

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université  
Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département de Biochimie-Microbiologie



# Mémoire

*En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques*

*Spécialité : Microbiologie appliquée*

# Thème

*Caractérisation physicochimique, phytochimique  
Et biologique des graines de Moringa oleifera*

Présenté par : M<sup>elle</sup> BRAHIMI SARA

Devant le jury composé de :

Président : M<sup>me</sup> BENAHMED DJILALI A. Professeur à l'UMMTO

Examineur : Mme LEKSIR C. Maître de conférences (B) à l'UMMTO

Encadreur : M<sup>me</sup> BENZAOUZ K. Maître de conférences (B) à l'UMMTO

Année Universitaire 2022/2023



## *Remerciements*

*Le grand merci s'adresse au Bon Dieu le tout puissant, de m'avoir donné la force et la patience et qui m'a guidé et éclairé mon chemin pour la réalisation de mon mémoire de fin d'étude.*

*Au terme de ce modeste travail, je tien à présenter les plus profonds et sincères remerciements à ma promotrice Mme Benazzouz Kinza Maître de conférences B à l'UMMTO, pour son accord à m'encadré et pour sa disponibilité, sa gentillesse, sa sagesse, et pour l'attention qu'il a porté à ce travail, son rôle de guide pendant toute cette période et pour sa patience.*

*Je tien à exprimer mes remerciements les plus sincères Mme BENAHMED DJILALI A Professeur à l'UMMTO pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*On tient également à remercier Mme LEKSIR C Maître de conférences B à l'UMMTO pour avoir accepté de faire partie des membres du jury et d'examiner mon travail.*

*J'adresse mes vifs remerciements aux ingénieurs des laboratoires d'analyses physico-chimiques et de Microbiologie pour leurs aides et leurs encouragements.*

*L'ensemble des enseignants ayant contribué à ma formation durant mon cycle d'étude, sans oublier tout le personnel de la bibliothèque, pour leurs aides.*



## *Dédicaces*

*Avec l'aide d'Allah le tout puissant et miséricordieux qui m'a donné la force et la patience  
J'ai pu accomplir cet humble travail que je dédie à :*

*A la lumière de ma vie, ma mère, pour son amour infini, tous ses sacrifices, son soutien et  
ses encouragements, et pour ses prières tout au long de mes études. Que Dieu nous la  
préserve et lui accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.*

*A mon défunt père, que dieu ait son âme, qui serait fier de mon parcours et heureux de  
me voire ponctuer mes études avec ce diplôme. Repose en paix cher père.*

*A mon seul et cher frère Yahia, pour leur aide et leur encouragement.*

*A mes chers grands parents Que Dieu le tout puissant les protèges et leur accorde une  
longue et joyeuse vie.*

*A mes oncles Hamza et Yacine et leurs familles pour leur aide et leur sollicitude.*

*A mes tantes Sabrina, Karima, Zina, Marieme. Pour leur amour et leurs encouragements.*

*A tous la famille sans exception.*

*A mes très chers amis(es) Siham, Aldjia, Assia, Fatima, Sarah, Baya, Imane, Abba.*

*A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réussite de mon travail.*

**SARA**

## Résumé :

*Moringa oleifera* est un arbre appartenant à la famille des *moringacées*, originaire d'Inde. Est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal, se trouve dans les régions tropicales. Le présent travail s'intéresse à l'étude physico-chimique, phytochimique ainsi qu'à l'évaluation des activités biologiques des extraits des graines de *Moringa oleifera*. Le screening phytochimique a révélé la présence de composés secondaires actifs tels que les stéroïdes, les anthocyanes, les glucosides et les saponosides. Le rendement d'extrait sec est de 25%. Quant aux résultats du dosage des polyphénols totaux par la méthode de réactif Folin-Ciocalteu, ils montrent que l'extrait aqueux présente une teneur de  $43,21 \pm 0.5$  mg EAG/g MS.

Deux souches ont été testées pour leur aptitude à former des biofilms sur milieu solide par la méthode Rouge Congo (RC), à savoir, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Escherichia Coli* ATCC25922. C'était avéré que, seule *S. aureus* est formatrice du biofilm.

L'activité anti biofilm des extrait aqueux (extrait pur, extrait dilué  $\frac{1}{2}$ ) des graines de *Moringa oleifera*, a été évaluée sur milieu solide par la méthode de diffusion sur gélose Rouge Congo, ont montré un effet très important avec des diamètres des zones d'inhibition (23 mm et 19 mm) respectivement.

Ainsi, l'activité antibactérienne des extraits aqueux (pur et dilué  $\frac{1}{2}$ ) a été évaluée sur milieu Mueller Hinton. L'extrait pur et dilué a exhibé un grand effet inhibiteur de la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et un effet moyen contre *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des diamètres des zones d'inhibition (20 mm et 14 mm) et (9 mm 8 mm) respectivement.

**Mots clés :** *Moringa oleifera*, polyphénols totaux, extrait aqueux, activité anti biofilm, activité antibactérienne.

**Abstract:**

*Moringa oleifera* is a tree belonging to the *Moringaceae* family, native to India. Is a plant of nutritional and medicinal interest, is found in tropical regions. This work focuses on the physicochemical and phytochemical study as well as the evaluation of the biological activities of *Moringa oleifera* seed extracts. The phytochemical screening revealed the presence of active secondary compounds such as steroids, anthocyanins, glucosides and saponosides. The yield of the dry extract is 25%. As for the results of the assay of total polyphenols by the Folin-Ciocalteu reagent method, they show that the aqueous extract has a content of  $43.21 \pm 0.5$  mg EAG/g DE.

Two strains were tested for their ability to form biofilms on solid medium by the Congo Red (CR) method, namely, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 and *Escherichia Coli* ATCC25922. It was proven that only *S. aureus* is former of the biofilm.

The anti-biofilm activity of the aqueous extract (pure extract, 1/2 diluted extract) of *Moringa oleifera* seeds, was evaluated on a solid medium by the diffusion method on Congo Red agar, showed a very significant effect with diameters of the areas of inhibition (23 mm and 19 mm) respectively.

Thus, the antibacterial activity of the aqueous extracts (pure and diluted 1/2) was evaluated on Mueller Hinton medium. The pure and diluted extract exhibited a great inhibitory effect on the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and an average effect against *Escherichia coli* ATCC 25922 with diameters of the zones of inhibition (20 mm and 14 mm) and (9 mm 8 mm) respectively.

**Keywords:** *Moringa oleifera*, total polyphenols, aqueous extract, anti-biofilm activity, antibacterial activity.

## ملخص:

مورينجا أوليفيرا هي شجرة تنتمي إلى عائلة Moringaceae، موطنها الهند. نبات ذو فائدة غذائية وطبية، يوجد في المناطق الاستوائية. يركز هذا العمل على الدراسة الفيزيائية والكيميائية النباتية وكذلك تقييم الأنشطة البيولوجية لمستخلصات بذور المورينجا. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود مركبات ثانوية نشطة مثل المنشطات والأنثوسيانين والجلوكوزيدات والسابونوزيدات. عائد المستخلص الجاف 25٪. بالنسبة لنتائج اختبار البوليفينول الكلي بواسطة طريقة كاشف Folin-Ciocalteu، فقد أظهرت أن المستخلص المائي يحتوي على محتوى  $0.5 \pm 43.21$  مجم EAG / g DE.

تم اختبار سلالتين لقدرتهما على تكوين أغشية حيوية على وسط صلب بواسطة طريقة الكونغو الحمراء (CR)، وهي *S. aureus* ATCC25923 و *Escherichia Coli* ATCC25922. وقد ثبت أن بكتيريا *S. aureus* هي الوحيدة السابقة في الغشاء الحيوي الرقيق.

تم تقييم النشاط المضاد للبيوفيلم للمستخلص المائي (المستخلص النقي، 1/2 المستخلص المخفف) لبذور المورينجا أوليفيرا، على وسط صلب بواسطة طريقة الانتشار على أجار الكونغو الأحمر، وأظهر تأثيرًا قويًا جدًا بأقطار مناطق التثبيط (23 مم و 19 مم) على التوالي.

وهكذا، تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية (النقية والمخففة 1/2) على وسط مولر هينتون. أظهر المستخلص النقي والمخفف تأثير مثبط كبير على نمو *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 وتأثير متوسط ضد *Escherichia coli* ATCC 25922 بأقطار مناطق التثبيط (20 مم و 14 مم) و (9 مم و 8 مم) على التوالي.

**الكلمات المفتاحية:** مورينجا أوليفيرا، بوليفينول كلي، مستخلص مائي، نشاط مضاد للبيوفيلم، نشاط مضاد للجراثيم.

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1</b> : Répartition géographique de <i>Moringa oleifera</i> dans le monde.....                                       | 4  |
| <b>Figure 2</b> : Structure de base des acides phénoliques.....  | 13 |
| <b>Figure 3</b> : Structure de base des coumarines.....  | 13 |
| <b>Figure 4</b> : Structure de base des flavonoïdes .....  | 14 |
| <b>Figure 5</b> : Structure de base des anthocyanes .....  | 15 |
| <b>Figure 6</b> : Synthèse des principaux mécanismes impliqués dans la résistance des biofilms<br>aux antibiotiques .....      | 19 |
| <b>Figure 7</b> : Observation au microscope électronique de <i>S. aureus</i> .....   | 20 |
| <b>Figure 8</b> : Représentation de la formation de biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> sur une<br>surface abiotique ..... | 21 |
| <b>Figure 9</b> : Etapes suivi pour obtenir la poudre des graines de <i>Moringa oleifera</i> .....                             | 25 |
| <b>Figure 10</b> : Diagramme du dosage des polyphénols totaux .....  | 33 |

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau I</b> : Classification botanique <i>Moringa oleifera</i> .....  | 4  |
| <b>Tableau II</b> : Aspect botanique de <i>Moringa oleifera</i> .....  | 5  |
| <b>Tableau III</b> : Effets thérapeutiques et protecteurs en fonction des parties de <i>M. oleifera</i>                            | 9  |
| <b>Tableau IV</b> : Souches bactériennes utilisées .....   | 24 |
| <b>Tableau V</b> : Évaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition.....   | 35 |
| <b>Tableau VI</b> : Paramètres physico-chimiques des graines de la plante étudiée.....   | 36 |
| <b>Tableau VII</b> : Résultats des analyses phytochimiques effectués sur la poudre des graines<br>de <i>Moringa Oleifera</i> ..... | 37 |
| <b>Tableau VIII</b> : Rendement en extrait sec de la poudre des graines de <i>Moringa oleifera</i> .                               | 38 |
| <b>Tableau IX</b> : Résultats du dosage des PPT d'extrait aqueux des graines séchées.....  | 39 |
| <b>Tableau X</b> : Formation des biofilms sur milieu RCA.....  | 39 |
| <b>Tableau XI</b> : Diamètres des zones d'inhibition de l'activité anti biofilm sur <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> .....         | 40 |
| <b>Tableau XII</b> : Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérien sur les deux<br>souches étudiées.....            | 41 |

## Liste des abréviations

**AG:** Acide gallique.

**AGR:** Régulateur des gènes accessoires

**ATCC:** American Type Culture Collection.

**EAG:** Équivalent d'acide gallique.

***E. coli*** : *Escherichia coli*.

**EPS :** Exo polysaccharides

**FeCl<sub>3</sub>:** Chlorure ferrique

**GN:** Gentamicine

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:** Acide sulfurique.

**Mg:** Magnésium

**MH:** Muller-Hinton.

**NaOH:** Hydroxyde de sodium

**pH:** Potentiel hydrogène

**PIA :** Adhésine intercellulaire polysaccharidique

**RC :** Rouge Congo

***S. aureus:*** *Staphylococcus aureus*.

## Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

### Partie bibliographique

Introduction ..... 1

#### **Chapitre I : Généralités sur *Moringa oleifera***

I.1. Historique et généralités ..... 3

I.2. Définition..... 3

I.3. Répartition géographique ..... 3

I.4. Classification systématique ..... 4

I.5. Description botanique..... 5

I.6. Culture et production ..... 6

I.7. Exigences environnementales..... 7

I.8. Valeur nutritionnelle et consommation..... 8

I.9. Composition chimique des différentes parties de la plante ..... 8

I.10. Intérêt médicinale et traitement des maladies humaines ..... 9

I.11. Propriétés biologiques ..... 10

I.12. Utilisations de la plante ..... 10

#### **Chapitre II : Métabolites secondaires des végétaux**

II.1. Métabolites secondaires ..... 12

II.2. Composés phénoliques..... 12

II.2.1. Acides phénoliques ..... 12

|  |    |
|--|----|
| II.2.2. Coumarines.....                                | 13 |
| II.2.3. Tanins .....                                   | 13 |
| II.2.4. Flavonoïdes .....                              | 14 |
| II.2.5. Térpenoïdes et stéroïdes .....                 | 15 |
| II.2.6. Anthocyanes .....                              | 15 |
| II.2.7. Glucosides .....                               | 15 |
| II.2.8. Saponines .....                                | 16 |
| II.2.9. Quinones.....                                  | 16 |
| II.3. Propriétés pharmacologique des polyphénols ..... | 16 |

### **Chapitre III : Biofilms et activité antimicrobienne**

|   |    |
|---|----|
| III.1. Définition de biofilms .....                                   | 18 |
| III.2. Propriétés communes à tous les biofilms.....                   | 18 |
| III.3. Résistance des biofilms aux agents antimicrobiens .....        | 18 |
| III.4. Biofilms de <i>Staphylococcus aureus</i> .....                 | 20 |
| III.4.1. Nature de la matrice extracellulaire .....                   | 20 |
| III.4.2. Formation des biofilms de <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 21 |
| III.4.3. Quorum sensing .....   | 22 |
| III.5. Activité antibactérienne .....                                 | 23 |

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et méthodes**

|   |    |
|---|----|
| I.1. Cadre d'étude.....                   | 24 |
| I.2.objectif d'étude .....                | 24 |
| I.3. Matériel.....                        | 24 |
| I.4. Méthodes .....                       | 25 |
| I.5. Analyses physico-chimiques .....     | 25 |
| I.6. Analyses phytochimique .....         | 31 |
| I.7. Préparation de l'extrait sec .....   | 32 |
| I.8. Dosage des composés phénoliques..... | 33 |

|  |    |
|--|----|
| I.9. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux .....    | 34 |
| I.9.1. Sélection des souches formatrices de biofilms .....                 | 34 |
| I.9.2. Évaluation de l'activité antibactérienne et anti biofilm .....      | 34 |
| <b>Chapitre II : Résultats et discussion</b>                               |    |
| II.1. Résultats des analyses physico-chimiques .....                       | 36 |
| II.2. Résultats des analyses phyto-chimiques .....                         | 36 |
| II.3. Rendement en extrait sec.....  | 38 |
| II.4. Résultats de dosage des polyphénols totaux .....                     | 39 |
| II.5. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits aqueux .....    | 39 |
| II.6. Résultats de la sélection des souches formatrices des biofilms ..... | 40 |
| II.7. Résultats de l'activité anti biofilm des extraits aqueux .....       | 41 |
| Conclusion et perspectives .....   | 43 |
| Références bibliographiques .....  | 44 |
| Annexes  |    |

# *Introduction*

L'utilisation des plantes comme source de médicament a été exploitée depuis des millénaires par l'homme, certains produits naturels d'origine végétale sont devenus des alternatives efficaces aux composés chimiques qui ont plusieurs effets indésirables sur la santé (Fernnell et al. 2004).

Il y a de plus en plus de preuves pour prouver que les plantes médicinales peuvent représenter un traitement alternatif pour les cas non graves de maladies infectieuses. Ils pourraient également servir de source potentielle d'antibiotiques nouveaux et bon marché auxquels les souches pathogènes ne sont pas résistantes. Plusieurs travaux ont fourni la base scientifique de l'utilisation populaire des plantes contre les maladies infectieuses (Kitula, 2007). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, les plantes médicinales seraient la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments. Par conséquent, ces plantes ont été étudiées pour une meilleure compréhension de leurs propriétés médicinales (Kunle et al. 2012).

Les biofilms sont des communautés microbiennes sessiles qui colonisent et se développent sur des surfaces par des substances polymères extracellulaires autoproduites, ces films sont omniprésents dans la nature et dans les environnements médicaux et techniques (Potera, 1999). Les biofilms pathogènes peuvent poser de sérieux problèmes à la santé humaine en raison de leur capacité à tolérer les antibiotiques conventionnels, les systèmes de défense de l'hôte et les stress externes, ainsi, ils contribuent à la persistance des infections bactériennes chroniques (Costerton et al. 1999; Hoffman et al. 2005).

*Staphylococcus aureus* est l'agent causal d'un large éventail d'infections aiguës et chroniques. Il présente souvent une résistance aux antibiotiques et est responsable d'épidémies mondiales d'infections nosocomiales (Lowy, 1998).

Les plantes sont des sources majeures d'agents antimicrobiens et d'autres produits pharmaceutiques. Divers métabolites secondaires des plantes ont montré qu'il possédait une activité anti biofilm contre *S. aureus* (Kwiecinski et al. 2009 ; Lee et al. 2013 ; Lee et al. 2014).

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'espèce *Moringa Oleifera* qui est une plante d'une grande utilité dans plusieurs domaines, chacune de ses parties contiennent différents profils de biomolécules importantes et présentent une caractéristique spécifique. Elle est d'usage courant en médecine populaire et en alimentation humaine et animale dans les sociétés africaines et asiatiques (Aberra et al. 2011).

Plus particulièrement, on s'intéresse à l'étude des graines, cette partie des plantes sont parmi les produits botaniques nutritifs les plus utiles avec des valeurs économiques élevées. Elles ont des propriétés antimicrobiennes. Les graines de *M. oleifera* sont connues par leur divers composés polyphénoliques bioactifs, tels que l'acide gallique, la quercétine, la myricétine, la rutine et l'acide férulique, qui ont des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Les graines de *Moringa* sont également utilisées dans le domaine industriel et agricole (Ferreira *et al.* 2008; Dalen *et al.* 2011; Singh *et al.* 2013).

Notre travail est divisé en trois parties, la première partie est consacré à une étude bibliographique qui porte des généralités sur la plante étudiée, les métabolites secondaires des végétaux et des généralités sur les biofilms particulièrement les biofilms formés par *Staphylococcus aureus* et l'activité antibactérienne. La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées, et la troisième partie regroupera les résultats obtenus et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale et les perspectives.



