

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité de Microbiologie Fondamentale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

Master

Thème

**Etude de l'activité antibactérienne, antibiofilm
et anti-inflammatoire intestinale de l'extrait
éthanolique de deux plantes médicinales :
Moringa oleifera et *Ephedra alata***

Présenté par :

AICHE Tassadit & DEHAS Lylia

Soutenu le : 23 septembre 2021

Devant le jury composé de :

Mme DJINNI I.

MCA

Président

Melle YANAT B.

MCA

Encadreur

Melle BOUAOUD Y.

MCB

Examineur

Année universitaire : 2020/2021



Remerciements



Au terme de la réalisation de ce mémoire nous tenons en premier lieu à exprimer nos profonds et sincères remerciements :

Au bon dieu de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience afin de réaliser et mener à terme ce modeste travail et d'aller au bout de nos objectifs.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à notre promotrice **M^{elle} YANAT.B** pour avoir accepté de nous encadrés, pour ses précieux conseils, ses orientations, sa précieuse aide et sa gentillesse. À Monsieur **BRIBI.N**, pour sa bienveillance, son aide et ses conseils.*

Nous tenons à présenter nos remerciements :

*À notre enseignante et présidente **M^{elle} DJINNI.I** de nous avoir fait l'honneur et un immense plaisir de présider le jury de notre soutenance.*

*À notre enseignante et examinatrice **M^{elle} BOUAOUD.Y** pour avoir accepté d'examiner notre mémoire.*

Nos remerciements les plus sincères à toute l'équipe du laboratoire « Biotechnologie végétale et ethnobotanique » et « Mycologie », Microbiologistes et Biochimistes : ingénieurs, techniciens, doctorants et étudiants.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents pour leurs soutiens, leurs encouragements et leurs sacrifices tout au long de ma vie.

A ma petite sœur Manel et Mon petit frère Badis qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail.

A ma très chère grande mère particulièrement qui m'as doté d'une éducation digne et pour tous les efforts qu'elle a suscité pour moi que dieu l'accorde une longue vie.

A ma très chère tante Naima pour son soutien, son encouragement et ses conseils pratiques.

A ma très chère sœur et copine Mira qui compte beaucoup pour moi et que je ne pourrais jamais oublier son soutien, son encouragement, sa gentillesse et ses conseils priseuses.

A Sonia, Oussama et Safia spécialement pour leurs soutiens inconditionnels, leurs encouragements et leurs conseils tout au long de ce travail.

A mes meilleures amies : Yasmine, Kahina et Rima sur qui je peux compter et en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

A mon très chère binôme et mon pilier "Sissa" et à toute sa famille pour sa patience, sa compréhension, son soutien et au nom de nos souvenirs inoubliables tout au long de ce travail.

A tous ce qui m'aimes.

Lylia



Dédicace

Tout d'abord je remercie ALLAH le tout puissant qui m'a permis de suivre mes études et m'a muni de volonté, force et patience afin de réaliser ce modeste travail. Je dédie ce mémoire :

A la mémoire de mes grands-parents paternels Smail et Tassadit ainsi mon grand-père maternel Hssan.

A mon très cher père, mon exemple dans cette vie, qui m'a toujours encouragé, qui a été présent à mes côtés, qui m'a soutenu en toutes circonstances et qui m'a toujours aidé avec ses précieux conseils, à qui je dois toutes mes réussites et tous mes succès.

A ma mère, la femme la plus chère au monde, la bougie de mon cœur, ma vie et mon bonheur, qui m'a toujours soutenu et épaulé durant toute la période de ma vie et durant mes études, qui m'a encouragé et conseillé.

Ce travail est le fruit de vos efforts, de vos prières incessantes, de votre tendresse, et de votre amour. J'espère rester toujours digne de votre estime et ne jamais vous décevoir. Puisse DIEU, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma très chère sœur Meriem et mon adorable frère Youcef, qui comptent énormément dans ma vie et qui sans eux, je ne serais pas ce que je suis devenue aujourd'hui, votre présence et vos encouragements m'ont été d'une grande aide.

A ma très chère grand-mère Baya, tes prières et tes encouragements ont été pour moi un grand soutien moral. Qu'Allah te préserve, t'accorde santé, bonheur et longue vie.

A mon meilleur ami Mehdi, qui m'a toujours soutenu depuis mon jeune âge, qui a été à mes côtés durant mon parcours d'étude, avec ses précieux conseils, toujours là pour m'écouter et m'orienter, toujours présent pour moi quand j'ai le plus besoin. Heureuse de t'avoir rencontré

A Oussama, un très bon ami, qui m'a beaucoup aidé durant mes années à l'université surtout cette année, toujours là avec ses bons et précieux conseils que j'ai appliqué à la lettre et qui m'ont beaucoup servi, sans toi je n'aurais jamais réalisé mon mémoire.

A ma très chère et adorable Sonia, qui a toujours été là pour moi, toujours là pour m'écouter, m'orienter, me conseiller et je n'oublierais jamais ton aide.

A Safia, la plus gentille et adorable doctorante, qui m'a beaucoup soutenu durant mon stage, qui m'a beaucoup donné de conseils qui m'ont servi et qui était toujours à l'écoute.

Mes dédicaces vont spécialement à mon adorable et gentille binôme « Lylia » qui, au fil du temps, est devenue une sœur, et grâce à qui ces durs mois de travail ne ressemblaient qu'à de vrais moments de plaisir de partage et de bons souvenirs. Je te suis reconnaissante pour l'effort que tu as fourni pour la réalisation de ce travail. MA MEILLEURE RECONCONTRE A L'UNIVERSITE ET QUE JE NE REGRETTE EN AUCUN CAS.

