malki et El Rabey, 2015**).

➤ **Hypocholestérolémiant**

Les feuilles de moringa fraîches étaient utilisées par les Indiens pour faire baisser le taux de cholestérol chez les patients obèses. Une étude Nigérienne a étudié l'effet de l'extrait de feuilles de moringa associé à un régime pauvre en graisses, et a révélé une diminution de 14% des taux de cholestérol dans le sérum, le foie et les reins (**Ghasi et al., 2000**) .

➤ **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**).

4.5. Utilisation industriel

Les graines de Moringa contiennent 42% d'huile. L'huile de Moringa est équivalente sous tous ses aspects à une huile de qualité supérieure telle que l'huile d'olive et présente les mêmes avantages que celle-ci pour la santé **(Creighton, 2001)**.

Grâce à ces propriétés, l'huile de *M. oleifera* peut être utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante **(Ramachandran et al., 1980 in Foidl et al., 2001)**.

Elle est aussi utilisée comme huile végétale comestible et huile de cuisson, comme huile de qualité dans l'industrie cosmétique et des parfums **(Foidl et al., 2001)**.

Grâce à ces propriétés, l'huile de *M. oleifera* peut être utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante **(Ramachandran et al., 1980 in Foidl et al., 2001)**.

Elle est aussi utilisée comme huile végétale comestible et huile de cuisson, comme huile de qualité dans l'industrie cosmétique et de parfums **(Foidl et al., 2001)**.

4.6 Autres domaines d'utilisation

Moringa oleifera est une espèce d'arbre à usage multiple typique avec un potentiel économique élevé **(Anwar et al., 2007)**.

L'arbre est utilisé pour la conservation des sols, ombre, brise-vent,...etc. Les feuilles peuvent être utilisées brûlées sans fumée et donnent un bleu colorant. En Inde, la pulpe a été utilisée pour fabriquer du papier approprié pour le papier journal, l'emballage, l'impression, l'écriture, le textile et le cellophane **(Guha et Negi, 1965)**. comme fourrage pour le bétail en particulier pour les chèvres, les chameaux, et les ânes. Le bois blanc

Le « ben-oil » issu des graines conserve sa qualité et peut donc lubrifier des machines de précision. Il est également utilisé pour l'éclairage, cosmétiques-parfums et la coiffure. Les huiles ont révélé être particulièrement efficaces dans la fabrication de savon produisant une mousse stable et lavante à haute efficacité adaptée pour certains pays d'Afrique. Le tourteau considéré comme impropre à l'alimentation animale en raison de la forte teneur en alcaloïdes et des saponines est principalement utilisé comme engrais. Les graines et le tourteau, résidu de l'extraction de l'huile, peuvent être utilisés pour la purification de l'eau **(Panda et al., 2008)**.

II. Généralité sur la Toxinogénèse bactérienne

II.1. *Escherichia coli*

II.1.1 Caractéristiques

Escherichia coli entérotoxigène (ECET) appartient à la famille des Enterobacteriaceae (**Nataro et al., 2007**) Il s'agit d'un bacille Gram négatif, en forme de bâtonnet, asporulé, qui peut se déplacer au moyen de flagelles péritriches ou être non mobile.

Elles peuvent croître dans des conditions aérobies ou anaérobies, et produisent deux types d'entérotoxines : des entérotoxines thermolabiles (LT) (oligomériques) et des entérotoxines thermostables (ST) (monomériques) (**Baylis et al., 2006 ; Nataro et al., 2007**).

II .1.2.Pathogénicité et toxicité

II.1.2.1. Infection urinaire

Escherichia coli est la bactérie la plus souvent en cause dans les infections urinaires communautaires qu'elles soient basses (cystite) ou hautes (pyélonéphrite). L'infection des voies urinaires se fait en générale par voie ascendante.

Elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. La gravidité augmente le risque de pyélonéphrite. Chez l'homme, l'infection est également secondaire à un obstacle sur les voies urinaires. Elle peut se compliquer de prostatite. *E. coli* est souvent impliquée dans les infections urinaires nosocomiales (**Nauciel et Vildé, 2005**).

II.1.2.2. Infection intestinale à *E. coli*

Elle est responsable de gastro-entérites ayant des traductions cliniques variables : diarrhée d'allure banale, diarrhée peut entraîner assez rapidement un état de déshydrations. Dans certains cas (surtout chez l'enfant) le diamètre peut être suivi d'un syndrome hémolytique et urémique.

Les diarrhées dues à *E. coli* sont probablement peu fréquente dans nos régions actuellement. Elles sont plus fréquentes dans les pays en voie de développement et peuvent atteindre les voyageurs qui les visitent.

I.2. *Salmonella*

II.2.1 Caractéristiques

Salmonella enterica est l'une des deux espèces du genre *Salmonella* (*enterica* et *bongori*) et est membre de la famille des Enterobacteriaceae (Su et Chiu, 2007 ; Murray *et al.*, 2007). *Salmonella enterica* est subdivisée en six sous-espèces : *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) et *indica* (VI). L'habitat commun de la sous-espèce *enterica* (I) sont les animaux à sang chaud (Porwollik *et al.*, 2004), tandis que l'habitat commun des sous-espèces II, IIIa, IIIb, IV et VI sont les animaux à sang froid et l'environnement (Murray *et al.*, 2007).

Toutes les espèces du genre *Salmonella* peuvent infecter les humains. La sous-espèce *enterica* de *Salmonella enterica* comprend 2 610 sérotypes différents, les plus connus étant Typhi, Paratyphi, Enteritidis, Typhimurium et Choleraesuis (Su et Chiu, 2007). *Salmonella enterica* est un bacille Gram négatif, mobile, non sporulé et anaérobie facultatif mesurant 0,7-1,5 µm par 2,0-5,0 µm. (Bronze et Greenfield, 2005 ; Collins et Kennedy, 1983).

II .2.2.Pathogénicité et toxicité

Les Salmonelles sont des bactéries de l'intestin. Chez de nombreux sujets, elles peuvent être présentes sans entraîner de symptômes (porteurs sains). Quelques sérovars sont spécifiquement humains: Typhi et Paratyphi.

D'autres ne se rencontrent que chez l'animal (Avril, 2005). Chez l'homme, elles colonisent la muqueuse intestinale et l'iléum. Le principal réservoir des salmonelles est le tractus gastro-intestinal des hommes et des animaux, en particulier les porcs et les volailles. Elles sont excrétées dans les déjections animales et se retrouvent ainsi libérées dans l'environnement. Les aliments représentent le principal vecteur des salmonelles à l'homme en particulier les viandes crues et les œufs. Les symptômes apparaissent environ 24 - 48 h après digestion de l'aliment contaminé et se traduisent par des nausées, des vomissements, des maux de tête et des diarrhées (Delarras, 2007).

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, maladies très sévères qui s'accompagnent dans 90% des cas d'une hospitalisation des patients, dues à des sérovars strictement humains: *Salmonella typhi*, *S. paratyphi* A. et, à un degré moindre, *S. paratyphi* B. La transmission est essentiellement interhumaine et se fait par l'eau et les aliments souillés. Les salmonelles hébergent fréquemment des plasmides porteurs de facteurs de résistance aux antibiotiques (**Joly et Reynaud, 20021**).

II.3. *Klebsiella*

II.3.1. Caractéristiques

Les espèces du genre *Klebsiella* sont des bactéries Gram négatif en forme de bâtonnet, non mobiles et généralement encapsulées, qui appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (**Abbott, 2007 ; Janda et Abbot, 2006**). Ces bactéries produisent de la lysine-décarboxylase, mais pas d'ornithine-décarboxylase, et donnent en général un résultat positif au test de Voges-Proskauer.

Les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* sont habituellement des anaérobies facultatifs, et leur taille varie de 0,3 à 1,0 µm de largeur et de 0,6 à 6,0 µm de longueur. Les espèces du genre *Klebsiella* forment souvent des colonies mucoïdes (**Abbott, 2007 ; Janda et Abbot, 2006**). Le genre comprend 77 antigènes capsulaires (antigènes K) donnant naissance à différents sérogroupes.

II.3.2. Pathogénicité et toxicité

II.3.2.1. Maladie respiratoire

K. pneumoniae – est une cause importante de pneumonie et d'abcès pulmonaires d'origine communautaire ou nosocomiale. L'infection du lobe supérieur est plus fréquente. Les principaux symptômes sont la fièvre, les frissons, la leucocytose et les crachats de type « gelée de groseille » (**Janda et Abbot, 2006**). Les complications rares sont notamment l'infection pulmonaire évoluant en nécrose et en désagrégation touchant l'ensemble du lobe.

K. ozaenae – provoque l'ozène, une rhinite atrophique primaire caractérisée par une inflammation chronique du nez.

K. rhinoscleromatis – cause le rhinosclérome, une infection granulomateuse chronique qui touche surtout la cavité nasale.

II.3.2.2. Infections du système nerveux central

K. pneumoniae et *K. oxytoca* – sont une cause de méningite et d'abcès cérébral d'origine communautaire. Les symptômes cliniques incluent les suivants: céphalées, fièvre, altération de l'état de conscience, crises convulsives et choc septique (Janda et Abbot, 2006).