*Partie bibliographique*

*Chapitre I*

*Généralités Sur*

*Moringa oleifera*

### I.1. Historique et généralités

Le mot « *Moringa* » vient de *muringa* en malayalam une langue indienne. La plupart des langues utilisent un dérivé phonétique de ce mot pour désigner la plante (Theophile, 2014). *Moringa oleifera* est un arbre connu sous diverses appellations. On l'appelle en Inde, il est appelé indifféremment Drumstick pour rappeler la forme de fruit qui ressemble à une baguette de tambour, ou bien radish tree pour évoquer la forme mince de la silique à peine mûre très proche de celle du radis. En Afrique francophone, le nom le plus général est nébéday, nom vraisemblablement dérivé de l'anglais "Never die" (immortel), en référence à sa capacité de résistance à la sécheresse, à son aptitude à se propager rapidement à partir de semis ou de boutures et à se régénérer même après des coupes très sévères (Ramachandran et al. 1980; Fuglie, 2001).

Les arbres du genre *Moringa* sont connus et utilisés depuis l'antiquité par les Romains, les Grecs et les Égyptiens. Ces derniers cultivaient *Moringa peregrina* à des fins médicinales pour extraire l'huile contenue dans les graines. Le *Moringa* a été introduit en Afrique de l'Est au début du 20<sup>ème</sup> siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période (Foidl et al. 2001). Cet arbre est maintenant autochtone dans de nombreux pays d'Afrique (Soudan, Tanzanie, Kenya, Afrique du sud, Éthiopie) (Louni, 2009).

### I.2. Définition

*Moringa oleifera* Lam. (Synonyme : *Moringa pterygosperma* Gaertner) appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres de Moringaceae. Cette famille est dite monogénérique car ne comporte qu'un seul genre « *Moringa* », qui comprend environ 13 espèces (Foidl et al. 2001; Houndji et al. 2013). Il est qualifié « d'arbre de vie », « d'arbre miracle » ou plante divine (Fuglie, 2001 ; Olson, 2001). Est l'une des espèces les plus connues et plus utilisées au monde en raison de ses nombreuses potentialités médicinales, industrielles, nutritionnelles et environnementales (Boukandoul et al. 2017).

### I.3. Répartition géographique

*Moringa oleifera* est un arbre originaire d'Himalaya, au nord-est de l'Inde, au Bangladesh, Afghanistan et Pakistan. Il a été introduit dans toutes les régions tropicales et subtropicales et se naturaliser dans de nombreux pays africains. Cet arbre a une vaste étendue géographique, distribution dans toute l'Amérique centrale et du Sud, l'Afrique et l'Asie du Sud (Mallick et al. 2013). Cet Arbuste très résistant à la sécheresse, se retrouve au niveau des zones

très arides comme le Sahara ; mais il préfère les climats semi-tropicaux humides (Figure1) (Foidl et *al.* 2001).



 Zone de culture de *Moringa oleifera*.

**Figure 1** : Répartition géographique de *Moringa oleifera* dans le monde (Louni, 2009)

#### I.4. Classification systématique de la plante

La classification de l'espèce *Moringa oleifera* est présentée dans le (Tableau I).




**Tableau I** : Classification botanique de *Moringa oleifera* selon Lamarck (1785)




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

I.5. Description botanique de la plante *M. oleifera*

Les données botaniques sont résumées dans le tableau ci-dessous

**Tableau II** : Aspect botanique de *Moringa oleifera*.

| Organe   | Description   | Photographies et références  |
|----------|---|--|
| Arbre    | <p><i>Moringa oleifera</i> est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre une hauteur de 7 à 12 mètres et dont le tronc mesure 20 à 40 cm de diamètre et 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier ; elle possède plusieurs branches. Le fût à un diamètre mesure entre 9 - 20 cm et 1,3 m de longueur (Foidl et al. 2001; Louni, 2009)</p>  |  <p>Arbre de <i>Moringa oleifera</i> (Louni, 2009)</p>     |
| Feuilles | <p>Les feuilles sont alternes et imparipennées composées et bi ou tripennées, se développent principalement à l'extrémité des branches. Elles ont un long pétiole (20 à 70 cm) avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposées, plus un à l'apex, ovales à elliptiques, et mesurant 1 à 2 cm de long (Morton, 1991; Foidl et al. 2001).</p>                                  |  <p>Feuilles de <i>Moringa oleifera</i> (Louni, 2009)</p> |
| Fleurs   | <p>Les fleurs mesurent 2,5 cm de large et se présentent sous forme de panicules axillaires et tombants de 10 à 25 cm. Elles sont de couleur blanche, avec des points jaunes à la base (Foidl et al. 2001) 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 (Louni, 2009).</p> |  <p>Fleurs du <i>Moringa oleifera</i> (Costa, 2018)</p>  |

|         |   |  |
|---------|---|--|
| Fruits  | <p>Les fruits sont faits des gousses à trois lobes, de couleur vert foncé et deviennent à maturité marron clair ou brun, mesurent de 20 à 60 cm de longueur. Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines. Ils présentent des étranglements entre les graines qu'ils s'ouvrent en trois parties et se libérant à sur-maturité par la déhiscence. (Louni, 2009; Boukandoul, 2019)</p> |  <p>Gousses fraîches<br/>De <i>Moringa oleifera</i><br/>(Ashraq et al. 2012)</p> <p>Gousses sèches<br/>De <i>Moringa oleifera</i><br/>(Price et al . 2015)</p> |
| Graines | <p>Les graines sont rondes, avec une coque marron semi-perméable. La coque présente trois ailes blanches et renferme une amande (Verma et Nigam, 2013). 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 (Makkar et Becker, 1997).</p>  |  <p>Graines de <i>Moringa oleifera</i> (Louni, 2009)</p>  |
| Racines | <p>Le système racinaire est de structure tubulaire, il est formé d'un pivot central qui peut s'enfoncer dans le sol jusqu'à 1,30 m de profondeur ; ce qui lui vaut sa grande résistance à la sécheresse. Des racines secondaires se ramifient ensuite latéralement à partir de cette dernière jusqu'à constituer une chevelure dense (Rosa, 1993).</p>                                |  <p>Racines du <i>Moringa oleifera</i> (Hamad, 2022)</p>   |

## I.6. Culture et production

*Moringa oleifera* est l'espèce la plus largement cultivée au monde. Cet arbre est de croissance rapide (environ 3 ans après sa plantation, il commence à donner des fruits), peut être planté par semis ou par repiquage, en plein champ ou par bouture. Il peut être cultivé d'une

façon extensive pour la production des graines (semence ou production d'huile) ou d'une façon intensive irriguée pour une production optimale des feuilles avec une récolte toutes les six semaines (Barth, 1982; Louni, 2009). Les fleurs et les gousses sont généralement produites au cours de la deuxième année de croissance de l'arbre. Durant les deux premières années le rendement sera faible, mais à partir de la troisième année un seul arbre peut produire 600 à 1600 fruits (gousses) par an (Boukandoul, 2019). Selon Ralezio-Maevalandy (2006), un arbre peut produire 15 000 à 25 000 graines par an.

### **I.7. Exigences environnementales**

Il pousse dans n'importe quel type de sol, mais il préfère des sols limoneux, sableux ou sablo-limoneux, avec un pH compris entre 4,5 et 8, neutres à légèrement acide, à température moyenne annuelle optimal de 22°C -25 °C, à une altitude allant jusqu'à 2000 m, et des Précipitations de 700 - 900 mm (Palada, 1996 ; Louni, 2009; Nouman et *al.* 2014).

### **I.8. Valeur nutritionnelle et consommation**

Les fruits et les feuilles sont utilisée en alimentation, ils sont riches en vitamines C (220mg pour 100g dans les feuilles et 120mg pour 100g dans les fruits). Ils contiennent aussi de nombreux acides aminés et des protéines surtout dans les feuilles (6,7 g pour 100g) (Delaveau et Boiteau, 1980).

Des études ont révélé la présence de 40% d'huile dans les graines de *M. Oleifera*. La qualité de cette huile se rapprocherait de celle de l'huile d'olive et elle peut être utilisée comme huile végétale comestible (Atakpama et *al.* 2014).

Toutes les parties de la plante sont consommable (feuilles, graines, fleurs, fruits, racines, écorce) (Louni, 2009; Mélanie, 2018).

- Les feuilles sont consommées sous différentes formes (feuille séchées entières, poudre, gélule), les feuilles séchées et la poudre peuvent se consommer fraîches dans les salades, les sauces et les soupes.
- La gousse entière peut être préparée cuite et mangée en tant qu'haricots verts, ou mise en conserve.
- Les graines doivent d'abord être bouillies et elles ont le goût des cacahuètes. Elles peuvent être consommées sous forme d'une poudre en saupoudrée sur les pâtisseries, les thés et les jus de légumes, ou extraire leur huile nommé (huile de ben) cette huile est riche en vitamines A et E, en antioxydants et acides gras insaturés.

- Les fleurs qui doivent être cuites sont consommées soit mélangées avec d'autres aliments et se sont révélées riches en potassium et en calcium, c'est pourquoi elles sont aussi utilisées en jus pour stimuler la lactation chez les femmes allaitantes et contre les problèmes urinaires.
- Les écorces de moringa sont consommées sous forme de décoction, après les avoir fait bouillir longtemps pour en extraire le jus.
- Les racines sont utilisées pour les affections nerveuses, comme tonique cardiaque et circulatoire, elles sont aussi utilisées comme condiment avec un goût piquant.

### I.9. Composition chimique des différentes parties de la plante

*M. oleifera* est riche en composés contenant des sucres simples : rhamnose et un groupe particulier de composés appelés glucosinolates et les isothiocyanates (Amaglo et al. 2010).

- L'écorce de la tige contient deux alcaloïdes, à savoir la moringine et la moringinine (Kerharo, 1969). Des composés comme la Vanilline,  $\beta$ -sitosterol  $\beta$ -sitostenone, l'acide octacosanoïque, hydroxymelline ont été isolés de la tige de *M. oleifera* (Faizi et al. 1994).
- Les fleurs contiennent neuf acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire, de quercétine et de kaempferat ; la cendre est riche en potassium et en calcium. Les composés antihypertenseurs tels que le thiocarbamate, l'isothiocyanate et les glycosides ont été isolés de la phase acétate de l'extrait éthanolique des gousses de *Moringa* (Anwar et al. 2007).
- Les feuilles contiennent également certains pigments flavonoïdiques tels que le kaempherol, le rhamnetine, l'isoquercitrine (Laleye et al. 2015). Les feuilles de *M. oleifera* sont une source d'antioxydants naturels. Elles sont riches en caroténoïdes, en vitamines A, B et C,  $\alpha$ -tocophérol, Riboflavine, acide nicotinique, acide folique, pyridoxine,  $\beta$ -carotène... etc (Anwar et al. 2007).
- Les graines de *Moringa* contiennent un fort taux d'acide oléique, et une quantité plus faible d'acide linoléique et d'acide  $\alpha$ -linoléique. L'acide arachidonique est également présent en quantité assez élevée. L'huile obtenue à partir des graines se caractérise par sa faible teneur en acide gras saturée et sa forte teneur en acide gras mono-insaturée ; il contient également 76 % acide oléique, 1.4 % acide palmitoléique, 7.7 % d'acide Béhénique, 6.2 % acide palmitique et 5.7 % acide stéarique. L'huile de *Moringa* est

donc 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 (Roy, 2013).

#### I.10. Intérêt médicinale et traitement des maladies humaines

*Moringa* est utilisé dans le monde entier en médecine traditionnelle, pour divers problèmes de santé, tels que les maladies métaboliques, inflammatoires, infectieuses, parasitaires et tumorales (Tahiliani et Kar, 2000 ; Sengupta et al. 2012). La consommation des graines préviendrait plusieurs maladies parasitaires et bactériennes, entraînerait l'élimination des vers intestinaux, calmeraient les maux de ventre, et les amygdalites (Atakpama et al. 2014). Le (Tableau III) présentes les effets thérapeutiques des différentes parties de la plante.

**Le tableau III :** Les effets thérapeutiques et protecteurs en fonction des parties de *M. oleifera*.

| Parties      | Effets thérapeutiques et protecteurs   |
|--------------|--|
| Les feuilles | Les feuilles de <i>Moringa</i> possèdent une action antioxydant, protectrice des tissus (foie, reins, cœur, testicules et poumons), analgésiques, antiulcéreuses, antihypertenseurs, radio protectrices et immunomodulatrices (Stohs et Hartman, 2015).            |
| Les fleurs   | Les fleurs sont utilisées pour produire des substances aphrodisiaques et pour traiter les inflammations, les maladies musculaires, l'hystérie, les tumeurs et l'hypertrophie de la rate (Anwar et al. 2007 ; Yabesh et al. 2014).                                  |
| Les gousses  | Les gousses sont fibreuses et sont précieuses pour traiter les problèmes digestifs et contrecarrer le cancer du côlon (Oduro et al. 2008).   |
| Les graines  | Les graines peuvent être utilisées pour traiter et soulager les maux d'estomac et des ulcères, les douleurs articulaires, le diabète, l'anémie et hypertension, maux de dents, hémorroïdes, et les troubles utérins (Popoola et Obembe, 2013 ; Yabesh et al. 2014) |
| L'écorce     | L'écorce de la racine a des vertus médicinales et est utilisée pour la dyspepsie et les problèmes cardiaques (Adejumo et Kolapo, 2012).  |

|             |   |
|-------------|---|
| Les racines | Les racines ont des propriétés antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires (Shank et <i>al.</i> 2013). |
|-------------|---|

## I.11. Propriétés biologiques de *Moringa oleifera*

### I.11.1. Activité anticancéreuse et antitumorale

Selon les travaux de Makonnen et *al.* (1997) 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.

### I.11.2. Propriétés anti-inflammatoires

Certains glycosides phénoliques isolés des fruits et des graines de *M. oleifera* agissent sur l'oxyde nitrique (NO), médiateur impliqué dans le processus inflammatoire. Il a été démontré que certains glycosides phénoliques, inhibent de façon significative la production des cytokines inflammatoire (Roy, 2013).

### I.11.3. Propriétés antioxydants

Les polyphénols contenus dans les feuilles, les fruits, les racines et graines du *M. oleifera* protègent l'organisme de stress oxydatif. L'extrait des feuilles présentes différentes variétés d'antioxydants comme l'acide ascorbique, les composés phénoliques et les caroténoïdes (Roy, 2013).

### I.11.4. Activité antibactérienne et antifongique

Les racines de *M. oleifera* contiennent un principe actif : la pterygospermine, c'est un agent antibactérien et antifongique puissant (Ruckmani et *al.* 1998). Des études récentes montrent que le jus frais de feuilles de *M. oleifera* inhibe la croissance des microorganismes tel que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Caceres et *al.* 1991). La consommation des graines préviendrait plusieurs maladies parasitaires et bactériennes, entrainerait l'élimination des vers intestinaux, calmeraient les maux de ventre, et les amygdalites (Atakpama et *al.* 2014).

## I.12. Utilisations du *Moringa oleifera*

*Moringa oleifera* présente plusieurs qualités qui lui confèrent des nombreuses utilisations. Toutes les parties de l'arbre peuvent être employées par une multitude de moyens.

### I.12.1. Alimentation animale

Les qualités nutritives du *Moringa* sont excellentes, ce qui en fait une source de fourrage de très bonne qualité pour les animaux (bovins, caprins, ovins, etc.), afin de leur fournir des protéines pouvant favoriser leur développement et améliorer leur santé. *Moringa* est une source de fourrage particulièrement intéressante en terme économique qu'en termes de productivité (Foidl et al. 2001). D'après Agroconsult Haiti (2016), des expériences réalisées en Amérique centrale montrent que les performances techniques des bovins sont beaucoup plus intéressantes avec une alimentation à base de *Moringa* que sans ce produit.

### I.12.2. Purification de l'eau

La purification de l'eau se fait avec les graines du *Moringa*, dont elles sont considérées comme l'un des meilleurs coagulants naturels non toxiques découverts à ce jour (Ndabigengesere et Narasiah, 1998). Les graines de *Moringa* ont la capacité d'éliminer les métaux lourds (tels que le Pb, Cu, Cd, Cr et Ar) de l'eau (Ravikumar et Sheeja, 2013), et sont très efficaces pour les eaux à turbidité élevée (Muyibi et Evison, 1995), ainsi, peuvent être un correcteur de pH (réduction de l'alcalinité) (Anwar et al. 2007). Les graines de *Moringa* ont également des propriétés antimicrobiennes qui inhibent la croissance bactérienne, ce qui implique la prévention des maladies d'origine hydrique.

### I.12.3. Industrie

L'Industrie est l'une des applications intéressantes des graines de *Moringa* est leur utilisation comme biomasse pour production de biodiesel. Le biodiesel peut remplacer l'huile dérivée du pétrole (pétro diésel), sans soufre ni composé aromatique et avec une émission plus faible de monoxydes, d'hydrocarbures et de particules (Leone et al. 2015). Il peut être utilisé aussi comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante. Elle est aussi utilisée comme huile végétale comestible et huile de cuisson, comme huile de qualité dans l'industrie cosmétique et de parfums (Theophile, 2014).

### I.12.4. Pesticides

Les extraits de feuilles et de graines présentent une activité biopesticide, efficace contre les larves et les adultes de *Trogoderma granarium* et peuvent réduire l'incidence des champignons sur les graines d'arachide (Ashfaq et al. 2012), ainsi, peuvent limiter les maladies liées aux semences surtout dans les sols humides (Anonyme, 2016).

**I.12.5. Apiculture**

En général, les fleurs du *M. oleifera* sont une excellente source de nectar et sont utilisées par les apiculteurs. Le miel obtenu est clair ; l'odeur et le goût sont très appréciés pour les consommateurs (Anonyme, 2016). Les graines servent à purifier le miel, exigible à sa teneur en composés phytohormonaux tels que les cytokinines (Sayed et Polshettiwar, 2015).

## *Chapitre II*

# *Métabolites secondaires des végétaux*

## II.1. Métabolites secondaires

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Bouque, 1997).