Tassadit

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Introduction	1

Chapitre I : Synthèse bibliographiques

I. Généralités sur *Moringa oleifera*

I.1 Origine et répartition géographique	3
I.2 Dénomination et taxonomie.....	3
I.3 Description botanique.....	4
I.4 Utilisation	6
I.4.1 Consommation humaine	6
I.4.2 Traitement et purification de l'eau	6
I.4.3 Utilisation industrielle	6
I.4.4 Utilisation médicinale.....	6

II. Généralités sur *Ephera alata*

II.1 Origine de répartition géographique	7
II.2 Dénomination et taxonomie	7
II.3 Description botanique	8
II.4 Composition chimique	9
II.5 Utilisation	9
II.6 Toxicité.....	9

III. Activités biologiques	10
III.1 Activité anti-inflammatoire	11
III.1.1 Généralités sur les maladies inflammatoires chroniques intestinales	11
III.1.2 Maladie de Crohn	11
III.1.3 Rectocolite hémorragique	12
III.1.4 Etiologie	12
III.1.4.4 La dysbiose	13

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1 Matériel analytique.....	15
I.2 Matériel végétal.....	15
I.3 Les souches cibles testées.....	16
I.4 Model animal	17

II. Méthodes

II.1 Extraction éthanolique	17
II.1.1 Le rendement d'extraction.....	18
II.2 Étude de l'activité antibactérienne.....	19
II.2.1 Méthode des puits	19
II.2.2 Méthode de micro-dilution sur milieu liquide	20
II.3. Etude de l'activité anti-biofilm.....	21
II.4 Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale d' <i>Ephedra alata</i>	24
II.4.1 Test de la toxicité aiguë.....	24

II.4.2 Étude de l'effet de l'extrait éthanolique de <i>Ephedra alata</i>	24
II.5 Analyse statistique	26

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats

I.1 Le rendement d'extraction	27
I.2 Etude de l'activité antibactérienne	27
I.2.1 Test des puits	27
I.2.2 Test de micro-dilution sur milieu liquide	30
I.3 Etude de l'activité antibiofilm	34
I.3.1 Formation de biofilm	34
I.3.2 Activité antibiofilm de l'extrait éthanolique d' <i>Ephedra alata</i>	35
I.3.3 Activité antibiofilm de l'extrait éthanolique de <i>Moringa oleifera</i>	35
I.4 Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale	36
I.4.1 Étude de la toxicité aiguë	36
I.4.2 Etude de l'effet de l'extrait éthanolique d' <i>Ephedra alata</i>	36

II. Discussion

II. Discussion	39
Conclusion	43

Liste de références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AcDET	Acétate d'éthyle
AIEC	<i>Escherichia coli</i> Adhèrent invasive
ATCC	American Type Culture Collection
BMH	Bouillon Mueller-Hinton
CAZ	Ceftazidime
CCR	Cancer colorectal
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CRD15	Caspase Recruitment Domain 15
DAI	Indice d'activité de la maladie
DCM	Dichlorométhane
DNBS	Acide di nitrobenzène sulfonique.
DO	Densité Optique
<i>E. alata</i>	<i>Ephedra alata</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EE	Extrait éthanolique
EEE	Extrait éthanolique d'Ephedra
EEM	Extrait éthanolique de Moringa
EPECII	<i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène II
EURL	Entreprise unipersonnelle à responsabilité limitée
FDA	Food and Drug Administration
IL	Interleukine
INF	Interféron
<i>K.pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>M. oleifera</i>	<i>Moringa oleifera</i>
MC	Maladie de Crohn

MH	Mueller-Hinton
MHBG	Bouillon Mueller-Hinton additionné à 2,5% de Glucose
MHm	Mueller-Hinton molle
MICI	Maladie inflammatoire chronique intestinale
NOD2	Nucléotide oligomérisation Domain 2
ONAB	Office National des Aliments de Bétail
P/L	Poids sur la longueur
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
pH	Potentiel Hydrogène
PRR	Pattern Recognition Receptor
R	Rendement d'extraction en pourcentage
RCH	Rectocolite ulcéro-hémorragique
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.Typhi</i>	<i>Salmonella Typhi</i>
Th	Lymphocyte T
UFC/mL	Unité Formant Colonie par millilitre
<i>V.cholerae</i>	<i>Vibrio cholerae</i>

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
I	Classification systématique de <i>Moringa oleifera</i>	04
II	Composition chimique et description botanique de différentes parties de <i>Moringa oleifera</i>	05
III	Classification systématique d' <i>Ephedra alata</i>	08
IV	Activités biologiques de <i>Moringa oleifera</i> et <i>Ephedra alata</i>	10
V	Références et origine des souches bactériennes utilisées	16
VI	Taux d'extraction des deux plantes <i>Moringa oleifera</i> et <i>Ephedra alata</i>	27
VII	Activité de l'extrait éthanolique de <i>Moringa oleifera</i> et <i>Ephedra alata</i> sur plusieurs espèces bactériennes	28
VIII	Résultats des CMI d'extrait éthanolique d' <i>Ephedra alata</i> et <i>Moringa oleifera</i>	31
IX	Résultats du test de formation de biofilm pour les souches <i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603, <i>K.pneumoniae</i> 71.	34

=

Liste des figures

Figure 01	Répartition géographique de <i>Moringa</i>	03
Figure 02	Arbre de <i>Moringa oleifera</i>	04
Figure 03	Feuilles de <i>Moringa oleifera</i>	05
Figure 04	Graines de <i>Moringa oleifera</i>	05
Figure 05	Racines de <i>Moringa oleifera</i>	05
Figure 06	Distribution géographique d' <i>Ephedra</i>	07
Figure 07	<i>Ephedra alata</i> « A » ; rameux fleuri « B » ; fleur en épanouissement « C »	08
Figure 08	Dysbiose et les modifications du contenu luminal chez les patients atteints de MICI	14
Figure 09	Photographie des rameux et des feuilles d' <i>Ephedra alata</i> (A) et des feuilles de <i>Moringa oleifera</i> (B)	15
Figure 10	Photographie des souris BALB/c	17
Figure 11	Protocole d'extraction éthanolique	18
Figure 12	Détermination des CMI par la méthode de micro-dilution sur microplaque	21
Figure 13	Protocole de la technique de quantification des biofilms sur microplaque	23
Figure 14	Photographie de l'administration du DNBS par voie rectale (A) et l'administration de l'extrait éthanolique par voie orale (B)	25
Figure 15	Protocole expérimental d'induction de la colite chez les souris par DNBS (lot malade) et d'un traitement par l'EE d' <i>Ephedra alata</i> pendant 6 jours	25
Figure 16	Photographie des zones d'inhibition obtenues par l'extrait éthanolique d' <i>Ephedra alata</i> sur <i>S.Typhi</i> ATCC 14028 (A), <i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603 (B), EPECII (C), <i>P.aeruginosa</i> 893 (D), <i>S.aureus</i> (E) et <i>K.pneumoniae</i> 71 (F), C1: 100 mg/mL, C2: 50 mg/mL, C3: 25 mg /mL, T: témoin.	29
Figure 17	Photographie des zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>Moringa oleifera</i> sur <i>S.aureus</i> (A), <i>S.aureus</i> LGA 251 (B) et <i>Streptococcus</i> D (C), C1: 100 mg/mL, C2: 50 mg/mL, C3: 25 mg /mL, T: témoin.	30