K. ozaenae – est associée à de rares cas d'abcès cérébral et de méningite.

II.3.2.3. Infections urinaires

Les espèces du genre *Klebsiella* sont une cause fréquente d'infections urinaires. On fait état de cas graves de bactériurie imputables à *K. ozaenae* (Janda et Abbot, 2006).

II.3.2.4. Maladie hépatique

K. pneumoniae – est un agent étiologique important des abcès pyogènes du foie, dont les symptômes incluent de la fièvre, des douleurs au niveau du quadrant supérieur droit, des nausées, des vomissements, de la diarrhée ou des douleurs abdominales, et une leucocytose. Les abcès surviennent surtout dans le lobe droit et sont solitaires.

II.4. *Staphylococcus aureus*

II.4.1. Caractéristiques

Staphylococcus aureus est une coccobactérie Gram positif, catalase positive appartenant à la famille des Staphylococcaceae (Becker *et al.*, 2004 ; Murray *et al.*, 2003) . Il a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5 µm, est immobile, asporulé et facultativement anaérobique (sauf *S. aureus anaerobius*); il est habituellement disposé en grappes. De nombreuses souches produisent des entérotoxines staphylococciques, la toxine superantigénique du syndrome de choc toxique (TSST-1) et des toxines exfoliatives. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et est surtout présent dans le nez et sur la peau (Kluytmans *et al.*, 1997).

II.4.2. Pathogénicité et toxicité

II.4.2.1. Lésion suppurées

Les plus fréquentes sont cutanées et sous-cutanées : folliculite, furoncles, anthrax, impétigo bulleux, panaris, surinfection de plaies traumatiques ou postopératoires. *S. aureus* est aussi responsable de mastites chez les femmes qui allaitent. *S. aureus* tient également une place dominante dans les infections osseuses

primitives (ostéomyélite) ou post-chirurgicales, ainsi que dans les arthrites suppurées. Des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez les nourrissons et chez les malades sous ventilation assistée, elles peuvent parfois se compliquer de pleurésie purulente **(Guiraud, 1998)**.

II.4.2.1. Septicémies et endocardites

Les lésions suppuratives peuvent se compliquer de septicémie. Une forme particulière est la staphylococcie maligne de la face. Elle a pour origine furoncle de la lèvre ou de la narine qui se complique d'une thrombophlébite suppurée.

Les toxicomanes utilisant la voie intraveineuse peuvent présenter des septicémies souvent accompagnées d'une endocardite du cœur droit. En milieu hospitalier, les septicémies à *S. aureus* représentent une proportion importante des septicémies d'origine nosocomiale. La porte d'entrée est souvent un cathéter intravasculaire. Toute fois certaines septicémies surviennent sans porte d'entrée apparente.

Les septicémies à *S. aureus* se compliquent volontiers de métastases septique notamment au niveau du poumon et de l'appareil ostéo-articulaire, plus rarement au niveau de l'appareil urinaire ou du système nerveux central **(Nauciel et Vildé, 2005)**.

II.4.2.1. Manifestation d'origine toxique

Staphylococcus aureus est responsable d'intoxications alimentaires à incubation courte (quelques heures). Ces intoxications sont dues à l'ingestion d'aliments contaminés par le personnel les manipulant et conservés trop longtemps à température ambiante. L'infection à *S. aureus* est parfois à l'origine d'un syndrome dit de choc toxique staphylococcique.

Ce syndrome associe une fièvre élevée, un rash scarlatiniforme, de la diarrhée et une hypotension accompagnée de signes de défaillance poly viscérale. Il entraîne une certaine mortalité. Il peut s'observer dans deux circonstances.

Dans la première, le syndrome survient pendant les règles chez des femmes utilisant des tampons hyper absorbants. Dans la seconde, il s'agit de sujets de l'un ou l'autre sexe. Présentant une suppuration localisée à *S. aureus*. Dans certains cas l'infection staphylococcique peut s'accompagner d'une éruption scarlatiniforme sans état de choc associé. L'infection cutanée à *S. aureus* peut se traduire chez le nouveau-né par une dermite exfoliatrice (maladie de Ritter) **(Nauciel et Vildé, 2005)**.

II.5. *Pseudomonas aeruginosa*

II.5.1. Caractéristiques

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des *Pseudomonadaceae*, regroupe des bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité (Willcox, 2007 ; Kayser *et al.*, 2001).

Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine (jaune-vert) fluorescentes (Enoch *et al.*, 2004) . *P. aeruginosa* peut sécréter un vaste éventail de toxines extracellulaires, notamment l'exotoxine A et des entérotoxines .

D'autres substances comme l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des bio films et des substances hémolytiques peuvent également contribuer à la pathogénicité de cette espèce

II.5.2. Pathogénicité et toxicité

Les *Pseudomonas* sont des agents pathogènes opportunistes qui envahissent souvent le tissu de leurs hôtes et causent une infection et une bactériémie chez les hôtes immunodéprimés (p. ex. VIH/sida, fibrose kystique du pancréas, bronchiectasie et maladie pulmonaire obstructive chronique sévère, brûlures, affection maligne ou diabète sucré) (Liu et Murcer, 1963).

L'infection siège souvent dans les voies respiratoires inférieures et sa gravité varie, allant de la colonisation sans réponse immunologique à la bronchopneumonie nécrosante sévère; une telle infection grave chez des patients atteints de fibrose kystique est presque impossible à éradiquer une fois qu'elle est établie dans les voies respiratoires (banerje et stabelfrth, 2000). .

La pneumonie à *Pseudomonas* se développe souvent après une contamination oro-pharyngée ou une bactériémie secondaire et cause fréquemment une pneumonie nosocomiale liée à la ventilation mécanique dans les unités de soins intensifs. Parmi les autres infections possibles, citons l'endocardite, l'ostéomyélite, les infections urinaires, les infections gastro-intestinales, la méningite et, fréquemment, la septicémie (Mena et Gerba, 2009).

P. aeruginosa est l'agent le plus souvent associé à l'infection et à l'inflammation causée par les lentilles cornéennes. La bactérie colonise les lentilles et produit des protéases pour détruire ou envahir les cellules de la cornée, infection qui peut mener à la formation de tissus cicatriciels et à une perte d'acuité visuelle.

Cette espèce est également la plus virulente, s'accompagnant d'un taux de mortalité de 30 %, qui peut être plus élevé selon les facteurs prédisposants. *P. aeruginosa* peut aussi coloniser facilement les brûlures ouvertes, causant des infections, des abcès et une septicémie, avec œdème et/ou décoloration de la peau non brûlée sur le pourtour de la plaie et pigmentation verte dans la graisse sous-cutanée. Il est également associé

à l'otite du baigneur (otite externe). D'autres espèces du genre *Pseudomonas* sont également opportunistes, mais les cas d'infection sont rares (Keyser *et al.*, 2001).

II.6. *Candida albicans*

II.6.1. Caractéristiques

Candida albicans est un champignon diploïde et encapsulé¹ classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu.

La forme levure est associée à une production de blastoconidies et est la forme de *C. albicans* la plus couramment observée. Les pseudo-hyphes sont quant à eux caractérisés par une absence des structures propres aux hyphes vrais (parois parallèles, septum, etc.), ces derniers prenant l'allure de longs filaments et pouvant produire des chlamydospores aux parois épaisses. La reproduction asexuée se produit par bourgeonnement pour donner des blastoconidies (Ryan, 2004 ; Hazen et Howell, 2007).

Les colonies apparaissent de 48 à 72 heures après la mise en culture à 37 °C sur un milieu d'isolement des champignons, par exemple sur une gélose de Sabouraud¹; d'abord plissées, elles prendront un aspect lisse à la remise en culture¹.

II.6.2. Pathogénicité et toxicité

C. albicans est un microorganisme commensal qui fait partie des flores microbiennes endogènes gastro-intestinale, oropharyngée et génitale féminine (Ryan, 2004). Cependant, il s'agit aussi chez l'humain d'un pathogène opportuniste (Odds, 2010) pouvant causer des affections potentiellement mortelles chez les sujets immunodéprimés comme immunocompétents (Schell, 2006). La manifestation clinique la plus fréquente de l'infection à *C. albicans* est la candidose buccale.

Candida albicans peut aussi entraîner des infections des ongles (paronychie et onychomycose à *Candida*), des atteintes superficielles des muqueuses, des infections cutanées consécutives à une macération de la peau (plis inguinaux et région fessière, chez le jeune enfant) et des infections oculaires (enophtalmies, etc)(Ryan, 2004).

Chapitre II

Partie expérimentale

II. Matériel et méthodes

II.1 Lieu de stage

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) de l'université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem où on a réalisé les expériences suivantes :

- ✓ L'extraction de l'extrait brut des feuilles **de *Moringa oleifera***.
- ✓ L'évaluation de l'activité antibactérienne de ces extraits.