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures et elles constituent une classe extrêmement large de substances naturelles qui interviennent de façon déterminante dans l'adaptation des plantes à leur environnement. En plus de leurs implications dans le fonctionnement des végétaux, ces molécules représentent une source importante de substances intéressantes pour l'Homme tel que les terpénoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes mais elles sont produites en faible quantité. Leurs applications concernent des domaines aussi variés tels que les principes actifs pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les additifs alimentaires (Calatuyud et *al.* 2013).

## II.2. Composés phénoliques

Tous les végétaux contiennent des composés phénoliques mais, comme c'est le cas pour la plupart des substances naturelles qualifiées de métabolites secondaires, leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques. Ils correspondent à une très large gamme de structures chimiques et sont un bon témoin de l'extraordinaire capacité de biosynthèse des plantes (Calatuyud et *al.* 2013).

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs fonction hydroxyles (Urquiaga et Leighton, 2000).

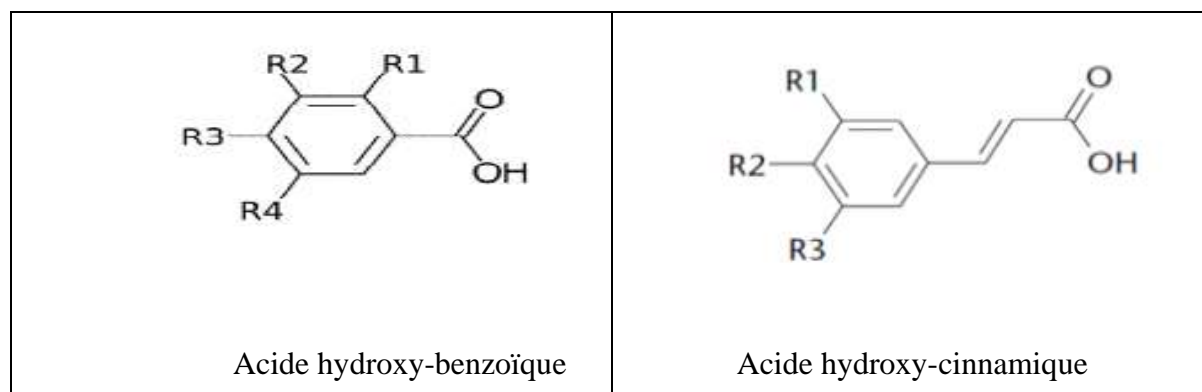
### II.2.1. Acides phénoliques

#### ➤ Acides hydroxy-benzoïques

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque, ils ont une structure générale de base de type (C6-C1), ils existent souvent en forme d'esters ou de glucosides (Figure 2) (Sarni et *al.* 2006).

#### ➤ Acide hydroxy cinnamique

Ils dérivent de l'acide cinnamique et possèdent une structure générale de base de type C6-C3.ils existent souvent sous forme combiné avec des molécules organiques (Figure 2) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

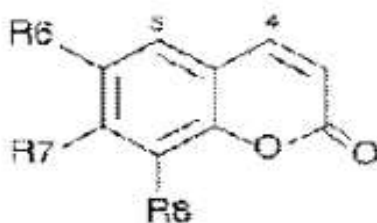


**Figure 2 :** Structure de base des acides phénoliques (Laguerre et *al.* 2007).

### II.2.2. Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés (Iwueke et *al.* 2008). Ils ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820, dans le *Coumarouna odorata*. Aujourd'hui, les composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes (Onwukaema et *al.* 1999; El-Mahmood et *al.* 2008).

Les coumarines dérivent de cyclisation interne de la chaîne latérale (Figure 3) (Macheix et *al.* 2005).



**Figure 3 :** Structure de base des coumarines (Ali Abdessemeud, 2015).

### II.2.3. Tannins

Ce sont des substances d'origine organique que l'on trouve dans pratiquement toutes les plantes, ils sont caractérisés par leur astringence (Joslyne et Goldstein, 1964), ils dérivent de l'acide gallique et d'autres acides poly-phénoliques, leur structure chimique est très variable mais comporte toujours une partie poly-phénolique (Bruneton, 1999).

Ils se retrouvent dans différents organes chez les végétaux, surtout dans les racines et les rhizomes, dans l'écorce, dans le bois et les feuilles, dans les fleurs (rose rouge) et dans les graines (Mansour, 2017).

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux autres composés digestifs, réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Alkurd, 2008).

### ➤ Tanins galliques

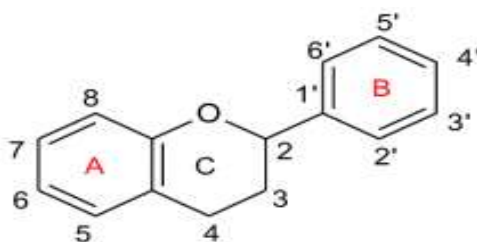
Le tanin gallique appartient à la classe des tannins hydrolysables. Subissent facilement une hydrolyse acide et basique ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (Vermerris et Nicholson, 2006), en donnant des oses et de l'acide gallique.

## II.2.4. Flavonoïdes

Le nom flavonoïdes provenant du terme flavodo, il désigne la couche externe des écorces d'orange, ce sont des composés phénoliques secondaires caractérisés par le noyau flavan. Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés à ce jour. Ces composés offrent chez les plantes une protection contre le rayonnement ultraviolet, les pathogènes et les herbivores (Harborne et al. 2000)

Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (Guignard, 1996). Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels poly phénoliques (Stöckigt et al. 2002).

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques qui sont reliés entre eux par une chaîne de trois carbones en formant ainsi un hétérocycle (Figure 4) (W-Erdman et al. 2007).



**Figure 4 :** Structure de base des flavonoïdes (Mansour, 2017).

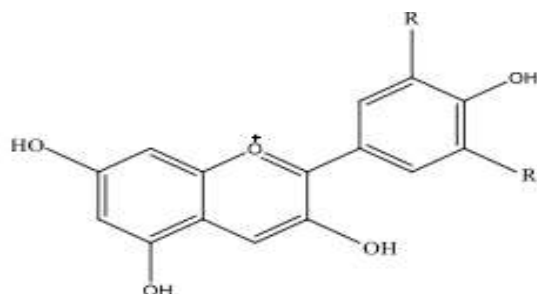
### II.2.5. Térpenoïdes et stéroïdes

Les terpènes constituent un groupe important des produits naturels, comprenant environ 30000 composés (Breitmaier, 2006). Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes (lipides à 30 atomes de carbones) (Gómez et al. 2006).

Ils sont décrits comme des composés qui sont essentiellement des constituants d'une huile essentielle et qui contiennent des atomes de carbone et d'hydrogène avec ou sans oxygène. Ils ont reçu un intérêt considérable pour l'administration dermique et transdermique de médicaments ayant un large éventail de propriétés physico-chimiques (Pandit et al. 2015).

### II.2.6. Anthocyanes

Les anthocyanines faisant partie de la famille des flavonoïdes, sont des pigments rouges en milieu acide, virant au bleu en milieu alcalin ; ils sont très répandus dans les fleurs et les fruits, se trouvent également dans les tiges et les graines. Les anthocyanes sont des dérivés de cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium), porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de lumière visible. Dans la nature, ces pigments n'existent pas sous forme aglycone, mais sous forme d'hétérosides. Les sucres sont liés au chromophore en position 3, mais aussi en position 5 et plus rarement en position 7 (Figure 5) (Brouillard, 1986).



**Figure 5 :** Structure de base des anthocyanes (Mansour, 2017).

### II.2.7. Glucosides

Les glucosides sont des analogues d'hydrates de carbone résultant de la condensation d'oses et de substances non glucidiques aglycones (Mbarek, 2011). Les glucosides sont des molécules constituées d'une fonction glucidique associée à divers autres types de molécules. Beaucoup de plantes stockent ces glucosides sous une forme inactive. Ces molécules sont constituées de 2 parties distinctes : le glycone, qui correspond au groupement glucidique (constitué d'une ou plusieurs fonctions glucidiques), et l'aglycone, qui est la partie non

glucidique de la molécule. Les glucosides peuvent être classés selon la fonction chimique de la partie aglycone (Calatayud et *al.* 2013).

### II.2.8. Saponines

Les saponines sont des composés moussants une fois agités avec de l'eau. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. Fondamentalement, on distingue les saponines stéroïdiennes et les saponines tri-terpéniques (Manach et *al.* 2004).

### II.2.9. Quinones

Les quinones sont des composés organiques indispensables dans les organismes vivants, elles sont mises en jeu dans la chaîne respiratoire cellulaire pour le transport d'électrons (Monks et *al.* 1992).

Ce sont des substances colorées et brillantes, en générale rouges, jaune ou orange et possèdent deux fonctions cétones (Kansol, 2009).

## II.3. Propriétés pharmacologique des polyphénols

Les polyphénols sont reconnus par leurs activités biologiques qui comprennent des activités antimicrobiennes anticancérigènes, anti - inflammatoires et antioxydants (Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999).

Les acides phénols, dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique ont des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti-radicalaire, hépato-protectrices, cholérétique et immunostimulantes (Bruneton, 1999).

Les coumarines sont connues pour leurs propriétés anti-œdémateuses (Fugioka et *al.* 1999), anti inflammatoires et analgésiques (Chen et *al.* 1995; Garcia-Agaez et *al.* 2000), de plus ils ont une action contre les troubles gastriques (Resh et *al.* 1998), les maladies virales (Yorshikawa et *al.* 1994) et microbiennes (Kaysre et kolodazziej, 1997).

Les tannins favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, ils tonifient la peau dans le cas des rides, en plus de leur propriété de précipiter les protéines (fongique ou virales) (kansol, 2009).

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent de forte propriété anti-oxydant (Rice-Evans et *al.* 1995; Van Acker et *al.* 1996), ils sont des inhibiteurs d'enzymes responsables de la production de radicaux (Landolfi et *al.* 1984; Cos et *al.* 1998), de même des effet

antiallergiques (Singh et *al.* 2012), anti-inflammatoires (Landolfi et *al.* 1984), antiulcéreux (Izzo, 1996; Di Carlo et *al.*1999), antitumoraux (Bracke et *al.* 1991; Larocca et *al.* 1994) et antimicrobiens (Recio et *al.* 1989; Cowan, 1999).

# *Chapitre III*

## *Biofilm et activité antibactérienne*

### III.1. Définition de biofilm

Le biofilm est une communauté de microorganismes structurée de cellules enrobées dans une matrice extracellulaire hydratée, riche en polymères extracellulaires, et en contact avec une surface (Lebeaux et Ghigo, 2012 ; Yong *et al.* 2019).

Costerton *et al.* (1999) ont proposé une définition de base du biofilm comme : « une communauté structurée de cellules bactériennes enfermées dans une matrice polymérique autoproduite et adhérentes à une surface inerte ou vivante ». Les composants de la matrice peuvent être des exo polysaccharides, des protéines, des acides nucléiques ou d'autres substances (appelées substances extra polymériques) censées fournir aux cellules de nombreux avantages par rapport aux cellules planctoniques (Balaban *et al.* 2008).

La matrice assure la stabilité structurelle et la protection du biofilm. Presque tous les microorganismes, y compris plus de 90% des bactéries, peuvent former un biofilm (Al-Shuneigat *et al.* 2014). Bien que bénéfiques dans la plupart des environnements, les biofilms bactériens se développent sur des implants ou lors d'infections chroniques constituent des réservoirs de pathogènes à l'origine de nombreuses infections nosocomiales. Malgré la mise en œuvre des mesures préventives, les biofilms sont difficiles à éradiquer en raison de leur tolérance caractéristique à des doses élevées d'antibiotiques (Lebeaux et Ghigo, 2012).

### III.2. Propriété commune à tous les biofilms

Tous les biofilms sont caractérisés par (Goller et Romeo, 2008) :

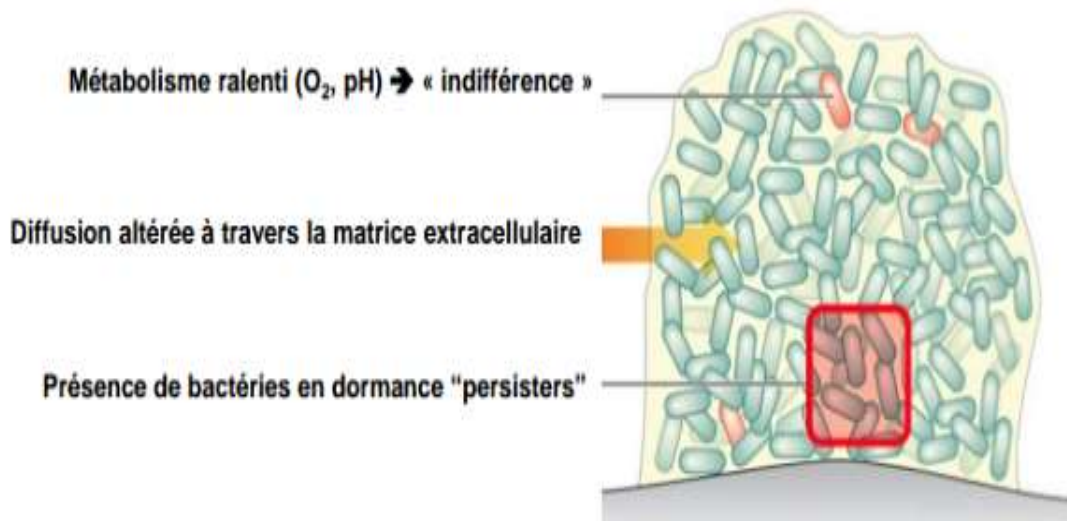
- ✓ Les cellules constituant un biofilm sont reliées entre elle par une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, protéines, acide nucléique, des débris cellulaires.
- ✓ Le développement d'un biofilm est sous l'influence des signaux extracellulaires et cellulaires (le quorum sensing).
- ✓ Le biofilm protège les bactéries qui le constitué de l'action des agents antimicrobiens et des défenses immunitaires de l'hôte et d'éventuel prédateur.

### III.3. Résistance des biofilms aux agents antimicrobiens

Les bactéries d'un biofilm sont généralement moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants que ces mêmes bactéries sous forme planctonique. En fait, les bactéries d'un biofilm peuvent être de 10 à 1000 fois plus résistantes aux agents antimicrobiens (Tremblay *et al.* 2014), ainsi à la réponse immunitaire de l'hôte ; cette persistance se présente dans

l'efficacité de la phagocytose qui diminue en présence d'un biofilm (Allison et *al.* 2018). La résistance des biofilms est liée aux :

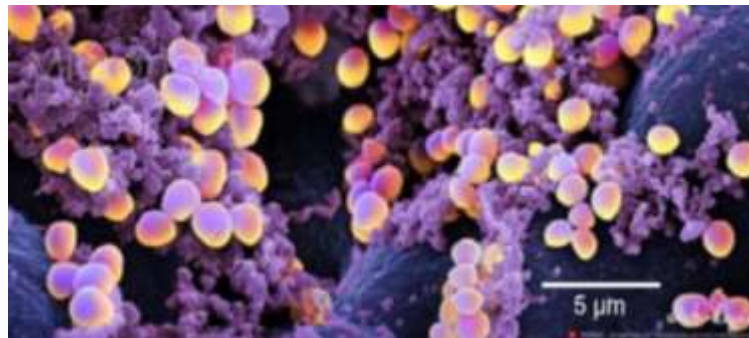
- Métabolisme des bactéries d'un biofilm. Étant donné la faible concentration de certains nutriments, certaines cellules du biofilm seront peu actives métaboliquement et pourront même être sous forme dormante ; ces cellules bactériennes dormantes sont d'ailleurs probablement responsables d'une grande partie de la tolérance associée aux biofilms (Tremblay et *al.* 2014).
- La proximité spatiale des bactéries au sein d'un biofilm mature favorise probablement le transfert horizontal des gènes et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques (Tremblay et *al.* 2014).
- Propriétés physiologiques des microorganismes modifiées par les conditions de vie du biofilm comme : l'hétérogénéité et l'accès aux nutriments (Roux et Ghigo, 2006) et l'oxygène, puisqu'il y a des antibiotiques qui exigent sa présence pour qu'ils seront actifs (Zabinski et *al.* 1995).
- Modifications des propriétés phénotypiques de quelques gènes de résistance qui s'activent en basses concentrations d'oxygène (Drenkard, 2003).
- Propriétés pharmaceutiques des agents antimicrobiens altérées en présence du biofilm et la diminution de leur efficacité (Figure 6) (Utili, 2007).



**Figure 6 :** Synthèse sur les principaux mécanismes impliqués dans la résistance des biofilms aux antibiotiques (Lebeaux et *al.* 2014).

### III.4. Biofilm de *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (également désigné par *Staph. aureus* ou *S. aureus*) est une bactérie pathogène à Gram positif sans flagelle, pouvant croître en conditions aérobies ou anaérobies. C'est une espèce ubiquitaire : on la retrouve aussi bien dans le sol, dans l'eau que chez les animaux (Adams, 2009 ; Le Loir et Gautier, 2010 ; Schaumburg et al. 2015). Leur implication dans des infections chez l'homme a été mise en évidence en 1879 par Louis Pasteur dans des abcès et autres lésions cutanées. Ces maladies peuvent aller de simples infections de la peau et des tissus mous à des affections plus graves et potentiellement mortelles telles que les infections du sang (bactériémie/septicémie) (Kobayashi et al. 2015). En 1881, Alexander Ogston a décrit la première souche de l'espèce *S. aureus* appelée couramment staphylocoque doré en raison de la couleur des colonies bactériennes observées en milieu gélosé (Figure 7).



**Figure 7** : Observation au microscope électronique de *S. aureus* (X5000000)

(Zimmermann-Meisse, 2016).

*S. aureus* développe un biofilm pour ralentir ou empêcher la diffusion des médicaments antimicrobiens, empêchant ainsi l'accès des médicaments aux cellules résidant à l'intérieur du biofilm (Donlan, 2020). La formation de biofilm est provoquée par différents facteurs tels que la privation de nutriments, les changements de température (trop basse ou trop élevée) et la déshydratation (Fadeeva et al. 2016; Rizzato et al. 2019). Étant donné que le biofilm protège les cellules enfermées, *S. aureus* l'a donc adopté comme l'un de ses outils pour résister aux antibiotiques qui sont généralement bactéricides pour les cellules sous leur forme planctonique flottante (Ou et al. 2020).