Figure 18	Photographie des résultats des CMI de l'extrait éthanolique d' <i>Ephedra alata</i>	32
Figure 19	Photographie des résultats des CMI de l'extrait éthanolique d' <i>Moringa oleifera</i>	33
Figure 20	Microplaque du biofilm : A+D : <i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603 ; B+E : <i>K.pneumoniae</i> 71.	34
Figure 21	Effet de l'EE d' <i>Ephedra alata</i> sur les biofilms formés.	35
Figure 22	Effet de l'EE de <i>Moringa oleifera</i> sur les biofilms formés.	36
Figure 23	Photographie de la longueur des différents côlons des lots (A). Différents aspects de l'inflammation intestinale des colons chez des souris expérimentales colitiques (B).	37
Figure 24	Effet de l'extrait éthanolique d' <i>Ephedra alata</i> (50, 100 et 200 mg/kg) sur l'évolution du rapport P/L des souris en mg/cm dans un modèle de souris colitique induite par DNBS	38

Liste des annexes

Annexe	Titre
Annexe I	Matériels analytique
Annexe II	Solutions utilisées
Annexe III	Composition des milieux de culture utilisés
Annexe IV	Effet antibiofilm de l'EE d' <i>E.alata</i> sur les biofilms formés. Effet antibiofilm de l'EE de <i>M.oleifera</i> sur les biofilms formés.
Annexe V	Effet anti-inflammatoire intestinal de l'EEE sur les souris colique
Annexe VI	Structure chimique des composés bioactifs trouvés dans les feuilles de <i>Moringa oleifera</i> .



Introduction

Introduction

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des temps immémoriaux à des fins diverses par l'humanité, en particulier comme aliment pour la nutrition et comme médicament pour traiter les maladies chez les humains et les animaux. En effet, malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Hamel., 2018 ; Alotaibi et al., 2021). Ainsi, les plantes médicinales sont considérées parmi les plus importants groupes de produits naturels, en raison de leurs propriétés biologiques et leurs diversités structurales qui sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (Basli et al., 2012).

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) sont des maladies digestives chroniques, complexes et invalidantes, résultants de l'interaction des facteurs environnementaux, génétiques et d'une réponse immunitaire de l'hôte altérée à un déséquilibre du microbiote intestinal (dysbiose). Les MICI comportent la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite ulcéro-hémorragique (RCH). À l'heure actuelle, la thérapie des MICI est principalement constituée par l'utilisation de médicaments immunosuppresseurs ou immunomodulateurs, des corticoïdes, des prébiotiques, des probiotiques et des antibiotiques. Toutefois, ces traitements présentent des effets indésirables ou sont d'une efficacité relative (Siegel, 2011 ; Altwegg et Michon, 2020).

En outre, le développement des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries est l'un des problèmes les plus importants en santé publique dans le monde car l'émergence des infections dues aux bactéries multirésistantes peuvent compromettre l'antibiothérapie et cette situation est d'autant plus compliquée lorsque ces souches bactériennes sont productrices de biofilm (Basli et al., 2012 ; Mosquera et al., 2020). En effet, la manifestation de l'infection associée au biofilm évolue d'une forme aiguë à une maladie chronique et peut persister pendant une période prolongée (Teanpaisan et al., 2017). C'est ainsi que la formation de biofilms et la résistance aux antibiotiques des micro-organismes ont incité les chercheurs à rechercher de nouvelles substances médicamenteuses douées d'activités antibactérienne et antibiofilm.

De ce fait, la recherche et le développement de nouvelles substances bioactives d'origine naturelle est devenu "un point chaud de la recherche". A cet effet, l'étude de la médecine traditionnelle et du traitement par les plantes est particulièrement intéressante. D'autant plus que l'Algérie est réputée par la richesse de sa flore médicinale qui comprend des centaines d'espèces végétales (Alves-Silva et al., 2017; Das et al., 2020). Parmi ces espèces: *Moringa oleifera* et *Ephedra alata*.

Plusieurs travaux ont été rapportés sur l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne de *Moringa oleifera*. Cependant, selon la base de données Pubmed, aucune étude n'a été réalisée sur l'activité antibiofilm de cette plante de même pour l'activité anti-inflammatoire intestinale d'*Ephedra alata*. Ainsi, ce travail avait pour objectifs en premier lieu, l'étude de l'activité antibactérienne et antibiofilm *in vitro* des extraits éthanoliques des deux plantes et en second lieu, l'étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale *in vivo* d'*Ephedra alata*. A cet effet, nous avons suivi la méthodologie suivante :

- Etudier l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques sur un panel d'espèces bactériennes (Gram positives et Gram négatives) multirésistantes, cliniques et de références par deux techniques différentes : la méthode des puits sur milieu solide et la méthode de micro-dilution sur milieu liquide.
- Etudier l'activité antibiofilm des extraits éthanoliques par la méthode de coloration au cristal violet sur microplaque.
- Induction de l'inflammation colique par l'acide dinitrobenzène sulfonique sur un modèle animal et étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata*.



Chapitre I
Synthèse bibliographique

I. Généralités sur *Moringa oleifera*

I.1 Origine et répartition géographique

Moringa oleifera est originaire du sud des montagnes himalayennes dans le nord indien et d'Arabie (Figure 01). Elle est largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales. Elle a été introduit en Afrique de l'est au début du 20ème siècle (Bayé-Niwah et Mapongmetsem, 2014 ; Kou et al., 2018 ; Sy et al., 2018).

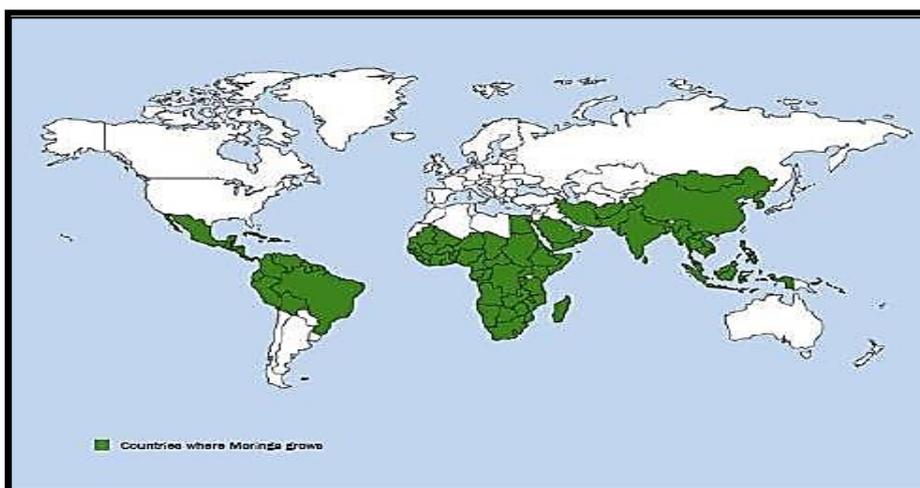


Figure 01 : Répartition géographique de *Moringa* (Koul et Chase, 2015).