II.2 Origine de la plante

Le matériel végétal utilisé au cours de l'expérimentation est représenté par des feuilles **de *Moringa oleifera***. Les feuilles séchées à l'air libre à l'abri de la lumière et de l'humidité, elles sont par la suite coupées finement et broyées au moulin électromécanique, la poudre qui en résulte sert de support à nos extractions.

II.3 Origine des souches

Les souches testées utilisées dans ce travail comportent des souches qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS.

Tableau 02: La nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.

Gram	Souches bactériennes	Référence
Les souches Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862
Les souches Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
	<i>Salmonella paratyphi A</i>	
Les champignons	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

II.4. Méthodologie de travail

II.4.1. Extraction de *Moringa oleifera*

L'extraction des composés phénoliques est faite par macération selon la méthode de **You et al. (2010)**; la méthode qui consiste à nettoyer, découper et broyer 200g de *Moringa oleifera* auxquels on ajoute 1000 ml de méthanol pur 99 % avant de laisser le mélange sous agitation pendant 24h à température ambiante et à l'obscurité. Ensuite filtré par papier Whatman N°4, le solvant résultant a été évaporé à 45°C avec un rota vapeur.



1- Feuilles de *M. oleifera*



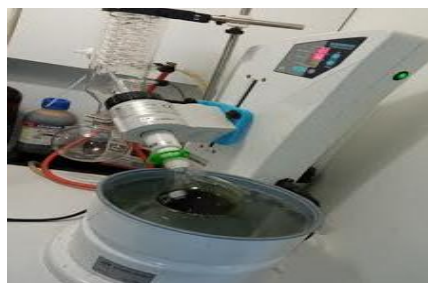
2- Broyage



3- Macération



4- Filtration



5- Rotavapeure



6- Extrait brut

Figure 5: Les étapes de l'extraction des feuilles de *Moringa oleifera*.

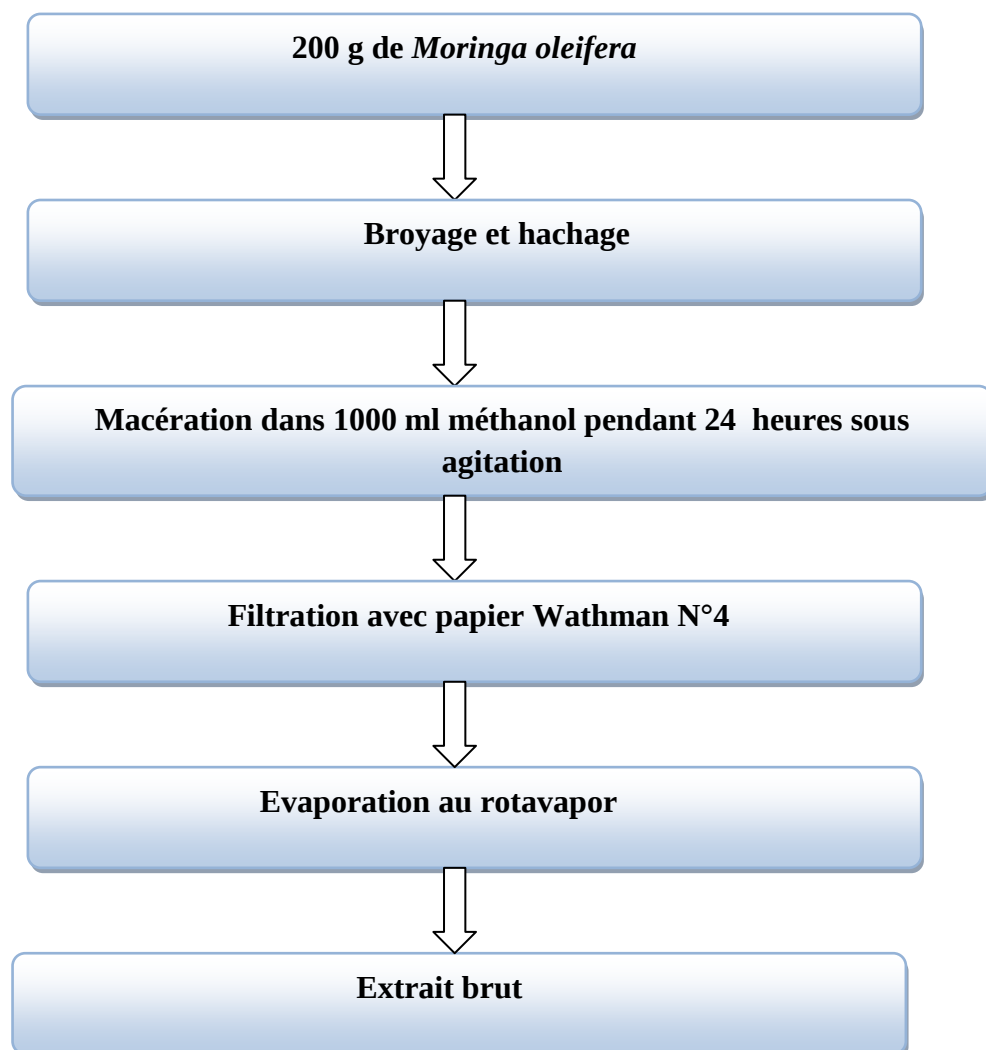


Figure 6: Méthode d'extraction des feuilles de *Moringa oleifera* (You et al.,2010)

II.4.2. Le Rendement d'extraction de *Moringa oleifera*

Le rendement désigne la masse d'extrait déterminé après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la méthode suivant :

$$RT(\%) = (P1 - P2/P3) \times 100$$

P1 : poids de ballon après évaporation.

P2 : poids de ballon avant évaporation.

P3 : poids de la matière végétale de départ.

Nous avons calculé le rendement d'extraction, le résultat obtenu est présent dans la figure suivante :

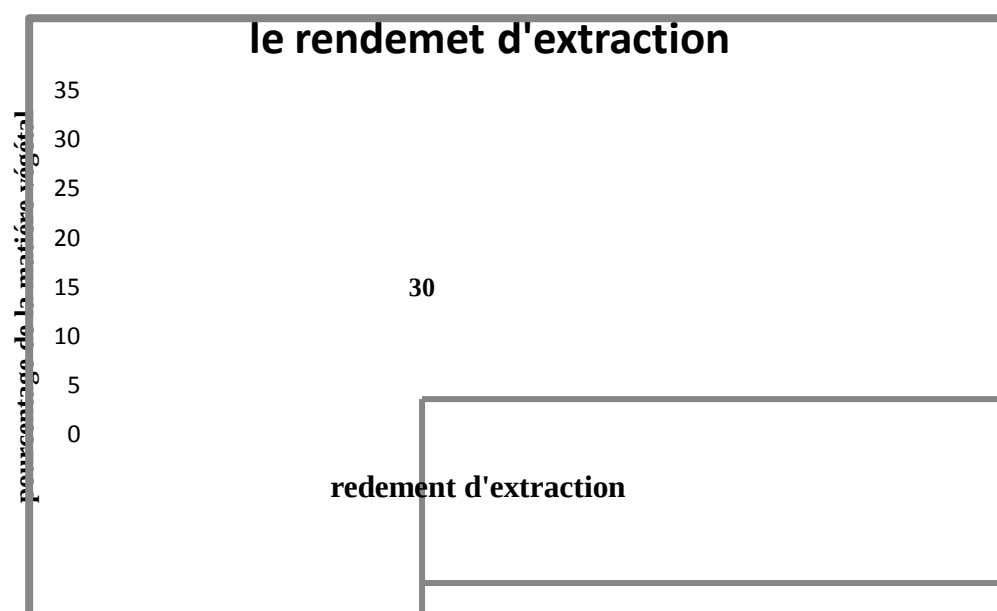


Figure 7 : Représentation graphique de rendement d'extraction de *Moringa oleifera*

II.4. 3 Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits de *M. oleifera*

1. Réactivation de souches indicatrices

La réactivation des souches consiste le transfert de 10 µl de culture conservé à 10 ml de bouillon nutritif de chaque bactérie pathogène testé et incubée à 37°C pendant 24h. Puis ajuster la densité optique de 0.08 à 0.1 à une longueur d'onde de 600 nm qui correspond à 10⁸ UFC / ml (Kishor, 2005).

2. Tests d'activité antimicrobienne

a. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et anti fongigramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle), l'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit testé (**Broadsky et al., 1976**).

Cette méthode consiste à couler 21 ml Mueller Hinton molle avec 100µl d'une culture jeune de 18h d'incubation de nombre de 10^7 UFC/ml (la densité optique 0.08-0.1) sur une boîte de pétri. Après solidification à température ambiante dans une zone stérile, des puits sont creusés à l'aide d'un embout jaune stérile. Généralement on réalise 1 puits par boîte de 6mm de diamètre (chaque test est réalisé en triplicat). Un volume de 80ul de l'extrait brut est mis dans les puits.

Les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 24h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (pré-diffusion) (**Doumandji et al., 2010**).

La présence de zone d'inhibition à formées autour des puits est examinée après 18 à 24h d'incubation (**Hwanhlem et al., 2011**).

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition apparaissant ; il sera considéré comme positif si le diamètre est supérieur à 2 mm).