#### III.4.1. Nature de la matrice extracellulaire

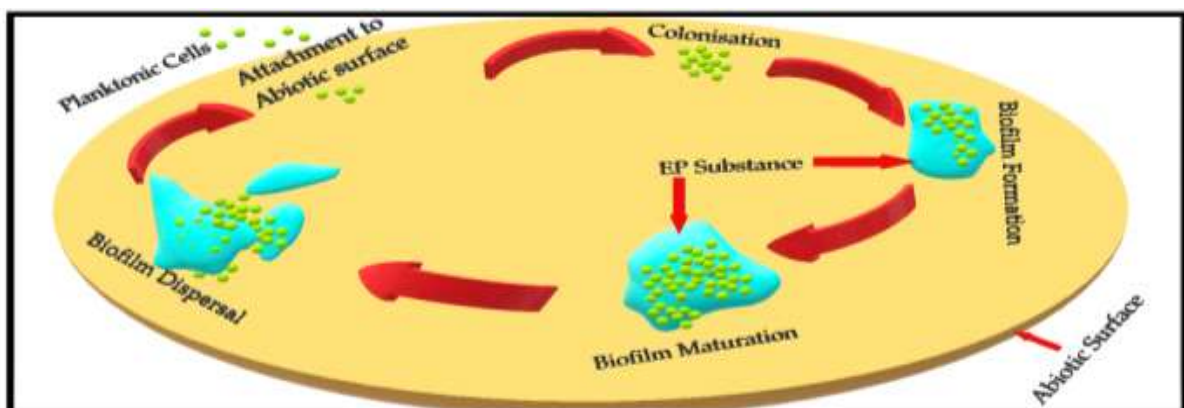
*Staphylococcus aureus* sécrète une substance polymère extracellulaire (EPS), connue sous le nom de biofilm, qui aide la bactérie à résister et à minimiser l'effet des médicaments

antibactériens (Kaplan *et al.* 2018). Semblable à tout autre biofilm bactérien, un biofilm de *Staphylococcus aureus* a également deux composants distincts, à savoir l'eau (environ 97%) et la matière organique qui comprend les EPS et les microcolonies. L'EPS constitue environ 50 à 90% de la matière organique totale d'un biofilm et est un complexe de différentes substances polymères, telles que l'ADN extracellulaire, les protéines et les polysaccharides. La partie restante, 10 à 25 %, est constituée de microcolonies (Donlan, 2002; Nazir *et al.* 2019; Idrees *et al.* 2020).

Dans le biofilm de *Staphylococcus aureus*, le composant majeur de l'EPS est un polysaccharide extracellulaire « poly- $\beta$  (1,6) -N-acétyl-D-glucosamine » (PNAG) également nommé PIA pour l'adhésine intercellulaire polysaccharidique. Ce PIA est synthétisé par des enzymes codées par l'opéron *ica* ADBC retrouvé dans la plupart des souches de *S. aureus* cliniques (Arciola *et al.* 2001 ; Fowler *et al.* 2001 ; Fitzpatrick *et al.* 2006 ; Tu Quoc *et al.* 2007; Reffuveille *et al.* 2020). (Figure 8) Ils jouent un rôle important dans la colonisation, la formation de biofilm et les infections liées au biofilm, l'évasion immunitaire, la résistance aux antimicrobiens et la phagocytose (Nguyen *et al.* 2020).

#### III.4.2. Formation de biofilm de *Staphylococcus aureus*

La formation du biofilm passe par quatre étapes différentes (Landini *et al.* 2010), qui sont : 1. Fixation des cellules planctoniques à la surface (soit un hôte biotique ou toute surface abiotique) ; 2. Colonisation et formation de biofilms ; 3. Maturation du biofilm ; 4. Dispersion du biofilm. Les différentes étapes impliquées dans la formation d'un biofilm bactérien sont décrites dans la (figure 9).



**Figure 9** : Représentation de la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* sur une surface abiotique (Paharik, 2016).

La formation de biofilm par *S. aureus* est initiée lorsque des cellules planctoniques flottant librement se fixent à la surface disponible et commencent sa colonisation (Petrova et Sauer, 2012). L'adhérence de *S. aureus* à une surface est influencée par les interactions hydrophobes et hydrophiles entre la surface cellulaire de *S. aureus* et toute surface biotique ou abiotique (Hamadi et al. 2005; Maikranz et al. 2020). Il a été constaté que la surface cellulaire de *S. aureus* adhère aux surfaces hydrophobes à l'aide de nombreuses macromolécules à liaison faible, tandis que son adhérence aux surfaces hydrophiles implique des macromolécules à liaison moins nombreuses mais plus fortes (Hamadi et al. 2005 ; Otto, 2008).

La formation de micro colonies est suivie par la formation d'une substance polymérique extracellulaire (EPS) qui se développe en un biofilm complètement mature (Landini et al. 2010).

Une fois que le biofilm est complètement mature, les cellules bactériennes qui y résident libèrent certains produits chimiques, c'est-à-dire des acides aminés D et des enzymes dégradant l'EPS comme l'alginate lyase, pour briser et disperser le biofilm (Kostakioti et al. 2013). Ces cellules planctoniques sont prêtes soit à recoloniser le même site, soit à se fixer sur un site différent et à répéter le processus pour former un nouveau biofilm (Figure 9) (Donalan, 2002).

Les cellules de *Staphylococcus aureus* qui sont enfermées et protégées par des biofilms présentent des caractères phénotypiques différents par rapport aux cellules sous leur forme planctonique. Les cellules de *S. aureus* associés au biofilm sont plus résistantes aux antibiotiques et présentent des différences de taille et de croissance cellulaire, d'expression génique et de production de protéines, par rapport à leurs homologues vivants libres (Otto, 2018).

### III.4.3. Quorum Sensing

De nombreux agents pathogènes microbiens communiquent via la production et la détection de molécules de signalisation auto-induites, appelées peptides auto-inducteurs, afin de contrôler l'expression des gènes spécifiques en réponse à la densité de population ; c'est ce qu'on appelle la détection du quorum.

Dans les staphylocoques, le système du quorum sensing est codé par le locus agr (régulateur des gènes accessoires), qui se compose des gènes agrA, agrC, agrD et agrB qui sont co-transcrits. Une fois que les peptides auto-inducteurs atteignent un niveau de seuil, les bactéries répondent en activant l'expression de séquences du gène spécifique dépendant de la

densité cellulaire. La plupart des produits staphylococciques sont sous le contrôle d'agr, qui est activé lors du passage de la phase de croissance exponentielle à la phase de croissance stationnaire (Yousif et *al.* 2015).

### **III.5. Activité antibactérienne**

Il est connu que le traitement de l'infection bactérienne se base principalement sur l'usage des antibiotiques, néanmoins la consommation à grande échelle de ces « médicaments » peut conduire à une multi résistance des souches, en plus de leur toxicité aiguë et leur danger potentiel pour l'environnement. À cet effet des végétaux ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales (Ali-Shtayeh et *al.* 1998; Rudramurthy et *al.* 2016).

Les extraits de diverses plantes restent un grand intérêt pour la valorisation des ressources naturelles, ils sont utilisés comme remèdes alternatifs dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses, ils peuvent aussi être utilisés comme moyens de conservation des aliments (Kelen et *al.* 2008).



*Partie*  
*Expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériel et méthodes*

### I.1. Cadre de l'étude

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques communs (I) d'analyse physicochimique et de microbiologie de département Biochimie - Microbiologie, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), durant la période du 01 mars 2023 au 27 avril 2023.

### I.2. Objectif de l'étude

L'objectif visé par notre étude expérimentale est de mettre en évidence les caractéristiques physicochimiques, phytochimiques, et l'activité antibactérienne et anti biofilm des graines de *Moringa oleifera*.

### I.3. Matériel

#### I.3.1. Matériel végétal

Les graines de *Moringa oleifera* ont été achetées auprès d'un herboriste situé au centre commercial Amyoude de la wilaya de Tizi-Ouzou.

#### I.3.2. Matériel biologique

Les bactéries utilisées dans la réalisation des activités biologiques, de l'extrait de *Moringa oleifera* sont citées dans le tableau ci- dessous.

**Tableau IV** : Souches bactériennes utilisées

| Souche utilisée              | Type                     | Aspect morphologique | Référence  |
|------------------------------|--------------------------|----------------------|------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Bactérie à Gram Positif  | Cocci en grappe      | ATCC 25923 |
| <i>Escherichia coli</i>      | Bactérie à Gram négative | Bacille              | ATCC 25922 |

## I.4. Méthodes

### I.4.1. Préparation de l'échantillon

Les graines de *Moringa oleifera*, sont couvertes d'une couche dure mais fine et facile à décortiquer à la main. Le concassage a été réalisé manuellement. Par la suite séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 48 heures. Les graines séchées sont ensuite broyées à 2 reprises l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est tamisée et conservée, à l'abri de la lumière, dans des flacons en verre pour les analyses ultérieures (Figure 10).



**Figure 10** : Etapes suivies pour obtenir la poudre des graines de *Moringa oleifera* ; (A) : Graines de *M. oleifera* ; (B) : Graines décortiquées de *M. oleifera* ; (C) : Poudre des graines de *M. oleifera* après broyage ; (D) : Poudre des graines de *M. oleifera* après tamisage.

## I.5. Analyses physicochimiques de la poudre des graines de *Moringa oleifera*

### I.5.1. Détermination de la teneur en eau (Humidité) (AFNOR, 1986)

#### Principe

La teneur en eau a été déterminée sur un échantillon de poudre des graines de *Moringa oleifera* qui sont introduites dans des capsules en porcelaine pour les faire subir un séchage

dans une étuve réglée à 105°C pendant 15 min. L'échantillon est pesé avec une balance de précision (0.001g). L'opération est répétée jusqu'à avoir un poids constant.

### Mode opératoire

La détermination de la teneur en eau a été réalisée de la manière suivante :

- 1- Peser les capsules en porcelaine avec 5g de l'échantillon dans chaque une ;
- 2- Noter le poids indiqué sur la balance pour chaque capsule et les placer dans l'étuve ;
- 3- Retirer les capsules de l'étuve, les déposés dans un dessiccateur afin d'éviter la réhydratation ;
- 4- Après refroidissement, elles sont pesées, l'opération est répétée pour le même échantillon jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

### Expression des résultats

La teneur en eau a été déterminée selon la formule ci- dessous :

$$H\% = \frac{M1 - M2}{M} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

**H** : Humidité (%)

**M1** : Masse de la capsule (vide) + la matière fraîche avant séchage (poudre) en g.

**M2** : Masse de l'ensemble après séchage en g.

**M** : Masse de la prise d'essai en g.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de la matière sèche a été calculé par la formule suivante

$$MS (\%) = 100 - H (\%) \quad \dots\dots\dots (2)$$

**Ms (%)** : taux de la matière sèche (%).

**H (%)** : taux d'humidité (%).

### IV.5.2. Mesure de pH (NF V 05-108, 1970)

#### Principe

La détermination du potentiel d'hydrogène (pH) par la méthode potentiométrique, a été réalisée à l'aide d'un pH mètre.

**Mode opératoire**

- 1- 02 grammes d'échantillon auquel est ajouté 15 ml d'eau distillée, agiter le mélange ;
- 2- Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ;
- 3- Prélever un volume V de l'échantillon pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- 4- Noter ensuite la valeur de pH.

**Remarque**

L'électrode est rincée avec l'eau distillée avant chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

**IV.5.3. Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101,1974)****Principe**

Le principe de cette méthode consiste en un titrage de l'acidité avec une solution de NaOH (0.1N) en présence de phénolphtaléine comme indicateur de couleur.

**Mode opératoire**

- 1- Peser 2.5g de la poudre ;
- 2- Placer l'échantillon dans un bécher, ensuite ajouter 25 ml d'eau distillée chaude, récemment bouillie et mélanger jusqu'à avoir un mélange homogène ;
- 3- Chauffer au bain-marie pendant 15 minutes ;
- 4- Après refroidissement, verser le contenu dans une fiole jaugée de 125 ml et compléter avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie ;
- 5- Homogénéiser puis filtrer avec une passoire puis un papier filtre ;
- 6- - Prélever un volume  $V_0 = 25$  ml auquel on ajoute 3 à 5 gouttes de la phénolphtaléine ;
- 7- Verser à l'aide d'une burette la solution NaOH (0.1 N) tout en agitant le contenu Jusqu'à apparition d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes ;
- 8- Le volume de NaOH ayant neutraliser la solution est déterminé en faisant la lecture sur la burette graduée.

**Expression des résultats**

La détermination de l'acidité titrable est en gramme d'acide citrique pour 100 g d'échantillon, elle est calculée selon la formule ci-dessous :

$$A (\%) = \frac{250 \times V_1 \times 100}{M \times V_0 \times 10} \times 0.07 \dots\dots\dots (3)$$

**A %** : Pourcentage d'acidité titrable.

**V0** : Volume de la prise d'essai, exprimé en ml.

**V1** : Volume de NaOH (0.1 N) versé, exprimé en millilitre.

**M** : La masse de l'échantillon à analyser en gramme.

**0.07** : Le facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent de l'acide citrique.

#### I.5.4. Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113,1972)

##### Principe

Chaque échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention des cendres de couleur blanchâtre ou grise de poids constant.

##### Mode opératoire

- 1- Peser 5 g de l'échantillon dans des capsules en porcelaine ;
- 2- Placer les capsules dans le four à moufle à 550 °C pendant 5 heures. La température est augmentée progressivement afin d'éviter une calcination violente de produit ;
- 3- Retirer les capsules et les mettre dans le dessiccateur ;
- 4- Après refroidissement, peser à l'aide d'une balance de précision (0.001g).

##### Expression des résultats

La matière organique est calculée par la formule ci-dessous :

$$\text{MO}\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100 \quad \dots\dots\dots (4)$$

**MO** : matière organique en g.

**M1** : masse de creuset + la prise d'essai en g.

**M2** : masse de creuset après incinération en g.

**P** : masse de la prise d'essai en g.

La détermination de la teneur en cendre est calculée comme suit :

$$\text{Tc} (\%) = 100 - \text{MO} (\%) \quad \dots\dots\dots (5)$$

**Tc (%)** : teneur en cendre (%).

**MO (%)** : matière organique (%).

#### I.5.5. Dosage des sucres

Pour ce dosage, on met en évidence trois catégories de sucres à savoir : les sucres totaux, les sucres réducteurs et le saccharose.

Avant de procéder aux différents dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes :

❖ **Filtrat (1)**

- 1- Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100 ml ;
- 2- Ajouter 2,5 ml d'acétate de zinc ;
- 3- Remplir jusqu'au 2/3 du volume de bécher avec l'eau distillée ;
- 4- Agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15 min ;
- 5- Ajuster avec d'eau distillée à 100 ml ;
- 6- Homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.

❖ **Filtrat (2)**

- 1- Prélever 25 ml du filtrat (1) et ajouter 2,5 ml d'HCl concentré ;
- 2- Chauffer le mélange au bain marie à 70°C pendant 5 min ;
- 3- Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphtaléine à 1%.

➤ **Dosage des sucres totaux**

**Mode opératoire**

- 1- Prélever 2,5ml de la solution Fehling A et 2,5 ml de la solution Fehling B ;
- 2- Ajuster jusqu'à 50 ml avec l'eau de robinet ;
- 3- Chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2 mn ;
- 4- Titrer par le filtrat (2) obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;
- 5- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée ;
- 6- Noter le volume de filtrat (2) V2.

**Expression des résultats**

La quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est estimée par la formule suivante :

$$ST = \frac{500}{V \times (V2 - 0,05)} \times 10 \quad \dots\dots\dots (6)$$

**ST** : quantité des sucres totaux (g/100ml).

**V** : volume de la prise d'essai.

**V2** : volume du filtrat (2) dépensé pour le titrage.

➤ **Dosage des sucres réducteurs**

**Mode opératoire**

- 1- Introduire 2,5 ml de la solution Fehling A et 2,5ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500 ml ;
- 2- Ajuster jusqu'à 50 ml avec l'eau de robinet ;
- 3- Chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2mn ;
- 4- Titrer par le filtrat (1) jusqu'à ce que la teinte bleue disparaisse ;
- 5- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique ;
- 6- Arrêter le titrage et noter le volume du filtrat (1) dépensé V1.

**Expression des résultats**

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$SR = \frac{240}{V \times (V1 - 0.05)} \dots\dots\dots (7)$$

**SR** : quantité des sucres réducteurs (g/100ml).

**V** : volume de la prise d'essai (ml).

**V1** : volume du filtrat (1) utilisé au titrage.

➤ **Taux de saccharose**

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0.95 \dots\dots\dots (8)$$

**S** : quantité de saccharose en g/l.

**S<sub>T</sub>** : quantité des sucres totaux en g/l.

**S<sub>R</sub>** : quantité des sucres réducteurs en g/l.

## I.6. Analyses phytochimiques de la poudre des graines de *Moringa oleifera*

Les différentes classes de métabolites secondaires issues de la poudre sont mis en évidence grâce aux méthodes standards du screening phytochimique (Dohou et *al.* 2003).

### I.6.1. Préparation de l'infusé

10 grammes de la poudre sont ajoutés à 50 ml d'eau distillée, ensuite le mélange est porté au bain marie pendant 15 min, après filtration, le filtrat est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. L'infusé obtenu est utilisé pour l'analyse phytochimique.

#### ❖ Anthocyanes

Dans un Erlenmeyer introduire 5 ml d'infusé, puis ajouter quelques gouttes d'HCl. La présence d'anthocyanes est indiquée par l'apparition d'une coloration rouge.

#### ❖ Tanins

5 ml d'infusé auquel on ajoute quelques gouttes de la solution FeCl<sub>3</sub> (5 %). La coloration bleu noir implique la présence des tanins.

#### ❖ Tanins galliques

Saturer le filtrat par l'acétate de Sodium (CH<sub>3</sub>COONa), ajouter par la suite quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub>. Une réaction positive donne une coloration bleu foncé.

#### ❖ Quinones libres

Ajouter 2 ml d'HCl (1N) à 2 g de poudre végétale, ensuite ajouter 20 ml de chloroforme et laisser reposer pendant 3 heures puis filtrer. 5 ml d'ammoniaque (1/2) sont ajoutés. La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge violette apparaît.