I.2 Dénomination et taxonomie

Le genre *Moringa* comprend 13 espèces différentes, dont *Moringa oleifera* est l'espèce la plus connue et utilisée. Ces espèces appartiennent à la famille monogénérique des arbustes et des arbres des *Moringaceae* (Hêdji et al., 2014 ; Laleye et al., 2016 ; Trigo et al., 2020) (Tableau I).

Nom scientifique : *Moringa oleifera* Lam.

Nom vasculaire : Moringa est connu sous diverses dénominations dans le monde :

- En arabe : Rawag.
- En français : Moringe à graine ailée.

Tableau I : Classification systématique de *Moringa oleifera* (Khan et Khan, 2020).

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

I.3 Description botanique

Moringa oleifera (Figure 02) est généralement présentée comme un arbre pérenne, parfois même considéré comme un arbuste, sa hauteur maximale est de 7 à 12 mètres. Elle a une croissance rapide. Elle pousse principalement dans les zones semi-arides, zones tropicales et subtropicales, et résiste à la sécheresse (Laley et al., 2016 ; Sujatha et Patel, 2017 ; Abd El-Hack et al., 2018 ; Mohanty et al., 2021).

La description des différents parties de *M. oleifera* et leurs compositions chimiques sont résumées dans le Tableau II.

**Figure 02 :** Arbre de *Moringa oleifera* (Foild et al., 2001).

Tableau II : Composition chimique et description botanique de différentes parties de *Moringa oleifera*.

Les parties de la plante	Description botanique	Composition chimique
 <p>Figure 03 : Feuilles de <i>Moringa oleifera</i> (Udikala et al., 2017).</p>	<p>Les feuilles (Figure 03) sont alternes, bi ou tripennées, se développent principalement dans la partie terminale des branches (Hêdji et al., 2014), elles mesurent 20 à 70 cm de long et sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes (Laleye et al., 2016).</p>	<p>Les feuilles de <i>M. oleifera</i> sont riches en minéraux comme le Ca, K, Zn, Mg, Fe, Cu mais aussi en vitamines comme la vitamine A (bêta carotène), la vitamine B, C et D, elles sont également riches en protéines et acides aminés (Udikala et al., 2017).</p>
 <p>Figure 04 : Graines de <i>Moringa oleifera</i> (Koul et Chase, 2015).</p>	<p>Les graines (Figure 04) sont rondes, avec une coque marron semi-perméable. La coque présente trois ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet. Un arbre peut produire 15000 à 25000 graines par an (Foild et al., 2001).</p>	<p>Les graines contiennent un pourcentage élevé d'huile douce et environ 76% d'acides gras polyinsaturés (Abd El-Hack et al., 2018).</p>
 <p>Figure 05 : Racines de <i>Moringa oleifera</i> (Koul et Chase, 2015).</p>	<p>La racine (Figure 05) blanche, gonflée et tubéreuse, elle a une odeur piquante caractéristique et dotée de racines latérales plutôt clairsemées (Stimm et al., 2014).</p>	<p>la racine contient des alcaloïdes à savoir la moringine, la moringinine et la spirochine (Laleye et al., 2016 ; Haldar, 2017).</p>

I.4 Utilisation

I.4.1 Consommation humaine

Toutes les parties de *M. oleifera* sont consommées par les humains de différentes manières (Abd El-Hack et al., 2018). Les jeunes feuilles sont comestibles et consommées cuites, comme des épinards ou préparées en soupe ou en salade, les jeunes gousses vertes sont très gouteuses et peuvent être consommées bouillies comme des haricots, les graines sèches et les racines sont réduites en poudre et utilisées pour révéler l'assaisonnement et les fleurs sont utilisées comme ingrédient d'une salade (Foild et al., 2001).

I.4.2 Traitement et purification de l'eau

M. oleifera contient plusieurs substances naturelles qui peuvent être utiliser dans la purification de l'eau potable, à faible coût et à faible risque pour la santé humaine et de l'environnement (Abd El-Hack et al., 2018). Les graines contiennent certaines protéines telles que les polyélectrolytes qui provoquent la sédimentation des particules minérales et organiques dans les processus de purification de l'eau potable (Foild et al., 2001).

I.4.3 Utilisation industrielle

Les graines contiennent 42 % d'huile, qui est utilisée comme lubrifiant dans la machinerie, elles sont également utilisées comme huile de cuisine, dans l'industrie des parfums (Foild et al., 2001), et dans la fabrication des colorants à partir du bois (Sujatha et Patel, 2017).

I.4.4 Utilisation médicinale

Les différentes parties de *M. oleifera* ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies telles que les infections cutanées, l'anémie, l'anxiété, l'asthme, le choléra et de nombreuses autres maladies. Elle améliore également la vue, la vigilance mentale et la solidité des os. Elle a des avantages potentiels dans la malnutrition, la faiblesse, l'allaitement, la ménopause et la dépression (Mahmood et al., 2010).

II. Généralités sur *Ephedra alata*

II.1 Origine de répartition géographique

Ephedra est originaire d'Asie centrale et distribué en chine, en inde, au moyen orient, en Europe, et les Amériques (Figure 06). L'espèce *Ephedra alata* est commune dans le Sahara du Maroc, à la Libye jusqu'en Egypte et l'Arabie saoudite. En Algérie, cette espèce se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et du lit sablonneux des oueds (Bagheri-Gavkosh et al., 2009 ; Hegazi et El-Lamey, 2011 ; Kouider et al., 2020).

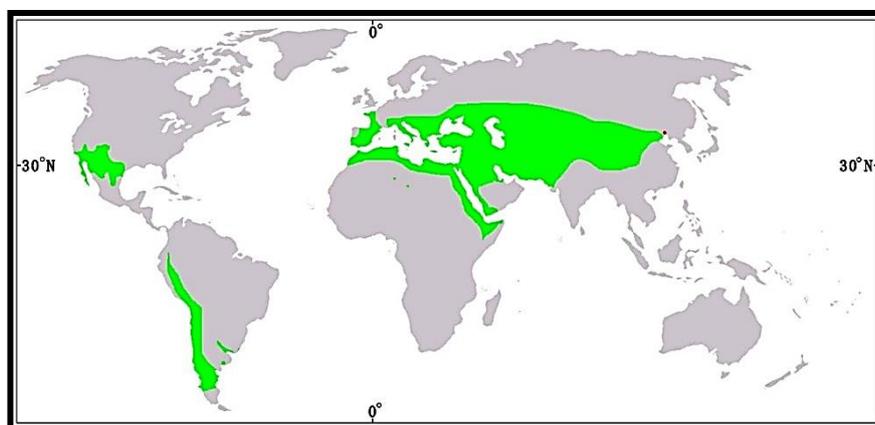


Figure 06 : Distribution géographique d'*Ephedra* (Yang et Wang, 2013).