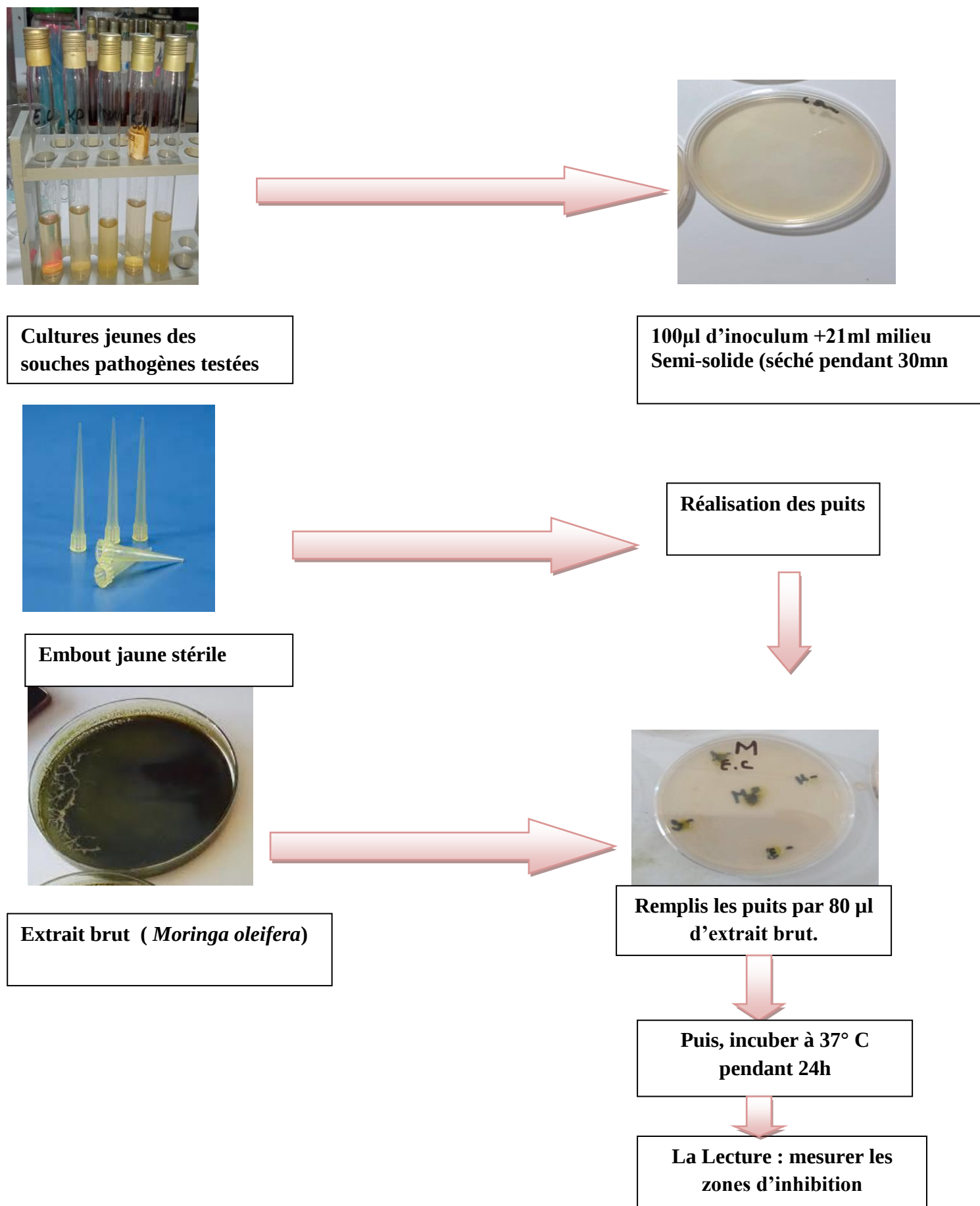


Figure 8 : La méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III. . Détermination de l'activité antibactérienne de *Moringa oleifera*

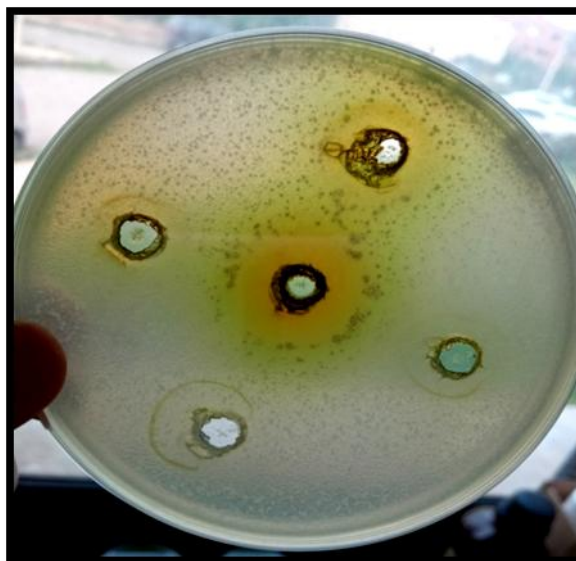
Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien d'extrait brut de *Moringa oleifera* par la méthode de diffusion en puits AWDT (**méthode de Barefoot et Klaenhammer, 1983**) sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton, c'est le milieu le plus utilisé pour faire ces tests d'antagonisme.

L'activité antimicrobienne de *Moringa oleifera* a été estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant l'extrait brut de *Moringa oleifera* à tester *vis-à-vis* de 6 microorganismes testés qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS (Tableau 4), dont une bactérie Gram positif (+) : *Staphylococcus aureus* et 4 souches Gram négatifs (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi A*), et un champignon (*Candida albicans*) .

Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis des souches bactériennes et un champignon.

Espèces	Gram	Diamètres des zones en mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	22
<i>Escherichia coli</i>	-	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	0
<i>Salmonella paratyphi A</i>	-	0
Champignon (<i>Candida albicans</i>)		0

A) Les souches Gram positif :



Staphylococcus aureus ATCC 33862

Figure 09: Pouvoir antibactérien d'extrait brut (de *Moringa oleifera*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis *Staphylococcus aureus* ATCC 33862

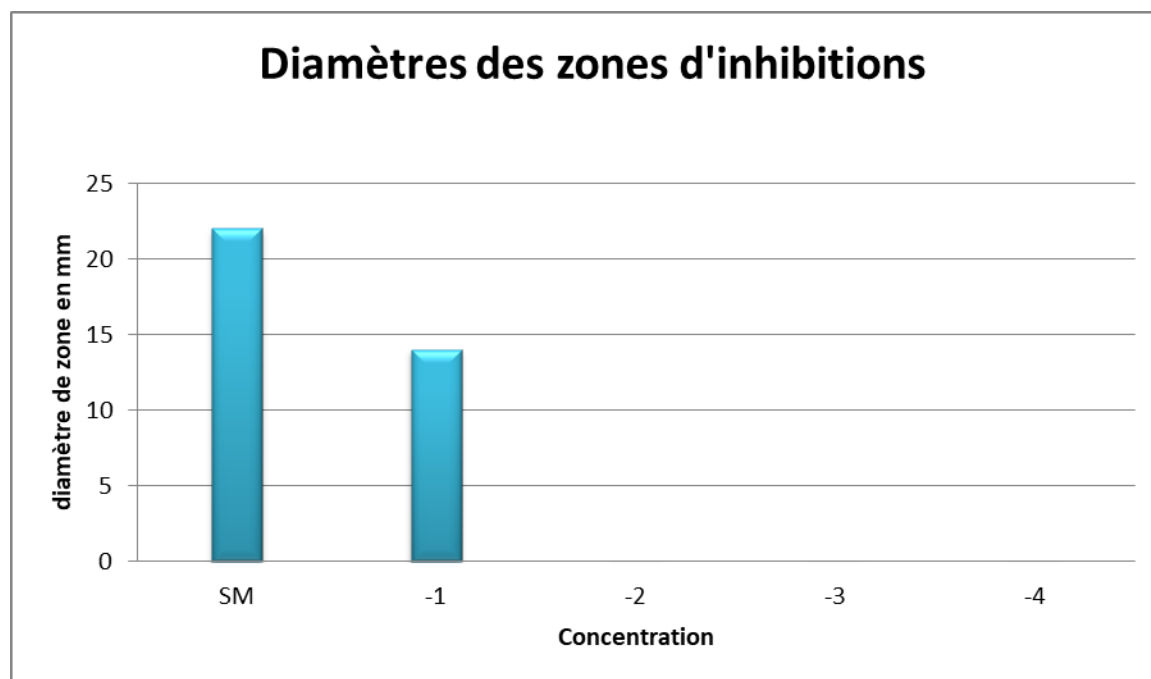


Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *S. aureus*.

L'extrait brut de feuilles de *Moringa oleifera* a montré une inhibition de 22 mm de diamètre en solution mère et de 14 mm en concentration -1 contre *S. aureus* .