#### ❖ Saponosides

Prendre 2 tubes à essai fermés : On ajoute au premier tube 5 ml d'HCl (0.1N) et dans le deuxième 5 ml de NaOH (0.1 N).

Introduire dans chacun des tubes 2 à 3 gouttes d'infusé, puis agiter bien verticalement pendant quelques secondes et laisser reposer pendant 15 min. La présence des Saponosides est indiquée par l'apparition d'une mousse persistante. Il y a deux cas probables :

1<sup>er</sup> cas : si on obtient dans les deux tubes le même volume de mousse, cela indique la présence des Saponosides stéroïdiennes.

2<sup>ème</sup> cas : s'il y aura la formation d'une mousse plus grande par stabilité et par volume en milieu basique, cela indique la présence des saponines tri-terpéniques.

#### ❖ Glucosides

Quelques gouttes d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sont ajoutées à 2 g de poudre végétale. L'apparition d'une couleur rouge brique puis violette indique la présence des glucosides.

#### ❖ Flavonoïdes

Ajouter 5 ml d'HCl à 5 ml de l'infusé puis un copeau de magnésium (Mg) et 1 ml de l'alcool iso-butanol. La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge orangé apparaît.

#### ❖ Coumarines

2 ml de l'infusé auquel 3 ml de NaOH (10 %) sont ajoutés. L'apparition d'une coloration jaune indique une réaction positive.

#### ❖ Stéroïdes

Ajouter à 2,5 ml d'infusé, 2,5 ml de l'anhydride acétique, puis 2,5 ml de l'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. L'apparition d'une couleur verte indique la présence des stéroïdes.

### I.7. Préparation de l'Extrait sec de *M. oleifera*

#### Mode opératoire

10g de la poudre tamisée, est macéré dans 100 ml de l'eau distillée chaude pendant 24 h avec agitation, après filtration le filtrat obtenu est mise dans un cristalliseur à l'étuve à 40°C pendant 48 h, jusqu'à évaporation de l'eau. L'extrait sec est raclé et gardé dans un flacon en verre à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure.

Le rendement d'extraction est déterminé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{P1}{P2} \times 100$$

..... (9)

R % : Rendement d'extraction.

P1 : Poids de l'extrait après évaporation de solvant.

P2 : Poids de la poudre utilisée pour l'extraction.

### I.8. Dosage des composés phénoliques

Les polyphénols également dénommés composés phénoliques sont des métabolites secondaires très largement répandues dans le règne végétal (Xiuzhen et *al.* 2007). Ils sont très importants dans la contribution à la couleur et au goût des fruits et des végétaux. Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (Milane, 2004 ; Macheix et *al.* 2006).

#### Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu (FC) est un dosage colorimétrique couramment utilisé qui mesure la réduction du réactif par les composés phénoliques. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif FC et forment un complexe phosphotungstique/phospho-molybdène de couleur bleue, et l'absorption maximale dépend de la concentration des composés phénoliques. Le changement de couleur du jaune au bleu indique la réaction et la formation du complexe (Sharma et *al.* 2020).

L'acide gallique a été utilisé comme standard d'étalonnage pour déterminer la concentration en composés phénoliques en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue, et les valeurs sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g MS).

#### Mode opératoire

##### ❖ Préparation de l'échantillon

4mg de l'extrait sec précédemment préparé dans 1000  $\mu$ l d'eau distillée, ainsi que le standard (acide gallique) sont traités selon le diagramme cité ci-dessous, pour la détermination de la concentration en polyphénols des graines de *Moringa oleifera*.

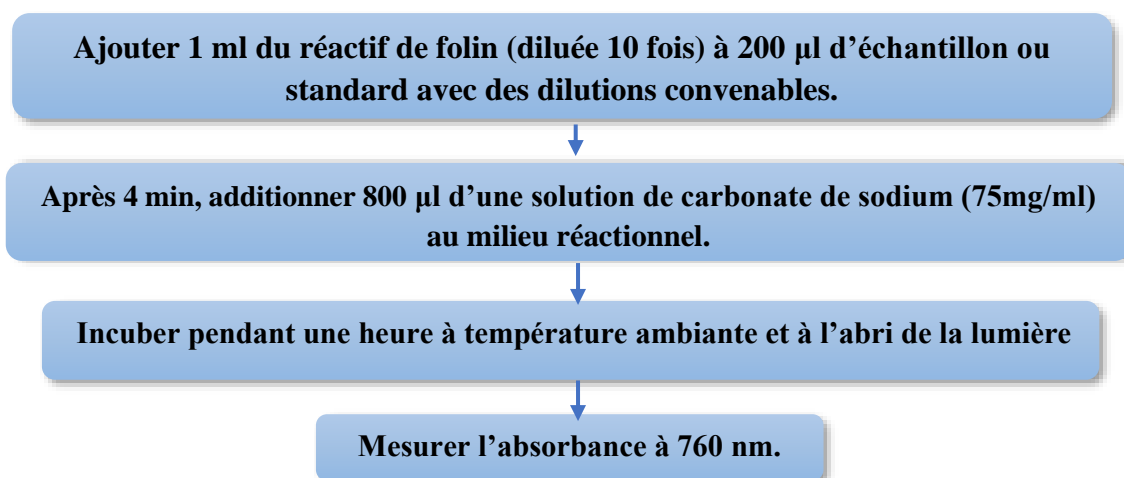


Figure 11 : Diagramme du dosage des polyphénols totaux (Talbi et *al.* 2015).

## **I.9. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des graines de *M. oleifera***

### **I.9. 1. Sélection des souches formatrices de biofilm**

Dans le but de détecter les souches formatrices de biofilm, la méthode de l'ensemencement sur la gélose de Rouge Congo Agar (RCA) a été utilisée.

#### **Mode opératoire**

Chaque souche standardisée, est ensemencée séparément et aseptiquement par la méthode de quatre quadrants en surface sur une boîte du Rouge Congo, ensuite les boîtes sont placées dans l'étuve à 37 °C pendant 24 h.

Les bactéries formatrices de biofilm apparaissent noires avec une surface rugueuse et un cristallin de consistance sèche où le colorant Rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime contrairement aux colonies non formatrices qui restent rouges avec une surface lisse. (Freeman et al. 1989; Ziebuhr et al. 2001).

### **I.9.2. Évaluation de l'Activité antimicrobienne et anti biofilm**

Le but de cette évaluation consiste à tester la sensibilité des souches étudiées (*Staphylococcus aureus* ; *Escherichia Coli*) à l'extrait de la poudre des graines de *Moringa oleifera* et à l'antibiotique utilisé, ainsi l'activité Anti biofilm et antibactérienne ont été évaluée sur l'extrait aqueux pur (brut) et sur l'extrait aqueux dilué à 1/2.

#### **Méthode de diffusion en milieu gélosé**

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (milieu Mueller- Hinton) pour l'activité antibactérienne et (milieu Rouge Congo) pour l'activité anti biofilm. La composition des deux milieux est présentée dans l'annexe (5) De ce fait, chacun des disques de papier Wattman stérile de diamètre 6 mm est imprégné par 10 µl de chaque extrait (extrait pur et dilué à 1/2) et placé à la surface du milieu de la boîte de Pétri en présence des disques imbibés par une solution aqueuse (témoins négatifs). Des disques de Gentamicine commercialisée comme témoins positifs, qui ont été pris comme anti biofilm et antibactérien pour les témoins positifs. Les boîtes ont été ensuite incubées 2 heures à 4°C puis à 37°C pendant 24 heures.

#### **➤ Préparation de la suspension bactérienne**

A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever quelques colonies bien isolées, ont été prélevées et mise dans 10 ml d'eau physiologique stérile et bien homogénéiser. La lecture des densités

optiques des suspensions bactériennes (entre 0,08 et 0,1) a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm.

➤ **Ensemencement des souches**

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Recharger l'écouvillon dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque de papier Wattman stérile, le déposer sur la gélose et l'imbiber avec 10µl de l'extrait à tester. Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser 2 heures à 4C°, puis mises à l'étuve à 37°C, pendant 24h, L'expérience est répétée trois fois pour chaque bactérie.

L'évaluation de l'activité antibactérienne et anti biofilm a été appréciée par la mesure des diamètres des zones claires (en millimètres) qui se forment autour des disques. Le diamètre de ces zones d'inhibition inclut le diamètre du disque (Tableau V).

**Tableau V** : Évaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition (Ponce et *al.* 2003).

| Diamètre d'inhibition | Signe | Observations                  |
|-----------------------|-------|-------------------------------|
| Ø < 8 mm              | (-)   | Bactérie non sensible         |
| 8 à 14 mm             | (+)   | Bactérie sensible             |
| 15 à 20 mm            | (++)  | Bactérie très sensible        |
| Ø > 20 mm             | (+++) | Bactérie extrêmement sensible |

*Chapitre II*  
*Résultats et discussion*

### II.1. Résultats des analyses physico-chimiques des graines de *Moringa oleifera*

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques des graines de notre plante sont résumés dans le (Tableau VI), Il est présenté sous forme de moyenne de trois essais  $\pm$  l'écart-type (ET).

**Tableau VI** : Paramètres physico-chimiques des graines de la plante étudiée.

| Paramètres                       | Teneurs moyennes $\pm$ (ET) |
|----------------------------------|-----------------------------|
| Taux d'humidité (%)              | 5,84 $\pm$ 0,19             |
| Matière sèche (%)                | 94,16 $\pm$ 0,19            |
| Acidité titrable (%)             | 3,5 $\pm$ 0,98              |
| Teneur en cendre (%)             | 4,03 $\pm$ 0,07             |
| Matière organique (%)            | 95,97 $\pm$ 0,07            |
| pH                               | 6,66 $\pm$ 0,15             |
| Taux des sucres totaux (g/l)     | 3,77 $\pm$ 00               |
| Taux des sucres réducteurs (g/l) | 0,33 $\pm$ 00               |
| Taux de saccharose (g/l)         | 3,26 $\pm$ 00               |

D'après Les résultats présentés dans le tableau (VI), il a été démontré que, la valeur de pH enregistrée est légèrement acide et proche vers la neutralité avec une valeur de (6,66  $\pm$  0,15%) par contre le taux de matière sèche est relativement très élevé (94,16  $\pm$  0,19). Les graines sont très riches en matière organique (95,97  $\pm$  0,07%), mais leurs teneurs en sucres sont très faibles.

La poudre des graines séchées présente une teneur en humidité plus au moins élevée (5,48  $\pm$  0,19%). Le résultat obtenu est inférieur à celui obtenu par Leone (2016) sur les graines de *Moringa oleifera*, qui a enregistré une valeur de (7,0%). Le pourcentage moyen en cendre est de (4,03  $\pm$  0,07%). Ce résultat avoisine celui obtenu pour la même espèce dans l'étude de Yehe et Gbassi (2019), qui est de l'ordre de (3,32  $\pm$  0,19%).

### II.2. Résultats des analyses phytochimiques de la poudre des graines de *Moringa oleifera*

L'analyse phytochimique des graines de *Moringa oleifera* est une étape très importante, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques. Les résultats de cette analyse sont portés dans le tableau suivant et l'annexe (3)

**Tableau VII :** Résultats des analyses phytochimiques effectués sur la poudre des graines de *M. oleifera*

| Métabolites secondaires | Couleur ou caractère  | Quantité dans les graines |
|-------------------------|---|---------------------------|
| Anthocyanes             | Rouge   | ++                        |
| Tanins                  | Bleu-noir   | -                         |
| Tanins galliques        | Bleu foncé  | -                         |
| Quinones libres         | Rouge violet  | -                         |
| Saponosides             | Saponines stéroïdiennes :<br>même volume<br>Saponines tri-terpéniques :<br>Milieu Basique > | +                         |
| Glucosides              | Rouge brique  | +++                       |
| Flavonoïdes             | Rouge orangé  | -                         |
| Coumarines              | Jaune   | -                         |
| Stéroïdes               | Vert  | +++                       |

Soit : (-) : négatif ; (+) : faiblement positif ; (++) : Positif ; (+++) : Fortement positif.

D'après ce tableau, Les résultats d'analyse phytochimique montrent que, la poudre des graines de *Moringa oleifera* est très riche en glucosides et de stéroïdes ainsi que de saponosides, anthocyanes, mais avec des proportions différentes. Cette richesse en métabolites secondaires leur accorde des propriétés pharmacologiques très importantes d'où leur utilisation en médecine traditionnelle. Tandis que, les tests réalisés pour la révélation des flavonoïdes, tanins, tanins galliques et des quinones libres ont montré des résultats négatifs (Annexe 3).

Le screening phytochimique effectué par Chigurupati et *al* (2022), sur les feuilles de *Moringa oleifera*, a révélé la présence de métabolites secondaires tels que les Saponines, Flavonoïdes, Tannin, Glycosides Phénols.

De même, les résultats signalés par Owusu-Ansah et *al* (2023), sur les extraits des feuilles de *Moringa* ont noté la présence de nombreux métabolites secondaires Alcaloïdes, Saponines, Tannins. Et ont noté l'absence des flavonoïdes et des glucosides.

Dans le même contexte, les résultats de l'étude de Saka Konmy et *al* (2020), réalisée sur le même espèce, de nombreux métabolites secondaires tels que alcaloïdes, anthracéniques, saponosides, coumarines, dérivés quinoniques, flavonoïdes, tanins et tanins gallique. Ces résultats semblent intéressants affirment la richesse des espèces de ce genre en divers métabolites secondaires.

En effet, la composition chimique et le rendement varient suivant diverses conditions de l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique et la période de récolte (Svoboda et Hampson, 1999).

### II.3. Rendement en extrait sec

L'extraction des composés phénoliques à partir des graines de *Moringa oleifera* a été effectuée en utilisant un solvant qu'il s'agit de l'eau distillée. Les rendements en extrait sec obtenus sont cités dans le tableau ci-dessous :

**Tableau VIII** : Rendement en extrait sec de la poudre des graines de *Moringa oleifera*

| Poids de l'extrait après évaporation (g) | Rendement (%) |
|--|---------------|
| 2,5                                      | 25            |

Les travaux d'Abubakar et *al* (2016) sur l'extrait éthanolique des différentes parties de l'espèce *Moringa oleifera*, ont montrés des rendements inférieurs (4,8 à 6,7%) de celui obtenu dans cette étude (25%).

Peu de différences entre le rendement enregistré et celui d'autres études, cela peut être dû à la nature du solvant utilisé et la méthode d'extraction, l'origine géographique du matériel végétal, degré de maturité, conditions biologiques au moment de la récolte et aux méthodes de stockage de la plante (Khelifa et *al*. 2018; Michel et *al*. 2012).

#### II.4. Résultats de dosage des Polyphénols totaux

Le taux de polyphénols totaux de l'extrait aqueux (Tableau IX) est déterminé à partir des équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage, sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Les valeurs sont données sous la forme de moyenne de 3 essais  $\pm$  ET.

**Tableau IX** : Résultats du dosage des PPT d'extrait aqueux des graines séchées.

| Nature de l'extrait | Nature de l'extrait Teneur en polyphénols (mg EAG/gMS) |
|---------------------|--|
| Extrait aqueux      | 43,212 $\pm$ 0,564                                     |

Selon le tableau, les valeurs obtenus sont inférieures à celles enregistrées par Sharma et *al* (2020) (69,73  $\pm$  5,75 mgEAG/g) mais similaires de ceux obtenus par Xinzhe et *al* (2020) qui ont obtenus des teneurs en polyphénols totaux comprises entre 37.07 et 40.75 mgEAG/g.

Plusieurs facteurs peuvent influencer les teneurs en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (facteurs géographique et climatiques) (Generalic et *al.* 2012), facteurs génétiques, mais aussi le degré de maturation de la plante et la période de stockage, ont une forte influence sur les composés phénoliques (Benhouda et *al.* 2014).

#### II.5. Résultats de l'Activité antibactérienne des extraits aqueux des graines de *M. oleifera*

Les résultats de cette analyse sont portés dans le tableau suivant et l'annexe (7).

**Tableau X** : Diamètres des zones d'inhibition de l'activité antibactérien sur les deux souches étudiées.

| Souche étudiée<br>Extrait testé       | Diamètres des zones d'inhibition en (mm) |  |
|---------------------------------------|--|--|
|                                       | <i>Escherichia coli</i><br>(ATCC 25922)  | <i>Staphylococcus aureus</i><br>(ATCC 25923) |
| Extrait aqueux brute                  | 9  | 20   |
|                                       | (+) sensible                             | (++) très sensible                           |
| Extrait aqueux diluée ½               | 8  | 14   |
|                                       | (+) sensible                             | (+) sensible                                 |
| Témoin négatif (eau distillé stérile) | 6  | 6  |
|                                       | (-) non sensible                         | (-) non sensible                             |

|   |                            |                            |
|---|----------------------------|----------------------------|
| Témoin positif disque<br>d'antibiotique Gentamicine | 35                         | 38                         |
|   | (+++) extrêmement sensible | (+++) extrêmement sensible |

D'après les résultats de l'antibiogramme tableau (X), les deux souches bactériennes sont extrêmement sensibles à la Gentamicine avec un diamètre de 35 mm pour *E. coli* (25922) et 38 mm pour *S. aureus* (ATCC 25923).

Il ressort de ce tableau que, l'extrait aqueux brute des graines l'espèce *Moringa oleifera* a exhibé une activité importante vis-à-vis *S. aureus* avec un diamètre de 20 mm, suivi de l'extrait dilué avec un diamètre de 14 mm, l'extrait aqueux brut et l'extrait dilué ont montré une inhibition modérée vis-à-vis *E. coli* avec une zone de 9 mm et 8 mm respectivement.

Ces résultats sont proches de ceux acquis par l'étude de Dewangan et al (2010) sur l'écorce de racine de même genre de *Moringa oleifera* sur différentes bactéries, dans lesquels l'analyse a montré des diamètres d'inhibition comme suit : l'extrait éthanolique (9,66±0,33) et l'extrait aqueux (8,33±0,33) vis-à-vis d'*E.coli*, et (15,66±0.33) et (8.33±0.66) pour l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux respectivement sur *S. aureus*.