II.2 Dénomination et taxonomie

Les *Ephedraceae* sont des plantes phylogénétiquement très anciennes appartenant au groupe des gymnospermes. Le genre *Ephedra* contient 69 espèces (Lee, 2011 ; González-Juárez et al., 2020), parmi lesquelles *Ephedra alata* (Tableau III).

Les noms communs d'*Ephedra alata* :

- En arabe : Alanda.
- En français : Ephedra.

Tableau III : Classification systématique d'*Ephedra alata* (Ozenda, 1991).

Royaume	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Division	Gnetophyta
Classe	Gnetopsida
Ordre	Ephedrales
Famille	Ephedraceae
Genre	<i>Ephedra</i>
Espèce	<i>alata</i>

II.3 Description botanique

Ephedra alata est réputée par sa tolérance élevée à la carence en eau dans les régions sahariennes. C'est un arbuste vivace, rigide, densément ramifié, de 40 à 100 cm de hauteur. Elle pousse sur un terrain sec, rocheux ou sableux dans le désert ou les zones arides. Les rameaux sont articulés et portent au niveau des nœuds des feuilles réduites en écailles et opposées. Les fleurs sont en petites cônes (fleurs mâles et femelles sur des pieds différents), elle porte des fruits jaunes verts et émet une forte odeur de pin et un goût astringent (Figure 07). Elle présente un système de racines latérales extrêmement puissant (Derbel et al., 2010 ; Hegazi et El-Lamey, 2011 ; Al-Snafi, 2017 ; Kouider et al., 2020).

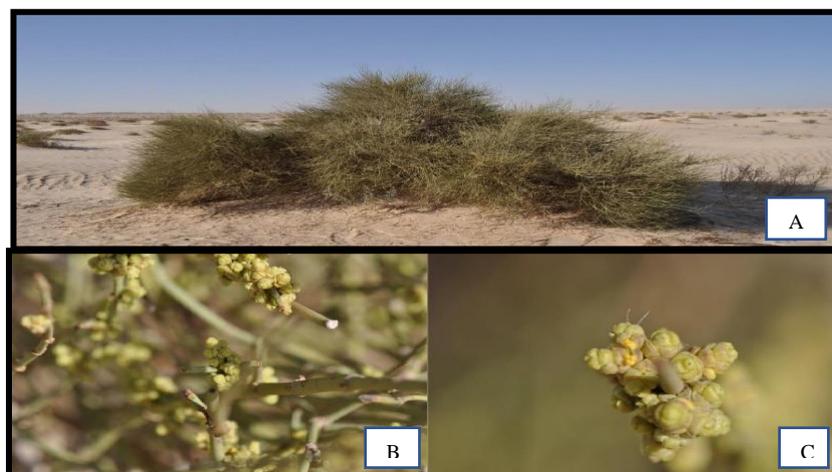


Figure 07 : *Ephedra alata* « A » ; rameux fleuri « B » ; fleur en épanouissement « C »
(Kouider et al., 2020).

II.4 Composition chimique

Les espèces d'*Ephedra* sont des sources naturelles de nombreux constituants comprenant les alcaloïdes, les tanins, les saponines, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les proanthocyanidines et les huiles essentielles (Hegazi et El-Lamey, 2011 ; Senchina et al., 2014).

II.5 Utilisation

La partie aérienne (tiges vertes et fruits) sont les organes les plus utilisées en médecine traditionnelle (Kouider et al., 2020).

En médecine traditionnelle chinoise *E. alata* est utilisé pour lutter contre les allergies, l'asthme, les frissons, les rhumes, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe, les maux de tête et la congestion nasale. En Asie, elle est utilisée dans la fabrication clandestine d'une drogue de rue, dont la méthamphétamine (Caveney et al., 2001 ; Al-Snafi, 2017).

Dans plusieurs autres pays du monde, elle est utilisée pour divers traitements tels que les maladies vénériennes, le trouble du système respiratoire, les rhumatismes, le diabète et le cancer mais également utilisée comme complément alimentaire pour la perte de poids (Ghafoor et al., 2007 ; Bagheri-Gavkosh et al., 2009 ; Al-Snafi, 2017 ; Soumaya et al., 2020).

En Algérie *E. alata* est utilisée contre le rhume, la grippe, les troubles respiratoires en tisane par inhalation et macération (Chouikh, 2020).

II.6 Toxicité

Contrairement à la plupart des autres médicaments à base de plantes, l'*Ephedra* porte un risque aggravé pour la santé, par sa mauvaise utilisation et /ou abus. Selon Food and Drug Administration (FDA), les compléments alimentaires contenant les alcaloïdes de l'*Ephedra* représentent un risque nuisible à la santé. C'est pour cela la FDA a interdit tous les médicaments en vente libre contenant l'éphédrine (Al-Snafi, 2017). Les effets indésirables des espèces d'*Ephedra* sont principalement causés par deux principes actifs éphédrine et pseudoéphédrine qui sont des médicaments sympathomimétiques puissants. L'usage chronique de la plante peut provoquer une hypertension, des palpitations, une tachycardie, une arythmie, un arrêt cardiaque ou mort subite et les accidents vasculaires cérébraux hémorragiques et ischémiques (González-Juárez et al., 2020).

III. Activités biologiques

Moringa oleifera et *Ephedra alata* possèdent de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes (Tableau IV).

Tableau IV : Activités biologiques de *Moringa oleifera* et *Ephedra alata*.

Activités biologiques	<i>Moringa oleifera</i> et <i>Ephedra alata</i>
Activité antibactérienne	<i>M. oleifera</i> et <i>E. alata</i> pourraient être en effet des sources potentielles des agents antibactériens et même contre certaines souches bactériennes (Chekesa et Mekonnen, 2016). Les différentes parties de ces plantes sont utilisées pour prévenir et traiter plusieurs maladies et infections bactériennes telles que la fièvre, l'œdème, l'abcès, le panaris...etc (Atakpama et al., 2014).
Activité anti-oxydante	<i>M. oleifera</i> et <i>E. alata</i> sont les espèces les plus importantes qui contiennent des antioxydants naturels (Pakade et al., 2013), en particulier les polyphénols qui sont les principaux composés phytochimiques capables de diminuer les dommages oxydatifs dans les tissus par l'amélioration indirecte d'une cellule ou par piégeage des radicaux libres (Zhang et al., 2018).
Activité anticancéreuse	Plusieurs recherches ont révélé que les deux plantes possèdent un effet thérapeutique pour combattre le cancer (Abdull Razis et al., 2014 ; Miao et al., 2020). Les extraits d' <i>E. alata</i> riche en composés polyphénoliques ont des effets potentiels vers un modèle de cancer du sein 4T1 <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> . L'extrait des feuilles de <i>M. oleifera</i> a des effets potentiels cytotoxiques sur de multiples cellules myélomateuse (Udikala et al., 2017 ; Sioud et al., 2020).