B) Les souches bactériennes gram négatifs



Escherichia coli ATCC 25922



Klebsiella pneumoniae ATCC 13883

Figure 11 : Pouvoir antibactérien d'extrait brut (de *Moringa oleifera*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

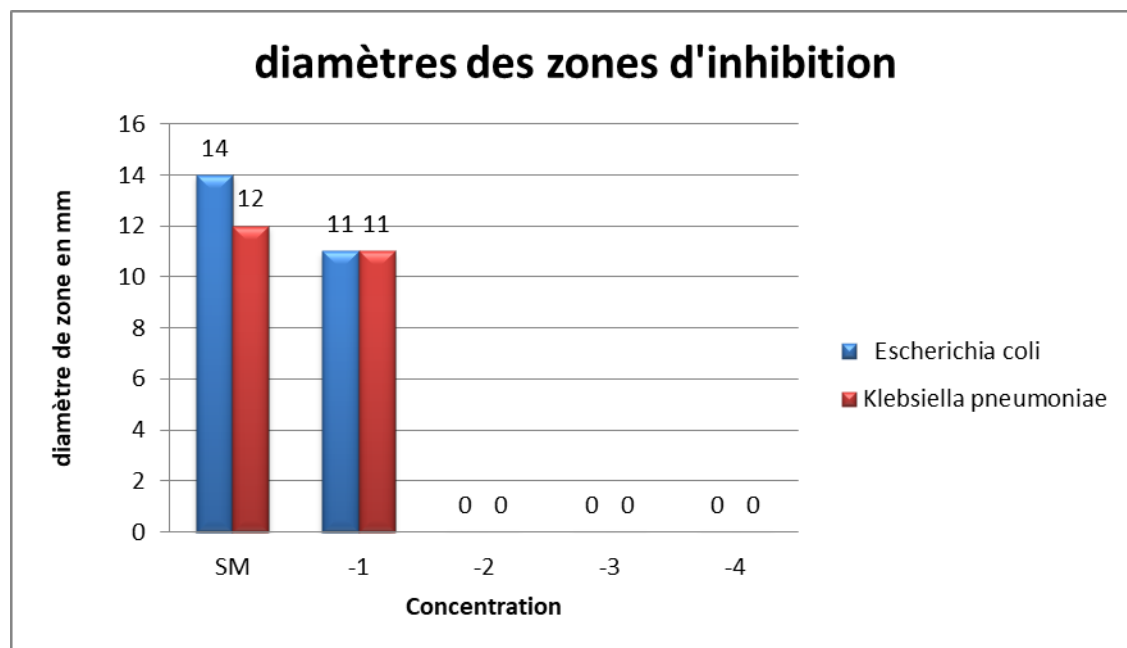
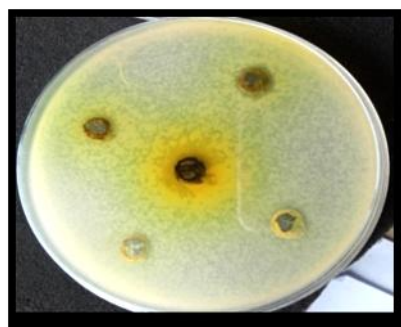


Figure12 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

L'extrait brut des feuilles de *Moringa oleifera* influence sur la croissance d' *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, nous avons enregistré des diamètres d'inhibitions différents. En ce qui concerne *Escherichia Coli* ATCC 25922 on a révélée un diamètre d'inhibition de 14 mm de diamètre en solution mère et de 11 mm en concentration -1, pour *Klebsiella pneumoniae* ATCC 35659 nous avons enregistrées un diamètre de 12 mm en solution mère et de 11 mm en concentration -1.



Pseudomonas aeruginosa
ATCC27853



Salmonella paratyphi A

Figure 13 : Pouvoir antibactérien d'extrait brut (des feuilles de *Moringa oleifera*) par la méthode de diffusion en puits vis à vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Salmonella paratyphi A*

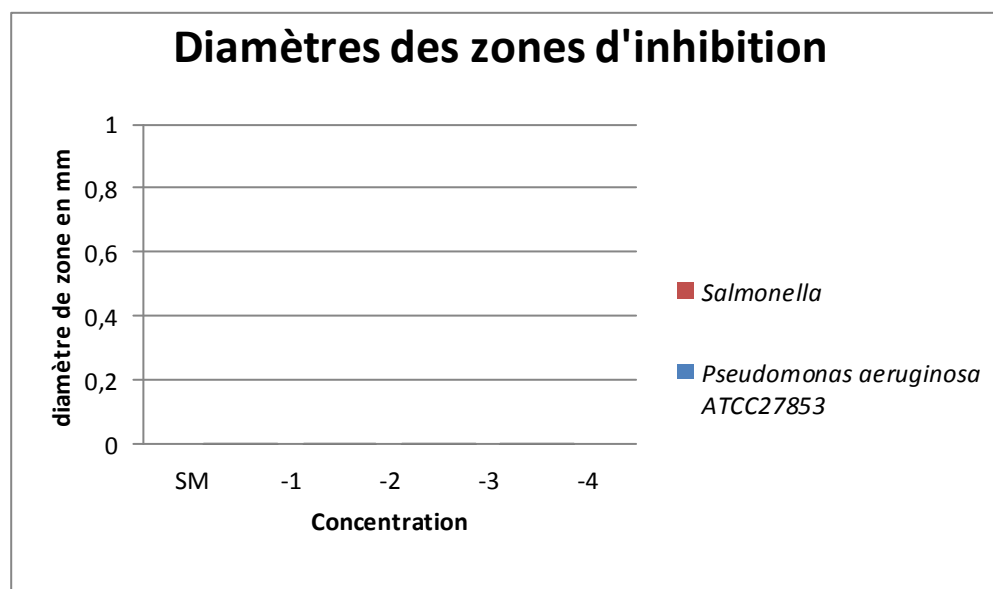


Figure14 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 , *Salmonella paratyphi A*.

L'extrait brut de *Moringa oleifera* n'a pas montré de diamètres inhibiteurs contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Salmonella paratyphi* A.

C) Les champignons

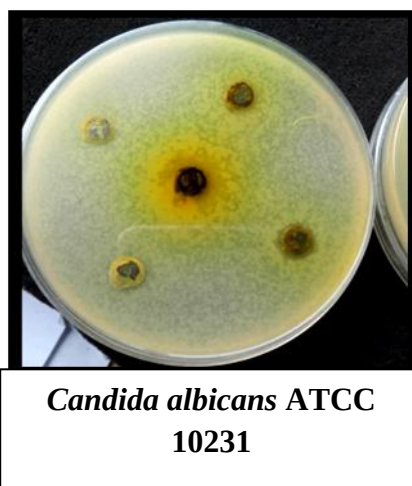


Figure 15 : Pouvoir antibactérien d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231.

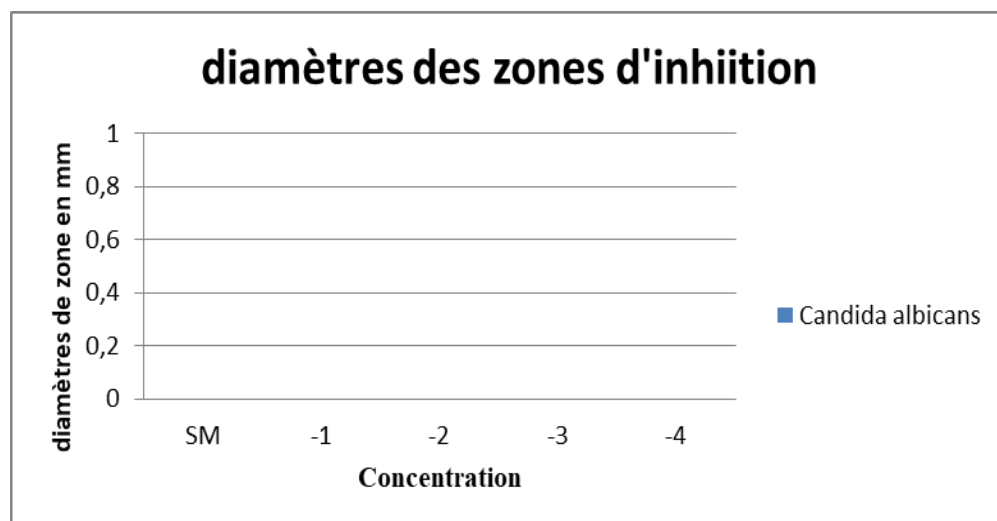


Figure16 : diamètres des zones d'inhibition en (mm) vis- à-vis *Candidas albicans*.

L'extrait brut de *Moringa oleifera* n'a pas montré de diamètres inhibiteurs contre *Candida albicans* ATCC 10231.