Abdulmoneim et Abu Zaid (2011), ont travaillé sur l'activité antibactérienne des extraits des graines de *Moringa oleifera* sur différents groupes de microorganismes, les résultats des diamètres d'inhibition obtenus sont de (32±0.11), (45±1.12), (46±0.45), (48±0.31) sur *S. aureus*, et (18±1.96), (20±0.21), (22±0.89), (22±0.10) sur *E. coli* avec des concentrations de l'extrait aqueux : 5, 10, 20 et 40 respectivement. Ces résultats sont supérieurs aux résultats obtenus dans cette étude.

## II .6. Résultats de la sélection des souches formatrices des biofilms

Les résultats de cette analyse sont portés dans le tableau suivant et l'annexe (8)

**Tableau XI** : Formation des biofilms sur milieu RCA

| Souche étudiée       | <i>Escherichia coli</i><br>(ATCC 25922) | <i>Staphylococcus aureus</i><br>(ATCC 25923) |
|----------------------|---|--|
| Aspect morphologique | Colonies rouges avec une surface lisse  | Colonies noires avec une surface rugueuse    |
| Interprétation       | Non formatrice de biofilm               | Formatrice de biofilm                        |

Selon les résultats présentés dans ce tableau, il a été constaté que seule *Staphylococcus aureus* est formatrice du biofilm, ses colonies sont noires avec une surface rugueuse, tandis que *Escherichia coli* est non formatrice de biofilm et se présente par des colonies rouges avec une surface lisse.

### II.7. Résultats de l'Activité anti biofilm des extraits aqueux des graines de *M. oleifera*

Les résultats de cette analyse sont portés dans le tableau suivant et l'annexe (9).

**Tableau XII :** Diamètres des zones d'inhibition de l'activité anti biofilm sur *Staphylococcus aureus*.

| Souche formatrice de Biofilm<br>Extrait testé      | Diamètres des zones d'inhibition en (mm)     |
|--|--|
|  | <i>Staphylococcus aureus</i><br>(ATCC 25923) |
| Extrait aqueux pure                                | 23   |
|  | (+++) extrêmement sensible                   |
| Extrait aqueux diluée ½                            | 19   |
|  | (++) très sensible                           |
| Témoin négatif (eau distillée stérile)             | 6  |
|  | (-) non sensible                             |
| Témoin positif (disque d'antibiotique gentamicine) | 28   |
|  | (+++) extrêmement sensible                   |

**Remarque :** le diamètre des disques (6 mm) est inclus dans les mesures.

Selon les résultats présentés dans le tableau XII, on constate que *S.aureus* ATCC25923 est extrêmement sensible à la Gentamicine avec un diamètre de 28 mm.

Les extraits aqueux (extrait pur et extrait dilué) des graines de *Moringa oleifera* ont exhibé un effet inhibiteur sur la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, avec des diamètres de zones d'inhibition de (23 mm et 19 mm) respectivement.

Aucune étude sur l'efficacité des extraits de *Moringa oleifera* contre les biofilms de *Staphylococcus aureus* sur gélose RC trouvées dans la littérature, les présents résultats ont donc été comparés à des études utilisant différentes méthodes avec des résultats enregistrés en pourcentages.

Ces résultats sont proches de ceux acquis par l'étude de Nacre-Eldin et *al* (2017) sur les extraits aqueux de feuille de *Moringa oleifera* contre les biofilms de *S.aureus* sur microplaque de titration, dans lesquels l'analyse a montré des pourcentages d'inhibition comme suit : (28,57%,13,97%,4,96%) pour différentes concentrations des extraits (60 mg/ml,40 mg/ml,20 mg/ml) respectivement.

L'étude de Lakshmana Prabu et *al* (2020) sur les extraits éthanoliques de feuille de *Moringa oleifera* contre le biofilm *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline par la méthode de coloration au cristal violet, ont montré des résultats proches à nos résultats avec un pourcentage d'inhibition de 34,86% pour une concentration de 1mg/ml et de 63,7% pour une concentration de 2mg/ml de l'extrait.

Ainsi que les résultats de Manilal et *al* (2020), travaillons sur l'efficacité de *Moringa stenopetala* vis-à-vis du biofilm de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, ont démontré que 100 µg/ml d'extrait éthanolique a permis l'inhibition 85% à 100% de biofilm.

*Conclusion et  
Perspectives*

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier sont riches en molécules bioactives, qui leur a donné leur valeur, notamment avec l'émergence de la résistance des biofilms et des bactéries aux antibiotiques et détergents, parmi ces plantes, *Moringa oleifera*, qui est une plante très utilisée pour ses vertus thérapeutiques. A cet effet, plusieurs analyses de caractérisations ont été réalisées sur ses graines à savoir : l'analyse physicochimique, le dosage des composés phénoliques, ainsi que les effets anti biofilm et antibactérien.

Les analyses phyto-chimiques révèlent que, les graines de *Moringa oleifera* sont riches en métabolites secondaires (polyphénols, stéroïdes, anthocyanes, glucosides, saponosides), reconnus pour leurs propriétés biologiques et thérapeutiques intéressantes. Par ailleurs, l'étude de l'activité antibactérienne montre que les extraits aqueux (brut et dilué ½) des graines de cette plante ont un grand effet contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et une action modérée sur *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des diamètres de zones d'inhibition (20 mm et 14 mm) et (9 mm 8 mm) respectivement

Ainsi. L'étude de l'activité anti biofilm montre que les extraits aqueux (brut et dilué ½) présentent un large spectre d'action vis-à-vis les biofilms formés par la souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec des zones d'inhibition (23 mm et 19 mm) respectivement.

L'objectif capital de cette étude était de valoriser la médecine traditionnelle de la plante *M. oleifera* ainsi d'apporter des arguments scientifiques sur son effet inhibiteur du biofilm et antibactériens qui peuvent être exploités dans l'industrie pharmaceutique et la médecine contemporaine.

La comparaison des résultats obtenus dans le présent travail aux résultats des études antérieures peut affirmer que l'extraction aqueuse par macération permet l'acquisition d'un meilleur rendement.

Afin d'approfondir ce travail de recherche, nous proposons les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant de travailler sur d'autres parties de la plante étudiée avec d'autres espèces bactériennes.
- De purifier et d'identifier les molécules responsables de l'activité anti biofilm et antibactériennes des graines de *M. oleifera*.
- Évaluation de l'activité biologique de cette plante par d'autres méthodes in vitro.
- Rechercher d'autres activités biologiques (antioxydant, etc.).

## *Références bibliographiques*

### A

**Aberra M., Workinesh T., 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.

**Abdulmoneim M.S., Abu Zaid I.E. (2011).** In vitro antimicrobial activity of *Moringa oleifera* L. seed extracts against different groups of microorganisms. *Applied science*5 (5):129-134.

**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): 28-33.

**Adams M. (2009).** Staphylococcus aureus and other pathogenic Gram-positive cocci. In *Foodborne Pathogens*; de Blackburn, C.W., McClure, P.J., Eds.; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; Elsevier: Cambridge, UK, pp. 802–819. ISBN 9781845693626.

**Adejumo O.E., Kolapo A.L., Folarin A.O. (2012).** *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) grown in Nigeria: in vitro anticycling activity on deoxygenated erythrocyte cells, *Journal. pharma. Bioall. Science.* pp. 118–122.

**AFNOR (1986).** Association Française de normalisation. Recueil de normes françaises des fruits et produits dérivés-AFNOR, 3 Ed., Paris.

**Agroconsult Haiti S. A. (2016).** Analyse des Potentialités de l'Exploitation du *Moringa* en Haïti. Rapport final. Banque de la république D'haiti (BRH).

**Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H. (2008).** Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 – 274.

**Ali Abdessemeud L. (2015).** Caractérisation et dosage de quelques métabolites secondaires de l'ortie brulante (*Urtia urens* L) et étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes. Mémoire de Magister, Université Blida 1. Algérie.

**Ali-shtayeh M.S., Yaghmour R.M-R., FAIDI Y.R., Salem K. Al-Nuri, M.A. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in medicine in the Palestinian area. *journal of ethnopharmacology.*60: 265-271.

**Al-Shuneigat J., Al-Sarayreh S., Al-Saraireh Y., Al-Tarawneh I., Al-Qudah M. and Albataineh E. (2014).** Effects of wild *Artemisia herba-alba* essential oil on biofilm forming bacteria. *Br J Pharm Res.*, 4(19):2273-2280.

**Amaglo N. K., Bennett R. N., Curto R. B. L., Rosa E. A., Turco V. L., Giuffrida A., Timpo G. M. (2010).** Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food Chemistry*, 122(4): 1047-1054.

**Anwar F., Latif S., Ashraf M., Gilani A. H. (2007).** *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(1): 17-25.

**Arciola C.R., Baldassarri L., Montanaro L. (2001).** Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter associated infections. *J Clin Microbiol* 39: 2151-2156.

**Ashfaq M., Basra S.M., Ashfaq U. (2012).** *Moringa*: A Miracle Plant for Agroforestry. *J. Agric. Soc. Sci.* 8: 115–1.

**Atakpama W., Kponor E. G. E., Kanda M., Dourma M., M'tékounm N. A. R. E., Batawila K., Akpagana K. (2014).** *Moringa oleifera* Lamarck (Moringaceae): une ressource phylogénétique à usage multiple. *Sciences de la vie, de la terre et agronomie*, 2(1).

### ℬ

**Balaban N., Ren D., Givskov M., Rasmussen T. B. (2008).** Introduction In Balaban N., *Control of biofilm infections by signal manipulation*, Ed. Springer, 06.

**Barth V.H., Habs M., Klute R., Muller S. Tucher B. (1982).** Trinkwasseraufbereitung mit samen von *Moringa oleifera* lam, *chem. Ztg* ,106(2):7-78.

**Benhouda A., Yahia M. (2014).** Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from *Hyosecyamus albus*' leaves in albinos' rats. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. ISSN,6(3):0975-1491.

**Boukandoul S., Casal S., Cruz R., Pinho C., & Zaidi F. (2017).** Algerian *Moringa oleifera* whole seeds and kernels oils: Characterization, oxidative stability, and antioxidant capacity. *European Journal of Lipide Science and Technology*, 119(10): 1600410.

**Bouque V. (1997).** Étude de la production des métabolites secondaires par des cultures in vitro de Psoralées (*Leguminosae*). Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine.200p.

**Bracke M., Vyncke B., Opdenakke R.G., Foidart J.M., Depestel G., Mareel M. (1991).** Effet of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro. Clin. Exp. Metastasis. 9: 13-25.

**Breitmaier P.D.E., (2006).** Terpènes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones. Lavoisier, Ed. Tec. & Doc., Weinheim, Germany.213p.

**Brouillard R. (1986).** Bull. Liaison groupe polyphénols. 13 :76-94.

**Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec et Doc, Paris, 3-119.

**Bruneton J., (1999).** Les tannins. Ed. Edition médicales internationales. Paris,369- 404p.

### C

**Caceres A., Cabrera O., Morales O., Mollinedo P., Mendia P. (1991).** Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. Journal of ethnopharmacology, 33(3): 213-216.

**Calatayud P. A., Marion–Poll F., Sauvion N., Thiery D. (2013).** Interaction insectes plantes. Ed. Quae. IRD. Marseille.749p. ISBN: 978709917449.

**Chen Y.F., Tsai H.Y., Wu T.S. (1995).** Anti-inflammatory and analgesic activities from the roots of *Angelica pubescens*. Planta Medica.61:2-8.

**Chigurupati S., Al-murikhy A, Almahmoud S.A., Almoshari Y., Saber Ahmed A., Vijayabalan S., Ghazi Felemban S., Palanimuthu V.R. (2022).** Molecular docking of phenolic compounds and screening of antioxidant and antidiabetic potential of *Moringa oleifera* ethanolic leaves extract from Qassim region, Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences 29 854–859. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.021>.

**Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van-Poel B., Pieter L., Vlietink A.J., Vanden Berghe D. (1998).** Structure activity relationship and classification of flavonoids inhibitors of xanthine oxydase and superoxide scavengers. J. Nat. Prod. 61: 71-76.

**Costa P.A. (2018).** Flor da *Moringa* melhora a digestão, faz bem para a pele: veja os 30 benefícios. *Moringa oleifera*. <https://www.moringa.blog.br/flor-da-moringa/>.

**Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 284: 1318-1322.

**Cowan MM. (1999).** Plants products as antimicrobial agent. *Clinical microbiology reviews*.pp.564-570.

### D

**Delaveau P., Boiteau P. (1980).** Huiles à intérêt pharmacologique cosmétologique et diététique. IV-Huiles de *Moringa oleifera* L.et de *M. drouhardii* J. *Plantes médicinales et phytothérapie*,1980, XIV,1,29-33.

**Dalen MB., Pam JS., Izang A., Ekele R. (2011).** *Science World Journal*. 4(4): 6-11.

**Dewangan G, Koley K.M, Vadlamudi V. P, Mishra A, Poddar A, Hirpurkar S.D. (2010)** Antibacterial activity of *Moringa Oleifera* (drumstick) root bark.

**Di-Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects a class of natural therapeutic drugs. *Review lifes Sci*. 65(4):337-353.

**Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc Gmira N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *thymelaea lythroides*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 142: 61-78.

**Donlan R.M. (2000).** Role of biofilms in antimicrobial resistance. *ASAIO J*. 46: S47–S52.

**Donlan R.M. (2002).** Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerg. Infect. Dis*. 8: 881–890.

**Drenkard E. (2003).** Antimicrobial resistance of *Pseudomoas aeruginosa* biofilms. *Microbes and Infection*. 5: 1213-1219.

### F

**Fadeeva E., Schlie-Wolter S., Chichkov B.N., Paasche G., Lenarz T. (2016).** Structuring of biomaterial surfaces with ultrashort pulsed laser radiation. In *Laser Surface Modification of Biomaterials: Techniques and Applications*; Elsevier Inc.: Amsterdam, the Netherlands, pp. 145–172, ISBN 9780081009420.

**Faizi S., Siddiqui B. S., Saleem R., Siddiqui S., Aftab K., Gilani A. U. H. (1994).** Isolation and structure elucidation of new nitrile and mustard oil glycosides from *Moringa oleifera* and their effect on blood pressure. *Journal of Natural Products*, 57(9): 1256-1261.

**Fernnell C.W., Lindsey K.L., McGaw L.J., et al., (2004).** Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacology screening and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. 94:205-217.

**Ferreira PMP., Farias DF., Olevera A.J. T., Carvalho A.F.FU. (2008).** *Moringa oleifera* : bioactives compounds and nutritional potential. *Revista de Nutrição*. 21(4): 431-437.

**Fuglie L.J. (2001).** Le *Moringa*: une arme dans la lutte contre la malnutrition, Church World Service, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest, 4p. Disponible sur <http://www.moringanews.org>.

**Fitzpatrick F., Humphreys H., O'Gara J.P. (2006).** Environmental regulation of biofilm development in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Hosp Infect*. 62, 120-122.

**Foidl N., Makkar H.P.S., et Becker K. (2001).** Potentiel de *Moringa Oleifera* en agriculture et dans l'industrie. Potentiel de développement des produits du *Moringa*. 29 octobre - 2 novembre 2001. Dar Salaam, Tanzanie.

**Fowler V.G., Jr., Fey P.D., Reller L.B., Chamis A.L., Corey G.R., Rupp M.E. (2001).** The intercellular adhesin locus *ica* is present in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from bacteremic patients with infected and uninfected prosthetic joints. *Medical microbiology and immunology* 189: 127-131.

**Freeman D. J., Falkiner F. R., Keane C. T. (1989).** New method for detecting slime production by Coagulase-Negative Staphylococci. *J Clin Pathol.*, 42: 872-874.

### G

**Generalic I., Skroza D., Surjaka J., Mozinab S.S., Ljubenkovic I., Katalinic A., Simate V. Katalinic V. (2012).** Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9: 441-456.

**Goller C.C., Romeo T. (2008).** Environmental influences on biofilm development. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 322: 37- 66.

**Gracia-Agaez A.N., Apam T.O.R., Delgado H.P., Velazquez G., Maitez-vasquez M. (2000).** Anti-inflammatory activity of coumarins from *Decatropis bicolor* on TPA ear mice model. *Planta Medica*. 66:279-281.

**Guignard J.L. (1996).** Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.

### *H*

**Hoffmann L. R., D'Argenoi D. A., Maccoss MJ., Zhang Z., Jones RA., Miler SI. (2005).** Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation, *Nature*.436 :11771-1175.

**Hamadi F., Latrache H., Mabrouki M., Elghmari A., Outzourhit A., Ellouali M., Chtaini A. (2005).** Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass. *J. Adhes. Sci. Technol.* 19: 73–85.

**Harborne J. B. (1998).** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis.3rd ed. CHAPMAN and HALL. Britanie. 294p.

**Harborne J.B., Williams C.A. (2000).** *Phytochimie*, 55: 481-504.

**Houndji B.V.S., Ouetchehou R., Londji S.B.M., Eamouzou K.S.S., Yehouenou B., Ahohuendo C.B. (2013).** Caractérisations microbiologiques et physico-chimiques de la poudre de feuilles de *Moringa oleifera* (Lam.), un légume feuille traditionnel au Bénin. *International journal of Biological and chemical sciences (Int. J. Biol. Chem. Sci)*. 7(1): 75-85.

### *I*

**Idrees M., Mohammad A.R., Karodia N., Rahman A. (2020).** Multimodal Role of Amino Acids in Microbial Control and Drug Development. *Antibiotics*, 9, 330.

**Iwueke A.V., Nwodo O. F.C. (2008).** Antihyperglycemic effect of aqueous extract of *Daniella oliveri* and *Sarcocephalus latifolius* roots on key carbohydrate metabolic enzymes and glycogen in experimental diabetes. *Biokemistri* 20: 63 - 70.

**Izzo A. (1996).** PAF and the digestive tract. *J. pharm. Pharmacol.* 48: 1103-1111.

### *J*

**Joslyne M.A., Goldstein J.L. (1964).** Astringency of fruits and fruit products in relation to phenolic content. *Adv.Food.Res.*vol.13:179-217.

### *K*

**Kansol M.M.R. (2009).** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoshlundia oppssta* vahl et *Orthosiphon pallidus* royale ex benth. Mémoire (DEA) en sciences biologiques.