:

Activité antidiabétique	<i>M. oleifera</i> est bien connue pour son action pharmacologique et utilisée pour les traitements du diabète (Abdull Razis et al., 2014). Les feuilles de <i>M. oleifera</i> sont une source de polyphénols responsables de l'activité hypoglycémique et peuvent réduire considérablement la concentration du glucose (Adouko et al., 2020), elle peut prévenir aussi les complications graves du diabète en cas d'hyperglycémie (Udikala et al., 2017).
Activité anti-inflammatoire	<i>M. oleifera</i> a été pratiquement utilisée dans le domaine médical pour guérir une énorme quantité de maladies chroniques et aiguës, la plante a été recommandée pour son efficacité dans le traitement d'inflammation (Abdull Razis et al., 2014). Ses feuilles sont utilisées comme antalgique au cours des règles douloureuses et dans les migraines (Atakpama et al., 2014).

III.1 Activité anti-inflammatoire

III.1.1 Généralités sur les maladies inflammatoires chroniques intestinales

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) sont des pathologies qui correspondent à une inflammation chronique du tractus gastro-intestinal (principalement de l'intestin) évoluant par des poussées inflammatoires de durées variables (phase symptomatique) entrecoupées par des phases de rémission (phase asymptomatique). Ces derniers regroupent deux entités principales, la maladie de Crohn (MC) d'une part et la rectocolite hémorragique (RCH) d'autre part (Kökten et al., 2016).

III.1.2 Maladie de Crohn

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire de l'intestin (MICI) caractérisée par une inflammation chronique et aiguë du tube digestif (Armuzzi, 2018). L'inflammation peut s'étendre à l'ensemble du tube digestif, en partant de la bouche jusqu'à l'anus avec des zones de discontinuité. Les localisations iléales et iléo colique sont les plus fréquentes (Dalibon, 2015 ; Ouahab et Behar, 2017).

III.1.3 Rectocolite hémorragique

La rectocolite ulcéro-hémorragique (RCH) est une maladie inflammatoire chronique non transmurale limitée au colon. Elle touche constamment le rectum et remonte plus ou moins haut sur le colon jusqu'à constituer au maximum une pancolite lorsqu'elle atteint le cæcum (Conrad et al., 2014).

III.1.4 Etiologie

Aujourd'hui encore, l'étiologie des MICI reste inconnue. Différentes études ont démontré l'implication en proportions variables de facteurs génétiques, environnementaux et un rôle du microbiote intestinal dans la survenue de ces pathologies. L'hypothèse serait que les MICI résulteraient d'une réponse immunitaire inadaptée vis-à-vis d'une modification du microbiote intestinal ou dysbiose chez des patients génétiquement prédisposés (Kökten et al., 2016).

III.1.4.1 Facteurs génétiques

L'implication des facteurs génétiques dans les MICI ont été démontré actuellement par l'identification de plus de 240 gènes de susceptibilité. Ces derniers sont soit des gènes de reconnaissance des microorganismes, soit des gènes impliqués dans la réponse aux micro-organismes. Le premier gène de susceptibilité identifié est le gène NOD2 (Nucléotide oligomérisation Domain 2) ou CARD15 (Caspase Recruitment Domain 15) sur le chromosome 16, qui reste actuellement le gène le plus associé à la MC. Le NOD2 code pour un récepteur de produits de dégradation ou de renouvellement de la paroi bactérienne (Altwegg et Michon, 2020).

III.1.4.2 Facteurs immunologiques

Une dérégulation immunitaire qui se traduit par un déséquilibre de la balance Th1/Th2 est liée à des pathologies des MICI. Un dysfonctionnement des réponses aux PRR (Pattern Recognition Receptor) lors de la MC conduirait les cellules dendritiques (DC) à reconnaître certains antigènes commensaux de façon excessive (Pickard et al., 2017). Cette perte de tolérance aboutirait à une réponse de type Th1 par production des cellules T et activation de cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN- γ et l'IL-12 (Luo et al., 2017).

III.1.4.3 Facteurs environnementaux

L'apparition des pathologies et les changements de mode de vie et d'environnement sont les premiers arguments en faveur d'une composante environnementale. Plusieurs facteurs environnementaux sont associés au déclenchement et l'évolution des MICI, parmi-ceci : le tabagisme et l'appendicectomie qui aggrave l'évolutivité de la MC en augmentant le risque de récurrence et le recours aux interventions chirurgicales. De nombreux autres facteurs environnementaux, tels que les antibiotiques, les contraceptifs oraux, la vaccination et l'alimentation, ont été envisagés pour expliquer l'émergence des MICI dans les pays développés (Kökten et al., 2016).

III.1.4.4 La dysbiose

La modification de la composition du microbiote intestinal (dysbiose) peut être comme inducteur ou amplificateur dans les maladies chroniques comme les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) (Altwegg et Michon, 2020). La dysbiose correspond à un déséquilibre entre la quantité de bactéries dites « protectrices » (*Bifidobacteria*, *Lactobacilli*) et de bactéries dites « délétères » (*Bacteroides*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*). De nombreuses études ont montré l'existence de ce déséquilibre chez les patients atteints des MICI. Ses caractéristiques principales sont (Figure 08):

- Une restriction de la biodiversité des bactéries appartenant au phylum des *Firmicutes*.
- Une diminution de la proportion de certains groupes bactériens tels que *Clostridium leptum* dont le principal représentant est *Faecalibacterium prausnitzii*.
- Une augmentation de la proportion des Entérobactéries dont certains *E. coli* entéro-adhérents et invasifs (AIEC) qui a été décrite comme spécifiquement associée à la muqueuse iléale de patients atteints de la MC.

Par ailleurs, il a été montré que les bactéries « protectrices » possèdent des propriétés anti-inflammatoires, d'une part en inhibant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules du système immunitaire et d'autre part en favorisant la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (Kökten et al., 2016).