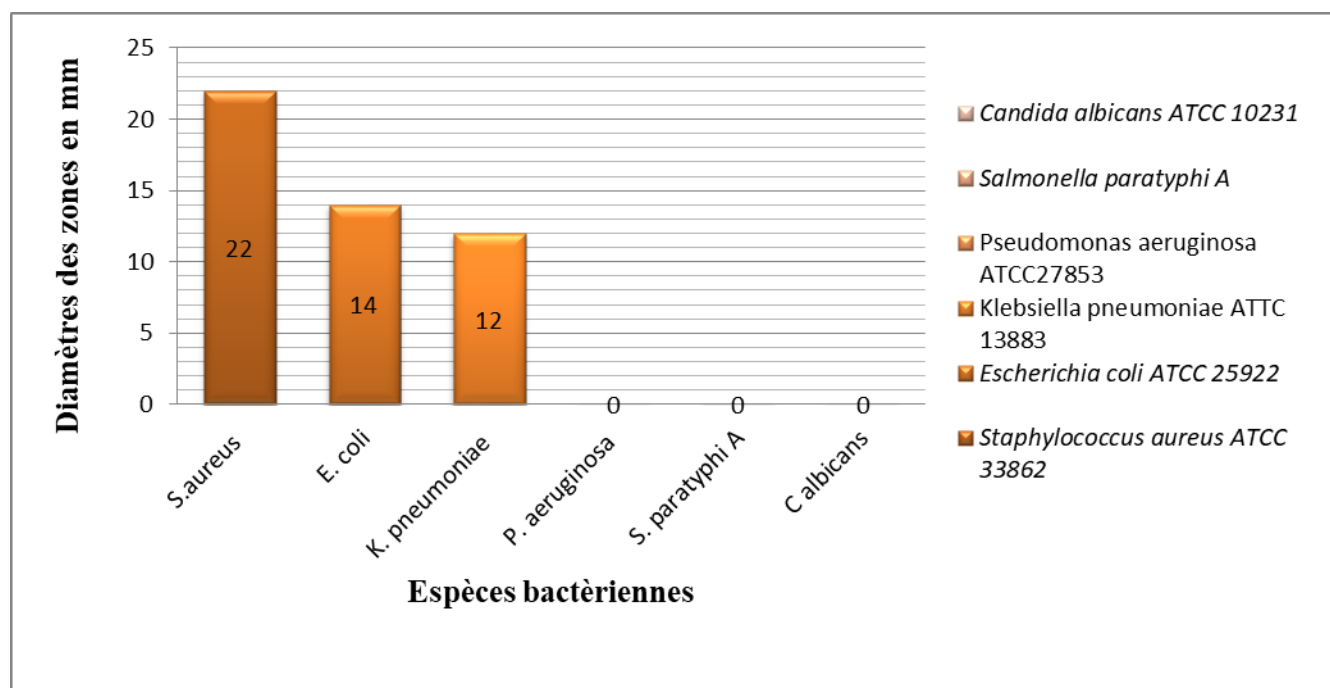


Figure 17 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition d'extrait des feuilles de *Moringa oleifera* en (mm) vis- à-vis toutes les souches pathogènes.

Nous remarquons que le diamètre d'inhibition maximal et qui est de l'ordre de 22 mm, a été observée par la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, tandis que le plus faible diamètre d'inhibition était observée avec *Candida albicans* ATCC 10231.

Dans l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que : *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 est la souche la plus sensible vis à vis l'extrait de *Moringa oleifera* (activité antimicrobienne très forte).

Escherichia Coli ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 sont sensible vis à vis l'extrait brut de *Moringa oleifera*(activité antimicrobienne forte).

Pseudomonas aeruginosa ATCC27853, *Salmonella paratyphi A* et *Candida albicans* ATCC 10231, sont résistants vis à vis l'extrait de *Moringa oleifera*(aucune activité antimicrobienne).

Les propriétés antibactériennes de la feuille de *M. oleifera* comme le montre la présente étude corroborent les affirmations antérieures d'Aktar *et al.* (2006) et Foidl *et al.* (2001) qui ont rapporté les propriétés antibactériennes des feuilles de *M. oleifera* .

L'activité antimicrobienne de *M. oleifera* est due à la présence d'un court polypeptide nommé 4 (α – L – rhamnosyloxy) benzyl-isothiocyanate (Eilert *et al.*, 1981; Guevara *et al.*, 1999). Le peptide peut agir

directement sur les micro-organismes inhibition en perturbant la synthèse de la membrane cellulaire ou la synthèse d'enzymes essentielles (**Silvestre *et al.*, 2000 ; Suarez *et al.*, 2003**).

Les feuilles de *Moringa* contiennent des alcaloïdes flavonoïdes et saponines, et cela révèle l'efficacité L'extrait contre les bactéries pathogènes humaines (**Bukar *et al.*, 2010**).

Selon **Abubakar et Usman (2016)** l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *M. oleifera* cultivée au Niger sont Plus actif contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Avec un diamètre retardateur moyen de 12 et 10 mm, respectivement, c'est-à-dire une sensibilité moyenne, ces valeurs sont considérées comme légèrement faibles par rapport a nos résultats.

Dans une autre étude réalisée sur *M. oleifera* poussant au Soudan et selon **Sahar *et al.* (2014)**, ils ont conclu que la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est très sensible à forte concentration (500 mg/ml) à l'extrait de fleur de *M. oleifera*, où le diamètre moyen d'inhibition a été estimé à 20 mm.

Selon **Iram *et al* (2016)**, il a été conclu dans son étude que la souche bactérienne *Escherichia coli* a une sensibilité moyenne à l'extrait méthanolique des fleurs de la plante *M. oleifera* , poussant en Pakistan à une concentration de 220 mg/ml avec un diamètre moyen d'inhibition de 18,3 mm.

Les différences des diamètres des zones d'inhibitions enregistrées, varient selon le rapport des substances actives et la qualité ainsi que la quantité des composés dans chaque extrait (**Ivana *et al.*, 2011**), cette différence varie aussi selon les souches testées, selon la structure, la composition ainsi que la nature de la paroi cellulaire bactérienne (**Lambert, 2002**).

Pour les souches bactériennes qui ont montré une résistance aux extraits, cela pourrait être dû aux bactéries ayant une membrane capable d'empêcher son effet inhibiteur (**Hanafy et Hatem, 1991.**)

Conclusion

Moringa oleifera est un arbre appartenant à la famille des moringacées, originaire d'Inde. Est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal, qui se trouve dans les régions tropicales. Ce travail a été consacré à l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de la ***Moringua*** vis-à-vis de six souches pathogènes par méthode de diffusion en puits AWDT.

Sur le plan du niveau des sensibilités des souches, ***Staphylococcus aureus*** ATCC 33862 (diamètre de la zone d'inhibition =22 mm) s'est révélé la plus sensible vis à vis de l'extrait brut de ***Moringa oleifera*** suivi par ***Escherichia coli*** ATCC 25922 (diamètre de la zone d'inhibition =14 mm), ***Klebsiella pneumoniae*** ATTC 13883 (diamètre de la zone d'inhibition =12 mm).

Alors que les deux souches restante: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Salmonella* ainsi que le champignon *Candida albicans* ATCC 10231, se sont révélés résistants vis-à-vis l'extrait de ***Moringa oleifera***.

. On conclut que l'extrait des feuilles ***M. oleifera*** étudié représente un effet inhibiteur intéressant contre les souches pathogènes testées.

En perspective, plusieurs travaux peuvent être envisagés dans la continuité des travaux entamés :

- Elargir le cadre de l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques par l'utilisation d'autres méthodes d'extraction et d'autres parties de plante avec l'étude de l'effet des autres paramètres.
- L'identification des principes actifs responsables de l'activités biologiques, avec la détermination des conditions optimales pour l'extraction de ces principes actifs

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abalaka, M. E.; S.Y. Daniyan¹; S.B.Oyeleke and Adeyemo, S.O** .2012. The antibacterial evaluation of *Moringa oleifera* leaf extracts on selected bacterial pathogens. Journal of Microbiology Research, 2(2): 1- 4.
- **Abbott, S. L. (2007).** *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 698-711). Washington, USA: ASM Press.
- **Aberra M., Workinesh T. and Tegene N.** (2011). Effects of feeding *Moringa stenopetala* leaf meal on nutrient intake and growth performance of Rhode Island Red chicks under tropical climate. Trop. Subtrop. Agroecosyst. 14: 485-492.
- **Abubakar I., Usman A.,** (2016). Phytochemical and antibacterial investigations of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract on selected bacterial pathogens, Journal of Microbiology and Antimicrobials. 8(5), PP. 28-33.
- **Agroconsult,** (2016): Analyse des Potentialités de l'Exploitation du Moringa en Haïti, ministère de l'agriculture, des ressources naturelles et du développement rural (marndr). p 211, Haïti.
- **Akhtar, M., Hassany, S.M., Bhangar, M.I., Iqbal, S.**(2006): Absorption potential of *M. oleifera* pods
- **Alhakmani F., Kumar S., Okindra A., et Khan A.** 2013. Estimation of totalphenolic content, *in vitro* antioxidant and anti inflammatory activity of flowers of *moringaoleifera*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 3(8): 623-627
- **Al-Malki AL, El Rabey HA.** The antidiabetic effect of low doses of *Moringa oleifera* Lam. seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. BioMed Res Int 2015; 2015: 381040. and *Moringa stennopetala*. Planta Med. 42:55 –51.
- **Anwar F, Sajid L, Muhammad A, Anwarul HG** (2007). *Moringa oleifera*: A Food plant with Multiple Medicinal Uses. Phytother. Res., 21: 17- 25.
- **Atakpama W, Goussivi E, Kponor E , Kanda M, Dourma M, Nare M, Batawila K, Akpagana K,**(2014): *Moringa oleifera* LAMARCK (MORINGACEAE) : une ressource phytogénétique à usage multiple, Semestriel du Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur Science de la vie, de la terre et agronomie (SVT-A), Revue CAMES, V2, N 1, Madagascar, p 15.
- **Ayssiwede S.B., Dieng A., Bello H., Chrysostome C.A.A.M., Hane M.B., Mankor A., Dahouda M., Houinato M.R., Hornick J.L., et Missohou A.** 2011 . Effects of *Moringa oleifera* (lam.) leaves meal incorporation in diets on growth performances, carcass characteristics and economics results of growing indigenous Senegal chickens. Pakistan Journal of Nutrition. 10 (12): 1132-1145.