**Kaplan J.B., Mlynek K.D., Hettiarachchi H., Alamneh Y.A., Biggemann L., Zurawski D.V, Black C.C., Bane C.E., Kim R.K., Granick M.S. (2018).** Extracellular polymeric substance (EPS)-degrading enzymes reduce staphylococcal surface attachment and biocide resistance on pig skin in vivo. PLoS ONE, 13, e0205526.

**Kaysre O., Kolodziej H. (1997).** Antibacterial activity of extract and constituents of *Pelargonium sedoides* and *Pelargonium reniforme*. Planta Medica. Vol. 63(6): 508-510.

**Kelen M., Tepe B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial proprieties of essential oils of *Salvia species* from Turkish flora. Bioresource Technology. 99 : 4096-4104.

**Kerharo P. J. (1969).** Un remède populaire Sengalais: Le 'Nebreday' (*Moringa oleifera* lam.) employés thérapeutiques en milieu Africain chimie et pharmacologie. Plantes Med Phytother, 3: 14-219.

**Khelifa M., Bahloul A., Kitane S. (2013).** Determination of Chemical Composition of Carob Pod (*Ceratonia Siliqua* L) and its Morphological Study. J. Mater. 4 (3): 348-353.

**Kitula R. A (2007).** Use of Medicinal Plants for Human Health in Udzungwa Mountains Forests:a case study of New Dabaga Ulongambi Forest Reserve, Tanzania. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 3:7.

**Kobayashi S.D., Malachowa N., Deleo F.R. (2015).** Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* abscesses. Am. J. Pathol. 185: 1518–1527.

**Kossel A. (1891).** Archive fur physiologie, pp. 181-186.

**Kostakioti M., Hadjifrangiskou M., Hultgren S.J. (2013).** Bacterial biofilms: Development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 3, a010306.

**Kunle OF., Egharevba HO., Ahmadu PO. (2012).** Standardisation des plantes médicinales. Une revue. Int.J-Biodivers.conserv.4 :101-112.

**Kwiecinski, J., Eick S., Wojcik K. (2009).** Effets de l'huile d'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) sur *Staphylococcus aureus* dans les biofilms et la phase de croissance stationnaire. Journal international des agents antimicrobiens, 33 : 343-347.

- Laguerre M., Lopez Giraldo L.J., Pina M., Vileneuve P. (2007).** Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante OCL. *Oléagineux corps gras lipides*, 14(5): 2778-292.
- Lakshmana Prabu S., Umamaheswari A., Grace Felciya S.J. (2020).** Investigation on the biofilm eradication potential of selected medicinal plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biotechnology Reports* 28. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00523>.
- Landini P., Antoniani D., Burgess J.G., Nijland R. (2010).** Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86: 813–823.
- Landolfi R., Mower R.L., Steiner M. (1984).** Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by flavonoids. Structure-activity relations. *Biochem. Pharmacol.* 33: 1525-1530.
- Laleye O. A. F., Ahissou H., Olounlade A. P., Azando E. V. B., Laleye A. (2015).** Étude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5): 2682-2700.
- Larocca L.M., Giustacchin M., Maggiano N., Ranelletti F.O., Piantelli M., Alcini E, Capelli A. (1994).** Growth-inhibitory effect of quecetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas. *J. 195*: 1029-1033.
- Lebeaux D. et Ghigo J.-M. (2012).** Infections associées aux biofilms, Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale, *Med Sci.*, 28: 727-39.
- Lebeaux D. et Ghigo J.-M., Christophe B (2014).** Biofilm-related infection: Bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiology and molecular biology* .78(3): 10-543.
- Lee K., Lee J.H., Kim SI, Cho MH., Lee J. (2014).** Anti-biofilm, anti-hemolysis, and nerolidol against *Staphylococcus aureus*. *Applied microbiology and biotechnology*. 98: 9447-9457.
- Lee J.-H., Park J.-H., Cho HS, Joo SW, Cho MH., Lee J. (2013).** Activités anti biofilm de la quercétine et de l'acide tannique contre *Staphylococcus aureus*. *Encrassement biologique*, 29, 491e499.

**Le Loir Y., Gautier M. (2010).** *Staphylococcus aureus*. Lavoisier.

**Leone A., Spada A., Battezzati A., Schiraldi A., Aristil J., Bertoli S. (2015).** Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *Int. J. Mol. Sci.* 16 : 12791-12835.

**Louni S. (2009).** Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile de graines de *Moringa oleifera*. Mémoire de Magister. École Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach-Alger-Algérie. P 15-22.

**Lowy FD (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. *The new England journal of Medicine.* 339 :520-532

### M

**Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Lausanne. Suisse. 181p. ISBN : 2-88074-625-6.

**Maikranz E., Spengler C., Thewes N., Thewes A., Nolle F., Jung P., Bischoff M., Santen L., Jacobs K. (2020).** Different binding mechanisms of: *Staphylococcus aureus* to hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Nanoscale*, 12: 19267–19275.

**Makkar H.P.S., Becker K. (1997).** Nutrients and anti-quality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree, *Journal of Agricultural Science Cambridge.* 128: 311–322.

**Makonnen E., Hunde A., Damecha G. (1997).** Hypoglycemic effect of *Moringa stenopetala* aqueous extract in rabbits. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products*, 11(2): 147-148.

**Mallick P., Dash P.N. (2013).** X-ray diffraction and UV-visible characterizations of  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles annealed at different temperature, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 3 : 130–134. <https://doi.org/10.5923/j.nn.20130305.04>.

**Mansour A. (2017).** Extraction et caractérisation des métabolites secondaires de plantes médicinales du genre *Juniperus* et du genre *Myrtus*. Thèse doctorat, Université Houari Boumediene, Algérie.

**Manache C., Scalbert A., MRAND C., Rémésy C., Jiménez I. (2004).** Polyphenols: Food source and biodvariability. *The journal of clinical nutrition*, 727-747.

**Manilal A., Sabu K.R., Shewangizaw M., Aklilu A., Seid M., Merdekios B., Tsegaye B. (2020).** In vitro antibacterial activity of medicinal plants against biofilm-forming methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: efficacy of *Moringa stenopetala* and *Rosmarinus officinalis* extracts. Science Direct Heliyon journal homepage: [www.cell.com/heliyon.https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03303](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03303).

**Mbarek A. (2011).** Conception et synthèse d'une chimiothèque diversifiée à partir de synthons c-glycosidiques. Chimie organique. Thèse doctorat. Université pierre et marie curie paris.VI, 2011.francais.NNT : 2011PA0660098.page26.

**Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques, Université Louis pasteur (Strasbourg).

**Monks T.J., Hanzlik R.P., Cohen G.M., Ross D., Graham D.G. (1992).** Toxicology and applied pharmacology, 112(1):2-16. quinone chemistry and toxicity.doi:10.1016/0001-008X(92)90273-U.

**Morton J.F. (1991).** The Horseradish tree *Moringa Pterocycos* Perma (Moringaceae). A Book to Arid Land. *Economic Botany*, 45: 318-333.

**Muyibi S. A., Evison L. M. (1995).** Optimizing physical parameters affecting coagulation of turbid water with *Moringa oleifera* seeds. *Water research*, 29(12): 2689-2695.

*N*

**Nasr-Eldin M.A., Abdelhamid A.G., Barak D.M. (2017).** Antibiofilm and Antiviral Potential of Leaf Extracts from *Moringa oleifera* and Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Lam). *Egypt. J. Microbiol.* 52, pp. 129 – 139. DOI: 10.21608/ejm.2017.1439.1027.

**Nazir R., Zaffar M.R., Amin I. (2019).** Bacterial biofilms: The remarkable heterogeneous biological communities and nitrogen fixing microorganisms in lakes. In *Freshwater Microbiology: Perspectives of Bacterial Dynamics in Lake Ecosystems*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 307–340, ISBN 9780128174951.

**Ndabigengesere A., Narasiah K. S. (1998).** Quality of water treated by coagulation using *Moringa oleifera* seeds. *Water research*, 32(3): 781-791.

**NF V 05-101, (1974).** Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination de l'acidité titrable.

**NF V 05-108, (1970).** Produits de l'agriculture. Produits dérivés des fruits et légumes. Détermination conventionnelle du potentiel hydrogène.

**NF V 05-113, (1972).** Détermination des cendres totaux. Vol 49,n°4,289-298.

**Nguyen H.T.T., Nguyen T.H., Otto M. (2020).** The staphylococcal exopolysaccharide PIA–Biosynthesis and role in biofilm formation, colonization, and infection. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 18: 3324–3334.

**Nouman W., Basra S.M.A., Siddiqui M.T., Yasmeen A., Gull T., Alcayde M.A.C. (2014).** Potential of *Moringa oleifera* L. as livestock fodder crop: A review. *Turk. J. Agric. For.* 2014, 38: 1–14.

### O

**Oduro I., Ellis W.O., Owusu D. (2008).** Nutritional potential of two leafy vegetables: *Moringa oleifera* and *Ipomoea batatas* leaves, *Sci. Res. Essays* 3: 57–60.

**Olson M.E. (2001).** Wood and bark anatomy in *Moringa* (Moringaceae). *Haseltonia.* 8: 85-121.

**Onwukaema D.N., Udoh F. (1999).** Anti-ulcer activity of the Stem bark of *Daniellia oliveri*. *Nigerian Journal of Nature Product and Medecine* 3: 39 – 41.

**Otto M. (2008).** Staphylococcal biofilms. In Romeo T., *Bacterial biofilms*, Ed. Springer, 210-222.

**Otto M. (2018).** Staphylococcal Biofilms. *Microbiol. Spectr.* 6.

**Ou C., Shang D., Yang J., Chen B., Chang J., Jin F., Shi C. (2020).** Prevalence of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with strong biofilm formation ability among animal-based food in Shanghai. *Food Control.* 112: 107106.

**Owusu-Ansah P., Alhassan A., Adongo Ayamgama A., Gameli Adzaworlu E., Akowuah Afoakwah N., Komla Mahunu G., Kweku Amagloh F. (2023).** Phytochemical analysis, enumeration, isolation, and antimicrobial activity of lemongrass and *Moringa* leaves extracts. *Journal of Agriculture and Food Research.* <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100579>.

### P

**Paharik A.E.; Horswill A.R. (2016).** The Staphylococcal Biofilm: Adhesins, Regulation, and Host Response. *Microbiol. Spectr.* 4.

**Palada M.C. (1996).** *Moringa (Moringa oleifera Lam.):* A versatile tree crop with horticultural potential in the subtropical United States. *HortScience*, 31: 794–797.

**Pandit J., Aqil M., Sultana Y. (2015).** Terpenes and essential oils as skin penetration enhancers. Dragicevic, N., Maibach, H.I., percutaneous spenetration enhancers chemical methods. In: penetration enhancement modification of the stratum corneum. Springer, pp.174-183.

**Petrova O.E.; Sauer K. (2012).** Sticky situations: Key components that control bacterial surface attachment. *J. Bacteriol.* 194: 2413–2425.

**Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C; Rouba S.I. (2003).** Antimicrobiol activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. *Lebensmittel-wissenschaft and technology*, 36: 679-684.

**Potera C. (1999).** Forging a link between biofilms and disease. *Science*, 283: 1837-1839.

**Popoola J.O., Obembe O.O. (2013).** Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) in Nigeria. *J. Ethnopharmacol.* 150: 682–691.



**Ralezo –Maevalandy A. DR. (2006).** *Moringa oleifera*, Antanario Madagascar.

**Ramachandran C., Peter K.V., Gopalakrishnan P.K. (1980).** Drumistick tree (*Moringa oleifera*): A multipurpose Indian vegetable, economic botany.34: 276-283.

**Ravikumar K., Sheeja, A.K. (2013).** Heavy metal removal from water using *Moringa oleifera* seed coagulant and double filtration, *Int. J. Sci. Eng. Res.* 4: 10–13.

**Recio M.C., Rols J.L., Villar A. (1989).** A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature. *Phytothrapy.* 3:117-125.

**Reffuveille F., Josse J., Vallé Q., Gangloff C.M., Gangloff S.C. (2017).** *Staphylococcus aureus* Biofilms and their Impact on the Medical Field. In *The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus*; InTech: Rijeka, Croatia, Chapter 11: 187.

**Rizzato C., Torres J., Kasamatsu, E., Camorlinga-Ponce M., Bravo M.M., Canzian F., Kato I. (2019).** Potential role of biofilm formation in the development of digestive tract cancer with special reference to *Helicobacter pylori* infection. *Front. Microbiol.* 10 : 846.

**Rosa D. (1993).** « *Moringa oleifera* : un arbre parfait pour les jardins à la maison », Forest service, Dept. Of Agriculture, U. S. A.

**Roux A., Ghigo JM (2006).** Les biofilms bactériens. *Bull. Acad. Vét. France.* 159(3): 261-268.

**Roy, E. (2013).** Les plantes exotiques dans les cosmétiques : réel intérêt ou effet marketing (Doctoral dissertation).

**Ruckmani K., Kavimani S., An R., Jaykar B. (1998).** Effect of *Moringa oleifera* Lam on paracetamol-induced hepatotoxicity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60(1): 33.

**Rudramurthy G.R., Swamy M.K., Sinniah U.R., Ghasemzadeh A. (2016).** Nanoparticules: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules.*21:7-8.

### S

**Saka Konmy B.B., Abiodoun Olounladé P., Doko-Allou S., Bertrand Azando E.V (2020).** Evaluation de l'effet de la poudre des feuilles de *Moringa oleifera* sur les parasites gastro-intestinaux du lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus*) au Bénin. *European Scientific Journal.* DOI : 10.19044/esj.2020.v16n30p51.

**Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Edition TEC & DOC. Lavoisier. Paris. 398p. ISBN: 2-7430-0805-9.

**Sayed, F.N., Polshettiwar, V. (2015).** Facile and Sustainable Synthesis of Shaped Iron Oxide Nanoparticles: Effect of Iron Precursor Salts on the Shapes of Iron Oxides, *Sci. Rep.* 5 9733–9747. <https://doi.org/10.1038/srep09733>.

**Schaumburg F., Pauly M., Anoh E., Mossoun A., Wiersma L., Schubert G., Flammen A., Alabi A.S., Muyembe-Tamfum, J.-J., Grobusch M.P. (2015).** *Staphylococcus aureus* complex from animals and humans in three remote African regions. *Clin. Microbiol. Infect.*, 21: 345.e1–345.e8.

**Sengupta M.E., Keraita B., Olsen A., Boateng O.K., Thamsborg S.M., Palsdottir G.R., Dalsgaard A. (2012).** Use of *Moringa oleifera* seed extracts to reduce helminth egg numbers and turbidity in irrigation water. *Water Research*, 46 (11): 3646-56.

**Shank L.P., Riyathong Lee T., Dheeranupattana V.S. (2013).** Peroxidase activity in native and callus culture of *Moringa oleifera* Lam, *J. Med. Bioeng.* 2 : 163–167.

**Sharma P., Wichaphona J., Klangpetcha W. (2020).** Activités antimicrobiennes et antioxydantes de l'extrait de farine de graines de *Moringa oleifera* dégraissé obtenu par extraction assistée par ultrasons et application comme revêtement antimicrobien naturel pour les saucisses de poulet crues. *Journal international de microbiologie alimentaire*.

**Singh B., Nadkarni J.R., Bharate S.B., Nivsarkar M., Anandjiwala S. (2012).** The hydroalcoholic extract of *Cassia alata* (lam). Leaves and its major compound rhein exhibits antiallergic activity via mast cell stabilization and lipoxygenase inhibition. *Journal of ethnopharmacology*. Vol. 1(5): 469-473.

**Singh GRS, Negi PS, Radha C. (2013).** Composition phénolique, activités antioxydantes et antimicrobiennes d'extraits phénoliques libres et liés de farine de graines de *Moringa oleifera*. *J. Fonction. Nourriture*. 5, 1883–1891.

**Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., et Stöckigt D. (2002).** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Review Journal of Chromatography*. 967: 85–113.

**Stohs S.J., Hartman M.J. (2015).** Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*. *Phytotherapy. Res.* 29 (6): 796–804.

**Svoboda P. et Hampson J. B., (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. *Plant biology department*, vol.65, 17p.

$\mathcal{T}$

**Tahiliani P., Kar A. (2000).** Role of *Moringa oleifera* leaf extract in the regulation of thyroid hormone status in adult male and female rats. *Pharmacological Research*, 41 (3): 319-323. <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0587>.

**Talbi T., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxydant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L). Mater. Environ. sci. 6(4) :1111-1117.

**Theophile M. (2014).** Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de *Moringa oleifera* local et *Moringa oleifera* PKM-1 dans la Région des Cascades (Burkina Faso). Mémoire de magistère en production végétale, université de Burkina Faso.

**Tremblay Y. D. N., Hathroubi S. et Jacques M. (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. Can J Vet Res., 78: 110-116.

**Tu Quoc P.H., Genevaux P., Pajunen M., Savilahti H., Georgopoulos C., Schrenzel J. Kelley W.L. (2007).** Isolation and characterization of biofilm formation defective mutants of *Staphylococcus aureus*. Infect Immune 75: 1079-1088.

### U

**Urquiaga I., Leighton F. (2000).** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biological Research. Vol. 33(2). pp. 55-64.

**Utili R., Durante-Mangoni E., Tripodi M.F. (2007).** Infection of intravascular prostheses: how to treat other than surgery. International Journal of Antimicrobial Agents. 30 S: S42- S50

### V

**Van Acker S.A., Van den berg D.J., Tremp M.N., Griffioen D.H., Van Bennekam W.P., Van der Vijgh W.J., Bast D. (1996).** Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. Free Radic. Biol. Med. 20(3): 331-342.

**Verma K. S., Nigam R. (2013).** Phytochemical screening of different plant parts of muringa (*Moringa oleifera* Lam.). Jawaharlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya Jabalpur 482004 (Madhya Pradesh) India, 263.

### W

**W-Erdman J., Balentine J.D., Arab L., Beecher G., Dwyer J.T., Folts, J., Hollman J.P., L-Keen C., Mazza G., Messina M., Scalber Vita, J., Williamson G., Burrowes, J. (2007).** Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop may 31 June 1, 2005 journal of nutrition. 137: 718-737.