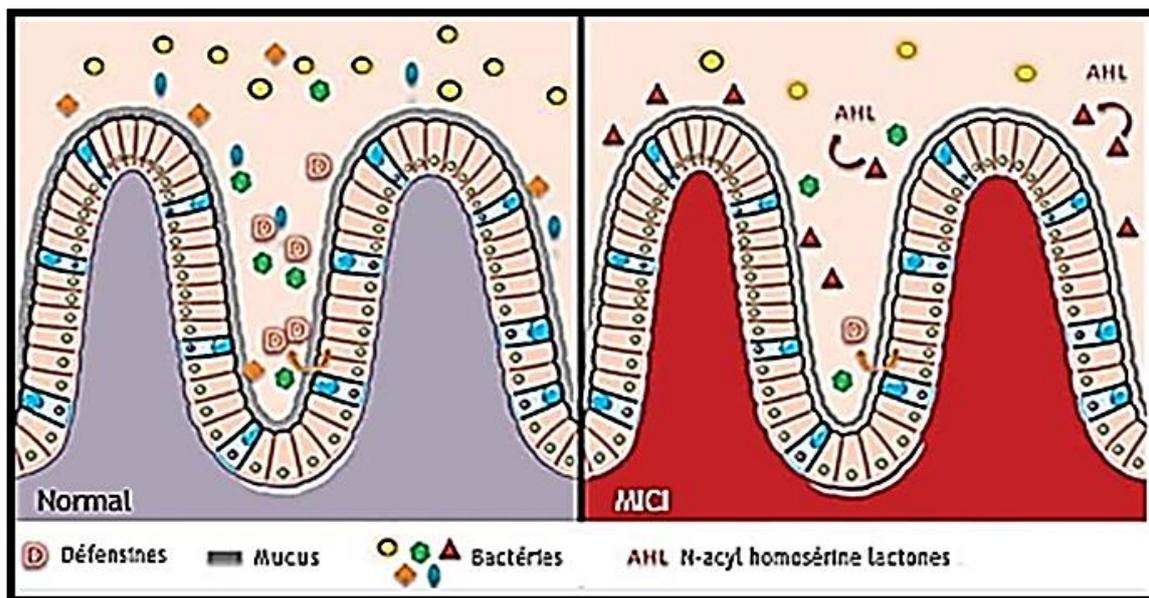


Figure 08 : Dysbiose et les modifications du contenu luminal chez les patients atteints des MICI (Quévrain et al., 2011).



Chapitre II
Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Mycologie et de Biotechnologie végétale et ethnobotanique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia, pendant une période allant du mois d'avril au mois de juillet.

I. Matériel

I.1 Matériel analytique

L'appareillage, Les milieux de culture et les solutions utilisés dans ce travail sont résumés dans les annexes I, II et III.

I.2 Matériel végétal

Le présent travail a été porté sur la partie aérienne de deux plantes médicinales *Moringa oleifera* et *Ephedra alata* (Figure 9).

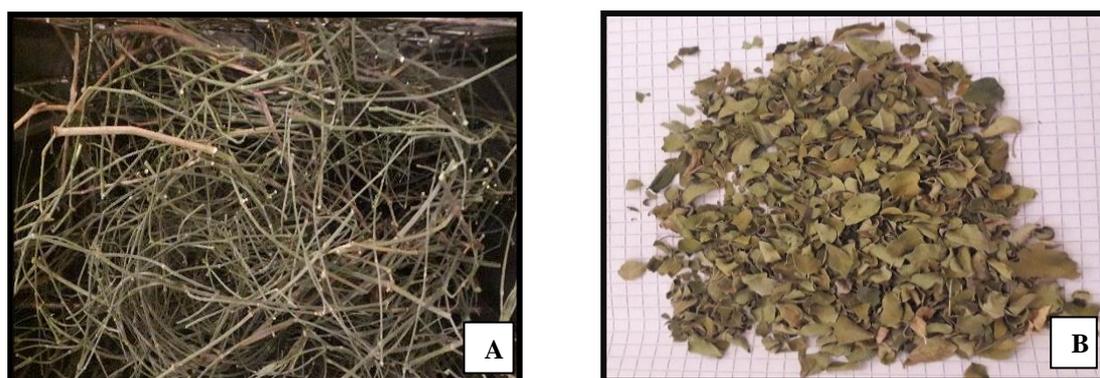


Figure 09 : Photographie des rameaux et des feuilles d'*Ephedra alata* (A) et des feuilles de *Moringa oleifera* (B).

I.2.1 Récolte

Les deux plantes qui ont fait l'objectif de cette étude ont été récoltées dans deux régions différentes :

- *Ephedra alata* a été récoltée dans la région d'Aoukas Bejaia durant la période du mois de mars 2021. Les rameaux et les feuilles d'*Ephedra alata* ont été séchés à l'air libre, à température ambiante et à l'ombre de la lumière.
- *Moringa oleifera* a été récoltée dans la région de Oued souf (Sahara) et commercialisée sous forme de feuilles, fabriquée en Algérie par E.U.R.L phyto herbes.

I.2.2 Broyage

Les feuilles de *M. oleifera*, les rameaux et les feuilles d'*E. alata* ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre qui a été conservée dans un bocal en verre à l'abri de la lumière et à température ambiante jusqu'à leur utilisation.

I.3 Les souches cibles testées

Les souches bactériennes cibles utilisées dans ce travail sont des souches de références ATCC, souches cliniques et souches multirésistantes aux antibiotiques faisant partie de la collection du laboratoire de Mycologie de la Faculté d'Abderrahmane Mira de Bejaia et du laboratoire d'analyse médicale MOUALEK (Tableau V).

Tableau V : Références et origines des souches bactériennes utilisées.

	Souches	Code	Origine
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	/	Clinique
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Référence
	<i>Staphylococcus aureus</i>	LGA 251	Multirésistante (SARM)
	<i>Streptococcus D</i>	/	Clinique
Gram-	EPEC II	/	Clinique (Enteropathogène)
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Référence
	<i>Escherichia coli</i>	13	Clinique (Biofilm)
	<i>Escherichia coli</i>	O29 mcr 1	Multirésistante (Résistante à la colistine)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Référence
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	71	Clinique (Biofilm)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	893	Clinique et multirésistante
	<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 14035	Référence
	<i>Salmonella enterica Typhi</i>	ATCC 14028	Référence

I.4 Model animal

L'étude *in vivo* a été menée sur des souris de souches BALB/c dont 15 femelles et 15 mâles ayant un poids variant entre 21 et 31g, obtenues de l'institut Pasteur d'Alger.

Les souris ont été acclimatées aux conditions favorables d'élevage au sein de l'animalerie de l'université A. Mira de Bejaia avant leurs utilisations. Elles ont été logées dans des cages en polypropylène (6 souris par lot dont 3 femelles et 3 mâles) (Figure 10), où elles ont libre accès à la nourriture (granules d'aliment) provenant de l'Office National des Aliments de Bétail (ONAB) et à l'eau du robinet avec un cycle lumière-obscurité de 12h.