- **Banerjee, D., & Stableforth, D.** (2000). The treatment of respiratory pseudomonas infection in cystic fibrosis : what drug and which way? *Drugs*, 60(5), 1053-1064.
- **Barefoot SF &Klaenhammer TR** (1983). Determination and activity of lactacin B, bacteriocin Produced by *lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45(6): 1808-1815.
- **Baydar H., Sağdic,O., Ozkan G., Karadoğan T.** (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 15:169-172.
- **Baylis, C. L., Penn, C. W., Thielman, N. M., Guerrant, R. L., Jenkins, C., & Gillespie, S. H.** (2006). *Escherichia coli* and *Shigella* spp. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 347-365). England, UK : John Wiley and Sons Ltd.
- **Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C.** (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995. doi : 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004
- **Broadasky TF, Lewis C &Ble TE - Doumandji A, Hellal A &Saidi N - Hwanhlem N, Buradaleng S, Wattanahant S, benjakul S, Tani A & Maneerat S** (1976). Bioautographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat, *J Chromatogr.* (123): 33-44.
- **Broin M.** (2005). Composition nutritionnelle des feuilles de *Moringa oleifera*. CTA. 5 .
- **Broin M., Saint-sauveur A.** 2010. Produire et transformer les feuilles de moringa In *Moringa Association of Ghana*.
- **Bronze, M.S., and Greenfield, R.A (Ed.).** (2005). *Biodefence Principles and Pathogens horizon bioscience*.
- **Bukar, A; A. Uba and Oyeyi, T. I.** (2010).Antimicrobial profile of *Moringa oleifera* Lam. extracts against Mal. *J. Microbiol.*,8(2): 59-67.
- *Cell Physiology*.Vol 52 Issue 4. P. 663-675.
- **Collins, C. H., & Kennedy, D. A. (Eds.).** (1983). *Laboratory-acquired Infections* (4th ed.). Oxford: Butterworth-Heinemann.
- **Coppin JP, Xu Y, Chen H. Pan M-H., Ho C-T., Juliani R and Simon T.E.** (2013). Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *J. Funct. Food.* 5:1892-1899.
- **Creighton W.** (2001). Optima of Africa limited *Moringa oleifera* seed production in Tanzania.
- **DELARRAS C.** (2007), *Microbiologie Pratique pour le laboratoire d' analyses ou de contrôle sanitaire*. Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

- **Doumandji A, Hellal A & Saidi N** (2010). Purification de la bactériocine a partir de *lactobacillus acidophilus* 11. *Microbiol. Ind.* (4) : 25- 47.
- **Eilert, U., Wolters, B. and Nadrstedt, A.** (1981): The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera*
- **Enoch, D. A., Simpson, A. J., & Kibbler, C. C.** (2004). Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Journal of Medical Microbiology*, 53(Pt 11), 1151-1154.
- **Farmer, J. J., Boatwright, K. D., & Janda, J. M.** (2007). Enterobacteriaceae : Introduction and Identification. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 649-669). Washington, DC : ASM press.
- **Foidl N., Makkar H.P.S. and Becker K.** (2001). Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du Moringa. Dar es Salaam. Tanzanie. 29 octobre - 2 novembre 2001.
- for the removal of organic pollutants from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*. In print.
- **Freire J.E.C, Vasconcelos I.M, Batista A.B, Lobo M.D.P, Pereira M.L, Lima J. P. M. S. et al.,** (2015): Mo-CBP3, an Antifungal Chitin-Binding Protein from *Moringa oleifera* Seeds, Is a Member of the 2S Albumin Family, *PLOS ONE* 10(3): e0119871, p24, Brazil. doi:10.1371/journal.pone.0119871.
- **Fuglie, L., (2001).** Le Moringa : une arme dans la lutte contre la malnutrition. Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest. Disponible sur <http://www.moringanews.org>. Consulté le 25/05/2015.
- **Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO.** Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam. in high fat diet fed Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; 69: 21-5.
- **Guevara, A.P., Vargas, C. and Sakurai, H.** (1999): An antitumor promoter from *M. oleifera* Lam. *Mutat. Res.* 440:181 – 188.
- **Guha S.R.D., Negi J.S.** 1965. Wrapping, printing, and writing paper from *Moringa pterygasperma*. *Indian Pulp.* (6): 377-379.
- **Haldar R, Kosankar. S,** (2017): *Moringa oleifera*: The Miracle Tree. *International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in Technology*, V 3, I 6, pp.966- 970, Inde, ISSN: 2454-132X.
- **Hanafy M.S. and Hatem M.E., (1991).** Studies on the antimicrobial
- **Harimalala A. N., et Razanamparany L.** 2014. Nutritional quality of fruit pastes enriched with *Moringa oleifera* leaves. *International Journal of Applied Science and Technology.* 4 (5).

- **Hazen, K. C., & Howell, S. A.** (2007). *Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance*. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 1762-1788). Washington D.C.: ASM Press.
- **Hedji C., Gangbazo D.N.S.K., Houinato M.R. and Fiogbén E.D.** (2014). Valorisation de *Azolla* spp., *Moringa oleifera*, sonderiz et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. *J. Appl. Biosci.*, 81 : 7277-7289.
- **Hwanhlem N, Buradaleng S, Wattanahant S, benjakul S, Tani A & Maneerat S** (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from thai traditional fermented fish (plasom) and production of plasm from selected strains. *Food Control* (22) : 401-407.
- **Ijarotimi O.S, Adeoti O.A et Ariyo.O,** (2013): Comparative study on nutrient composition, phytochemical, and functional characteristics of raw, germinated, and fermented *Moringa oleifera* seed flour. *Food Science & Nutrition* vol.1.No(6),pp. 452– 463 ; doi: 10.1002/fsn3.70.
- **Iram G., Attia J., Muhammad SA., Roohi M., Muhammad Amin A.,** (2016). Use of *Moringa oleifera* Flower pod extract as natural preservative and development of SCAR marker for its DNA based identification, *BioMed Research International* doi:10.1155/2016/7584318
- **Ivana K., Milena N. and Miodrag L.,** (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia* sp. recovered by different, extraction techniques. *Biotechnology and bioengineering Chinese journal of chemical engineering*, 19(3): 504-511p.
- **Janda, J. M., & Abbott, S. L.** (2006). The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. The *Enterobacteria* (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press.
- **JOLY B. et REYNAUD A.** (2002). *Entérobactéries : Systématique et Méthode de diagnostic*. Tec & Doc, Lavoisier.
- **Kakengi A.M.V., Kaijage J.T., Sarwatt S.V., Mutayoba S.K., Shem M.N., t Fujihara T.** 2007. Effect of *Moringa oleifera* leaf meal as a substitute for sunflower seed meal on performance of laying hens in Tanzania. *Livest. Res. Rural Dev.* 9 (4). 446.
- **Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zingernagel, R. M. (Eds.).** (2001). *Medical Microbiology* (10th ed.). Stuttgart, Germany : Georg Thieme Verlag.
- **Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zingernagel, R. M. (Eds.).** (2001). *Medical Microbiology* (10th ed.). Stuttgart, Germany : Georg Thieme Verlag.
- **Kishor GK, Pande S & Podile AR** (2005). Biological control of late leaf spot of Peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *Phytopathology*. 95 : 1157- 65 .
- **Kluytmans, J., van Belkum, A., & Verbrugh, H.** (1997). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* : epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(3), 505-520.