### X

**Xinzhe Gu, Ying Yang, Zhengwu Wang. (2020).** Nutritional, phytochemical, antioxidant, a-glucosidase and a-amylase inhibitory properties of *Moringa oleifera* seeds. South African Journal of Botany.133: 151.160.

**Xiuzhen H., Shen T., et Hongxiang L. (2007).** Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal. Molecular Sciences. 8: 950-988.

### Y

**Yabesh J.E., Prabhu S., Vijayakumar S. (2014).** An ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in silent valley of Kerala, India. J. Ethnopharmacology, 154(3) : 774–789. DOI : 10.1016/j.jep.2014.05.004.

**Yehe. M et Gbassi G. K. (2019).** Étude physico-chimique d'un coagulant naturel : la poudre de graines de *Moringa oleifera*. Rev. Ivoir. Sci. Technol., 33: 287 – 299.

**Yousif A., Jamal M. A., and Raad I. (2015).** Biofilm-based central line associated bloodstream infections. In Donelli G., Biofilm-based Health care associated infections, Ed. Springer, Vol I., 164.

**Yong, YY, Dykes, G., Lee, SM, Choo, WS (2019).** Activité inhibitrice du biofilm des bétacyanines de la pitahaya rouge (*Hylocereus polyrhizus*) et de l'épinard rouge (*Amaranthus dubius*) contre les biofilms de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Journal de microbiologie appliquée, 126 (1) : 68-78.

**Yorshikawwa M., Harada E., Naitoh Y., Inoue K., Matsuda H., Shimoda H., Yamahara J., Murakami N. (1994).** Development of bioactive functions in hydrangea dulcis folium. III. On the antiallergic and antimicrobial principles of hydrangeae dulcis folium. Chemical and pharmaceutical Bulletin. 42(11): 22225-22230.

### Z

**Zabinski R.A., Walker K.J., Larsson A.J et al. (1995).** Effects of aerobic and anaerobic environments on antistaphylococcal activities of five fluoroquinolones. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 39: 507-512.

**Ziebuhr W., Lobner I., Krimmer V. et Hacker J. (2001).** Methods to detect and analyse phenotypic variation in biofilm-forming. Methods in Enzymology. 336: 195-203.

**Zimmermann-Meisse, G (2016).** Internalisation des leucotoxines de *S. aureus* dans les cellules cibles et conséquences cellulaires associées (Doctoral dissertation, Strasbourg).

**Site internet:**




**Mélanie A. (2018).** *Moringa* : l'arbre aux miracles. <https://www.mesbienfaits.com/moringa/>.  
(Page consulté le 16.05.2023).

# *Annexes*




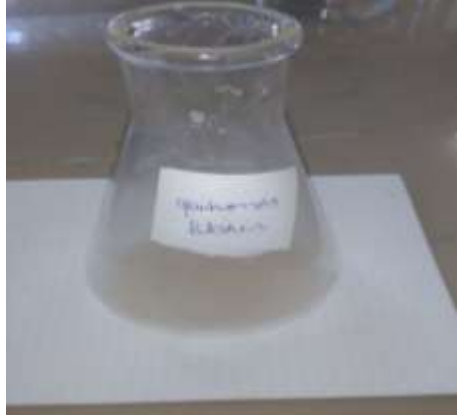
**Annexe1** : Réactifs, Appareillage et Verreries.






| Réactifs et solvants  | Appareillage   | Verrerie et autres matériel   |
|---|--|---|
| -Eau physiologique<br>-Eau distillée<br>-FeCl <sub>3</sub><br>-Acétate de sodium<br>-Magnésium<br>-Ammoniaque<br>-Chloroforme<br>-NaOH<br>-Alcool isobutanol<br>-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>-Lugol<br>-HCl<br>-Carbonate de sodium<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub><br>-Acétate de zinc<br>-Folin-Ciocalteu<br>-Anhydride acétique<br>-Acide sulfurique H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | - Agitateur ;<br>- Autoclave de paillasse<br>- Bain marie<br>-Balance<br>-Balance de précision 0.001g<br>-Étuve<br>-Four à moufle<br>- pH-mètre<br>- Réfrigérateur<br>- Spectrophotomètre visible<br>-Broyeur<br>-Agitateur magnétique<br>-Bec bunsen<br>-Dessiccateur | - Boîtes de pétri à 90 mm de diamètre<br>- Écouvillon<br>- Entonnoir<br>-Éprouvettes graduées<br>- Flacons stériles<br>- Micropipettes (de 10µl à 1000µl)<br>-Anse à boucle<br>- Papier aluminium ;<br>- Tubes à essai stériles<br>- Bêchers<br>- Erlenmeyer<br>- Fiole jaugé<br>-Entonnoirs<br>-Cristallisoirs<br>-Burette de graduation<br>-Pipettes Pasteur<br>- Papiers Wattman.<br>- Papiers filtre<br>- Passoir<br>-Spatule<br>-Verre de montre.<br>-Capsule en porcelaine.<br>-Barreau magnétique.<br>-Pince stérile |

**Annexe2** : Résultats de certains paramètres physicochimiques des graines de la plante étudiée.

| Les sucres totaux   | Les sucres réducteurs   | L'acidité titrable   |
|---|---|--|
|  |  |  |

## Annexe 3 : Résultats de l'analyse phytochimique.

| Tests             | Observations  | Résultats |
|-------------------|---|-----------|
| Anthocyanes       |  <p>Anthocyanes</p>         | ++        |
| Tannins           |  <p>Tannins</p>            | -         |
| Tannins galliques |  <p>tannins galliques</p> | -         |
| Quinones libres   |  <p>Quinones libres</p>   | -         |

|                    |  |            |
|--------------------|--|------------|
| <b>Saponosides</b> |                  | <b>+</b>   |
| <b>Glucosides</b>  |                  | <b>+++</b> |
| <b>Flavonoïdes</b> |                 | <b>-</b>   |
| <b>Stéroïdes</b>   |                | <b>+++</b> |
| <b>Coumarines</b>  | <br>coumarines | <b>-</b>   |

**Annexe 4 : Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux**

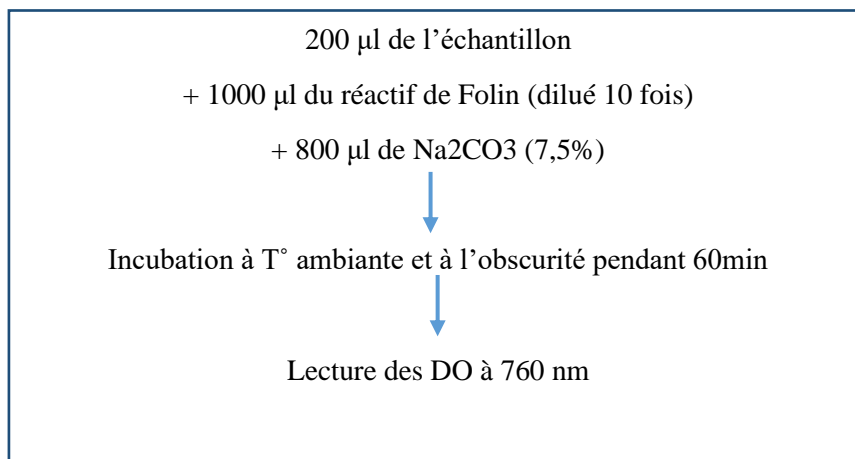
- ✓ Préparation de la gamme étalon

Une courbe d'étalonnage est préparée à partir de la solution mère (SM) 100 µg/ml, on prépare des dilutions allant de 10 à 100mg/ml selon le tableau suivant :

- ✓ Préparation des dilutions d'acide gallique

|                     |             |            |            |            |            |            |            |            |            |            |             |
|---------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| Concentration µg/ml | <b>100</b>  | <b>90</b>  | <b>80</b>  | <b>70</b>  | <b>60</b>  | <b>50</b>  | <b>40</b>  | <b>30</b>  | <b>20</b>  | <b>10</b>  | <b>0</b>    |
| Volume SM (µl)      | <b>1000</b> | <b>900</b> | <b>800</b> | <b>700</b> | <b>600</b> | <b>500</b> | <b>400</b> | <b>300</b> | <b>200</b> | <b>100</b> | <b>0</b>    |
| Volume E.D (µl)     | <b>0</b>    | <b>100</b> | <b>200</b> | <b>300</b> | <b>400</b> | <b>500</b> | <b>600</b> | <b>700</b> | <b>800</b> | <b>900</b> | <b>1000</b> |

Ensuite chaque dilution est traitée selon le protocole décrit ci-dessous :



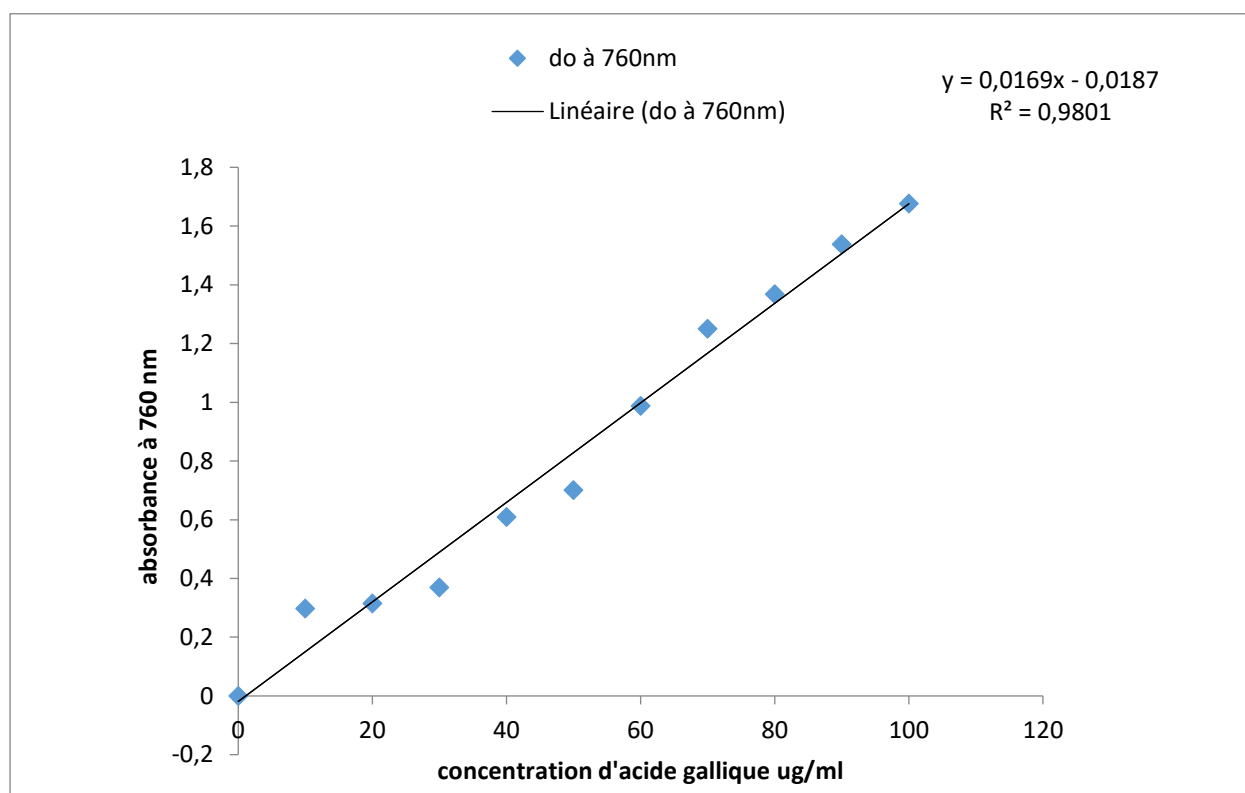
#### Protocoles de dosage d'acide gallique



Gamme d'étalonnage de l'acide gallique

✓ Résultats du dosage de l'acide gallique.

|                         |   |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|-------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentrations<br>Mg/ml | 0 | 10    | 20    | 30    | 40    | 50    | 60    | 70    | 80    | 90    | 100   |
| DO à 760                | 0 | 0,298 | 0,301 | 0,307 | 0,609 | 0,701 | 0,988 | 1,250 | 1,368 | 1,538 | 1,676 |



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de dosage des PPT en équivalent d'acide gallique.

#### Annexe 5 : Antibiotique et milieux de culture utilisés

✓ Antibiotique utilisé

| Antibiotique | Abréviation | Famille    | Dose          |
|--------------|-------------|------------|---------------|
| Gentamicine  | GN          | Aminosides | 10 µg /disque |


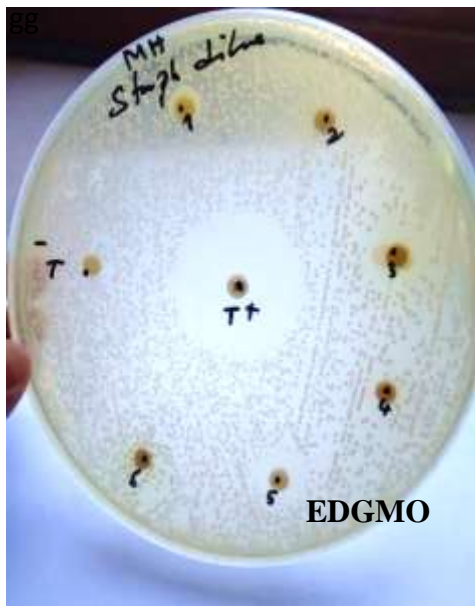


## ✓ Milieux de cultures utilisés

| Milieux De Cultures       | Utilisation  | Composition   | Préparation   |
|---------------------------|--|---|---|
| <b>Mueller Hinton</b>     | Gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Infusion de viande de bœuf : 300ml</li> <li>▪ Peptone de caséine : 17,5g</li> <li>▪ Amidon : 1,5</li> <li>▪ Agar : 17,0g</li> </ul> pH : 7,4 | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Peser 38g de poudre et mélanger dans 1 litre d'eau</li> <li>▪ Homogénéiser puis chauffer en agitant</li> <li>▪ Porter à ébullition pendant environ une minute</li> <li>▪ Ensuite stériliser la gélose à l'autoclave durant 15minutes à 121, 1°C</li> </ul>   |
| <b>Gélose Rouge Congo</b> | Milieu de culture Utilisé Pour l'étude des biofilms          | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Poudre BHIB : 18,5g</li> <li>▪ Agar : 5g</li> <li>▪ Saccharose : 25g</li> <li>▪ Rouge Congo : 0,4 g</li> </ul> pH : 7,4                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Faire bouillir 500ml de l'eau distillée dans un bécher en utilisant un agitateur magnétique.</li> <li>▪ Faire dissoudre 18,5g de la poudre BHIB, 5g d'agar agar, 25g de saccharose, 0,4g de Rouge Congo déjà pesés sur balance dans 200ml de l'eau préalablement chauffée.</li> <li>▪ Ajuster avec 300 ml d'eau distillée et laisser agiter et chauffer.</li> <li>▪ Répartir dans des flacons stériles et autoclaver à 120°C pendant 45min.</li> </ul> |

## Annexe 6 : Caractéristiques des souches bactériennes testées.

| Bactérie                     | Systématique   | Caractères généraux  |
|------------------------------|--|--|
| <i>Escherichia Coli</i>      | Règne : Bacteria<br>Embr : Proteobacteria<br>Classe : Gammaproeyobacteria<br>Ordre : Enterobacteriales<br>Famille : Enterobacteriaceae<br>Genre : <i>Escherichia</i><br>Espèce : <i>Escherichia coli</i> | C'est un bacille droit gram négatif, aéro-anaérobie facultative, oxydase négative, fermente les nitrates, habituellement mobile (flagelles péritriches) et pourvue de fimbriae. Ces bactéries font parties de la microflore bactérienne normale du tractus digestif de l'homme ainsi que de la plupart des animaux à sang chaud, représentant près de 80% de la microflore aérobie, même si la majorité des souches sont commensales, y a des souches responsables de gastro-entérites, infections urinaires, méningites et septicémies. |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Règne : Bacteria<br>Embr. : Firmicutes<br>Classe : Bacilli<br>Ordre : Bacillales<br>Famille : Micrococcaceae<br>Genre : <i>Staphylococcus</i><br>Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i>                   | C'est une bactérie de forme arrondie, gram positif, aéro-anaérobie facultative, immobile, catalase positive, coagulase positive, oxydase négatif, dépourvus de spores, apparaissent le plus souvent en amas dits en grappes de raisin. C'est le pathogène le plus fréquemment rencontré chez l'homme au niveau du naso-pharynx, et de la peau.   |



Annexe 7 : Zones d'inhibition de l'activité antibactérienne sur les deux souches testées.

| Bactérie                     | Extraits aqueux   |  |
|------------------------------|---|--|
|                              | Extrait pure  | Extrait diluée   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> |  <p>EPGMO</p>  |  <p>EDGMO</p>  |
| <i>Escherichia Coli</i>      |  <p>EPGMO</p> |  <p>EDGMO</p> |

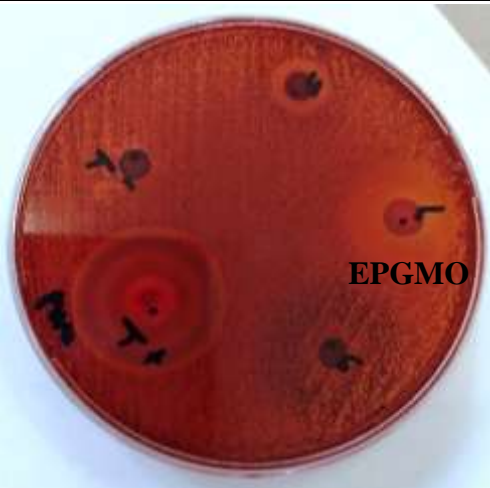

**EPGMO:** Extrait pure des graines de *M. oleifera*.

**EDGMO:** Extrait diluée des graines de *M. oleifera*.

## Annexe 8 : Formation du biofilm sur gélose Rouge Congo

|   |  |
|---|--|
|  |  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | <i>Escherichia coli</i>  |
| Formation de biofilm  | Absence de biofilm   |

Annexe 9 : Zones d'inhibition de l'activité anti biofilm *staphylococcus aureus* ATCC 25923.

| Souche Étudiée               | Extraits aqueux   |  |
|------------------------------|---|--|
|                              | Extrait pure  | Extrait diluée   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> |  EPGMO |  EDGMO |