- **Kooltheat N., Sranujit R. P., Chumark P., Potup P., Laytragoon-Lewin N. and Usuwanthim K.** (2014). An ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* Lam. inhibits human macrophage cytokine production induced by cigarette smoke. *Nutrients*, 6 (2) : 697-710.
- **Kumbhare MR., Guleha V., et Sivakumar T.** (2012). Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 144-150.
- **Laleye O.A.F., Ahissou H., Olounlade Ap., Azando E.V.B and Laleye A.** (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétique de la flore béninoise : *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 9 (5): 2682-2700
- **Lambert P., (2002).** Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in gram - positive bacteria and mycobacteria. *Jornal of applied microbiology* .92:46-54.
- **Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S,** (2016): *Moringa oleifera* Seeds and Oil: Characteristics and Uses for Human Health : An overview. *Int. J. Mol. Sci*, 17, 2141.édition Maurizio Battino université de milan, Italie.
- **LIU, P. V., & MERCER, C. B.** (1963). Growth, Toxigenicity and Virulence of *Pseudomonas Aeruginosa*. *The Journal of Hygiene*, 61, 485-491.
- **Louis C., Thorat V., Kokou K., et Broin M.** (2003). Analyse-diagnostic du système agraire de la région d'Ahépé, au sud du Togo. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 7 (3–4): 137–149.
- **Madi O.P., Bourou S. and Woin N.** (2012). Utilisations et importances socioéconomiques du *Moringa oleifera* Lam. en zone de savanes d'Afrique Centrale. Cas de la ville de Maroua au Nord-Cameroun. *J. Appl. Biosci.*, 60 : 4421-4432.
- **Makkar H.P.S., et Becker K.** (1997). Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *J. Agric. Sci., Cambridge*. 128: 311–332.
- **Makonnen E, Hunde A, Damecha G.** (1997). Hypoglycaemic effect of *Moringa stenopetala* aqueous extract in rabbits. *Phytother Res* 11: 147–148.
- **Mangale S. M, Chonde S. G, Jadhav A. S, et Raut P. D,** (2012): Study of *Moringa oleifera* (Drumstick) seed as natural Absorbent and Antimicrobial agent for River water treatment; *J. Nat. Prod. Plant Resour*, 2 (1):89-100 Inde, ISSN: 2231 – 3184 CODEN (USA): JNPPB7.
- **Mashela. P.W,** (2017): Growth of *Moringa* (*Moringa oleifera*) seedlings in calcareous, clayey and sandy soils relative to loamy soil Green Biotechnologies Research Centre of Excellence, University of Limpopo, *African Journal of Agricultural Research* Vol. 12(50), pp. 3508-3512, DOI: 10.5897/AJAR2016.11617 N d' Article: 08ADCAA66980, South Africa ISSN 1991-637X
- **Mbikay, M** (2012). Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Front Pharmacol.*;3:1–3.

- **Mena, K. D., & Gerba, C. P.** (2009). Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 201, 71-115. doi : 10.1007/978-1-4419-0032-6_3
- **Minaiyan M, Asghari G, Taheri D, Saeidi M, Nasr-Esfahani S,** (2014): Antiinflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. *Avicenna J Phytomed*, Vol. 4, No. 2, pp.127-136, l'université de Sciences Medicales. Iran
- **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (Eds.).** (2007). *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed.). Washington: ASM Press.
- **Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., & Tenover, R. C. (Eds.).** (2003). *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed.). Herdon, VA, United States of America : American Society for Microbiology.
- **Muthu C., Ayyanar M., Raja N. and Ignacimuthu S.** (2006). Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu. *India. J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2: 43p.
- **Nataro, J. P., Bopp, C. A., Fields, P. I., Kaper, J. B., & Strockbine, N. A. (2007).** *Escherichia, Shigella and Salmonella*. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 670-687). Washington, DC, USA : ASM press.
- **Nauciel Charles et Louis Vildé Jean** (2005). livre de Bactériologie médicale *Staphylococcus aureus*. p: 77-141.
- **Ndong M., Wade S., Dossou N., Guiro A.T. et Gning R.D.** 2007. Valeur nutritionnelle du *Moringa oleifera*, étude de la biodisponibilité du fer, effet de l'enrichissement de divers plats traditionnels sénégalais avec la poudre des feuilles. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*. 7 (3):1-17.
- **Neto J.X.S, Pereira M. L, Oliveira1 .T. A, Rocha-Bezerra L. C. B, Lopes T. D. P, Costa H. P. S, Sousa et al.,** (2017): A Chitin-binding Protein Purified from *Moringa oleifera* Seeds Presents Anticandidal Activity by Increasing Cell Membrane Permeability and Reactive Oxygen Species Production, p 12, ed: Yuji Morita, l'universite Aichi Gakuin, Brazil doi: 10.3389/fmicb.2017.00980.
- **Odds, F. C.** (2010). Molecular phylogenetics and epidemiology of *Candida albicans*. *Future Microbiology*, 5(1), 67-79.
- **Of Nigella sativa seeds (black cumin).** *Journal Ethnopharmacol*, 1.34 (2-3) :275-278p.
- **Olugbemi T.S., Mutayoba S.K., et Lekule F.P.** 2010. Effect of *Moringa (Moringa oleifera)* Inclusion in Cassava Based Diets Fed to Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*. 9 (4): 363-367.

- **Osman H. M., M. E. Shayoub ., et Babiker E. M.** (2012) .The Effect of *Moringa oleifera* Leaves on Blood Parameters and Body Weights of Albino Rats and Rabbits. Jordan Journal of Biological Sciences. All 148 rights reserved. 5 (3): 147 – 150.
- **Pamo E.T., Niba A. T., Fonteh F. A., Tedonkeng F., Kana J. R., Boukila B. et Tsachoung J.** 2005. Effet de la supplémentation au *Moringa oleifera* ou aux blocs multinationnels sur l'évolution du poids post partum et la croissance pré-sevrage des cobayes (*Cavia porcellus* L.). Livestock Research for Rural Development. 17(4).
- **Panda S.K., Horie T., Kaneko T., Sugimota G., Sasano S., Shibasaka M., KatsuharaM.** 2008. Mechanisms of Water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation
- **Porwollik, S., Boyd, E. F., Choy, C., Cheng, P., Florea, L., Proctor, E., & McClelland, M.** (2004). Characterization of *Salmonella enterica* subspecies I genovars by use of microarrays. Journal of Bacteriology, 186(17), 5883-5898.
- **Pothitirat W., Chomnwang MT., Supabphol R., Gritsanapan W.** (2009).Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acneinducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. Fitoterapia. 80:422-447.
- **Richter N., Siddhuraju P., et Becker K.** 2003. Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Aquaculture. 217: 599– 611.
- **Ryan, K. J.** (2004). *Candida, Aspergillus, and Other Opportunistic Fungi*. In Ryan, K.J. and Ray, C.G. (Ed.), *Sherris Medical Microbiology* (4th ed., pp. 659-668). USA: McGraw-Hill.
- **Sahar M., Kheir SK. and Haitham E.** (2014). The antimicrobial activity and phytochemical characteristic of *Moringa oleifera* seeds, leaves and flowers, world Journal of Pharmaceutical Research 4(1):258 -271.
- **Saint Sauveur D. A.** (2001). L'exploitation du Moringa dans le monde : état des connaissances et défis à relever. Bilan Moringa 2001. Potentiel de développement des produits du Moringa 29 octobre – 2 novembre 2001, Dar es Salaam, Tanzanie. 12p.
- **Schell, W. A.** (2006). Mycotic agents of human disease. In Fleming, D.O., and Hunt, D.L. (Ed.), *Biological Safety: Principles and Practises* (4th ed., pp. 163-178). Washington D.C.: ASM Press.
- **Shih, M.C., Chang, C.M., Kang, S.M., Tsai, M.L.,** (2011). Effect of different parts (leaf, stem and stalk) and seasons (summer and winter) on the chemical compositions and antioxidant activity of *Moringa oleifera*. International Journal of Molecular Science, 12:6077–6088.
- **Siddhuraju P., et Becker K.** (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51 (8): 2144-2155.

- **Siddhuraju, P. and Becker, K.** (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agro-climatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam) leaves. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(8), 2144-2155.
- **Silvestro, L., Weiser, J.N. and Axelsen, P.H.** (2000): Antibacterial and antimembrane activities of cepropin A in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:602 – 607.
- **Sreelatha S. and Padm R.** (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. In *Plant foods human nutrition*. 64: 303-311.
- **Su, L. H., & Chiu, C. H.** (2007). Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Medical Journal*, 30 (3), 210-219.
- **Suarez, M., Entenza, J.M. and Dorries, C.** (2003): Expression of a plant – derived peptide harbouring water – cleaning and antimicrobial activities. *Biotechnol. Bioeng.* 81:13 – 20.
- **Tahir Mahmood K. and Mugal Tand Haq I.U.** (2010). *Moringa oleifera*: a natural gift-A review. *J. Pharm. Sci. Res.* 2 (11): 775-781.
- **Tchiégang C., et Aissatou K.** (2004). Données ethnobotaniques et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun). *Tropicultura*. 22 (1): 11-18.
- **Vilaseca M, Grima V.L et Gutiérrez-Bouzán C** (2014): Valorization of Waste Obtained from Oil Extraction in *Moringa oleifera* Seeds: Coagulation of Reactive Dyes in Textile Effluents. *L'Espresso* ; pp.6569-6584; doi:10.3390/ma7096569, ISSN 1996-1944.
- **Willcox, M. D.** (2007). *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact lens wear : a review. *Optometry and Vision Science : Official Publication of the American Academy of Optometry*, 84(4), 273-278. doi : 10.1097/OPX.0b013e3180439c3e
- **You et al.** (2010) In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from taraxacum officinale (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress.
- **Yusoff. M. M,** (2016): Aqueous enzymatic extraction of *Moringa oleifera* oil with high pressure processing pre-treatment, these de doctorat en philosophie, département aliment et sciences alimentaires, université de Reading, Angleterre, p214.