Figure 10 : Photographie des souris BALB/c.

II. Méthodes**II.1 Extraction éthanolique**

Afin d'extraire les principaux composés phytochimiques des plantes testées, une extraction par soxhlet (solide/liquide) a été utilisée, avec un solvant polaire (l'éthanol à 96%). Une quantité de 20g de poudre végétale de chaque plante a été extraite par percolation avec 250 mL d'éthanol jusqu'à l'épuisement total (Figure 11).

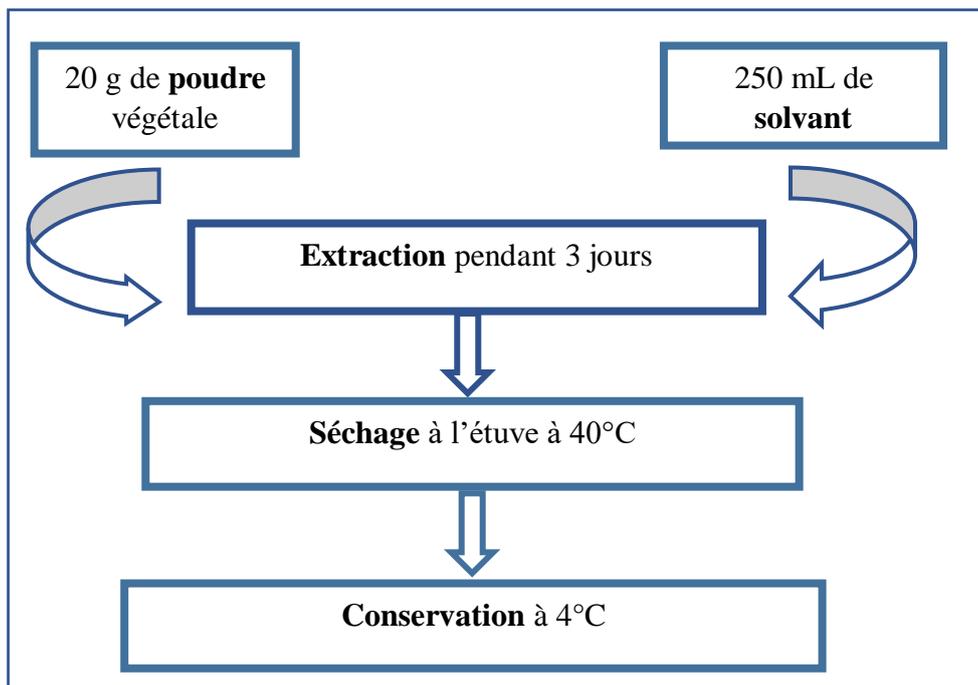


Figure 11 : Protocole d'extraction éthanolique (Pal et al., 1994).

II.1.1 Le rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre le poids de l'extrait obtenu après extraction et le poids de la poudre utilisée. Le taux d'extraction des extraits est exprimé par la formule suivante (Okou et *al.*, 2018).

$$R (\%) = M1.100/M0$$

R (%) : Rendement d'extraction en pourcentage.

M1 : Masse de l'extrait en gramme.

M0 : Masse de la poudre végétale en gramme.

II.2 Étude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques étudiés a été évaluée par deux techniques : la technique de diffusion sur milieu solide (Test des puits) et la technique de micro-dilution sur milieu liquide (CMI), avec trois répétitions pour chaque méthode.

II.2.1 Méthode des puits

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture fraîche de 18h à 24h, quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur, et mises en suspension dans un tube de 9 mL d'eau physiologique. Après homogénéisation, la suspension obtenue a été standardisée à l'aide d'un spectrophotomètre (Vis-723G) pour une DO de 0.08 à 0.1 à 625 nm correspondant à 10^8 UFC/mL.

- **Ensemencement**

Des boîtes de Mueller-Hinton molle (1% d'agar) d'une épaisseur de 4 mm ont été ensemencées par écouvillonnage.

- **Formation des puits**

- A partir des boîtes préalablement ensemencées, des puits de 6 mm de diamètre ont été formés. Et une goutte de gélose blanche a été déposée au fond du puit.
- Les puits ont été remplis par un volume de 70 μ L d'extraits déjà préparés de différentes concentrations en utilisant comme diluant eau/éthanol (V/V): C1:100 mg/mL, C2:50 mg/mL et C3:25 mg/mL.
- Des puits contenant le mélange eau/éthanol ont été utilisés comme témoin négatif.
- Un antibiotique a été déposé dans chaque boîte comme témoin positif (Céftazidime CAZ).
- Les boîtes ont été laissées à 4⁰C pendant 2h pour une pré-diffusion des extraits dans la gélose puis incubées à 37⁰ C pendant 24h.
- La lecture a été faite par la mesure des zones d'inhibitions autour des puits (Nathan et al.,1978).

II.2.2 Méthode de micro-dilution sur milieu liquide

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance bactérienne visible à l'œil nu, après un temps d'incubation de 18 à 24h (Martini, 1998). La méthode de micro-dilution sur milieu liquide (BMH) a été utilisée dans des microplaques à fond incurvé de 96 puits.

Les étapes du protocole se résument comme suit (Figure 12) :

- **Préparation de la microplaque**

Un volume de 50 µL de bouillon Mueller-Hinton (MHB) a été distribué dans les 96 cupules.

- **Dilution**

Afin d'obtenir des concentrations décroissantes des extraits éthanoliques, 50 µL d'une solution mère (100 mg /mL) de chaque extrait ont été prélevés puis mélangés aux 50 µL de MHB contenus déjà dans la première cupule. Ensuite, 50 µL du contenu de la première cupule ont été prélevés puis déposés dans la cupule adjacente et ainsi de suite.

Une rangée de cupules ne contenant que du MHB a été utilisée comme contrôle négatif afin de vérifier la pureté du bouillon.

Une autre rangée de cupules contenant le mélange eau/ éthanol a été utilisée comme contrôle négatif.

- **Ensemencement**

A partir de l'inoculum standardisé à 10^7 UFC/mL, 50 µL ont été déposés dans toutes les cupules de la microplaque.

Une rangée de cupules ne contenant que du MHB a étéensemencée et utilisée comme contrôle positif.

- **Incubation**

Incubation de la microplaque à 37°C/ 18-24h.

- **Lecture**

Après incubation, les CMI correspondent à la concentration du premier puit à partir duquel aucun trouble à l'œil nu n'a été observé.

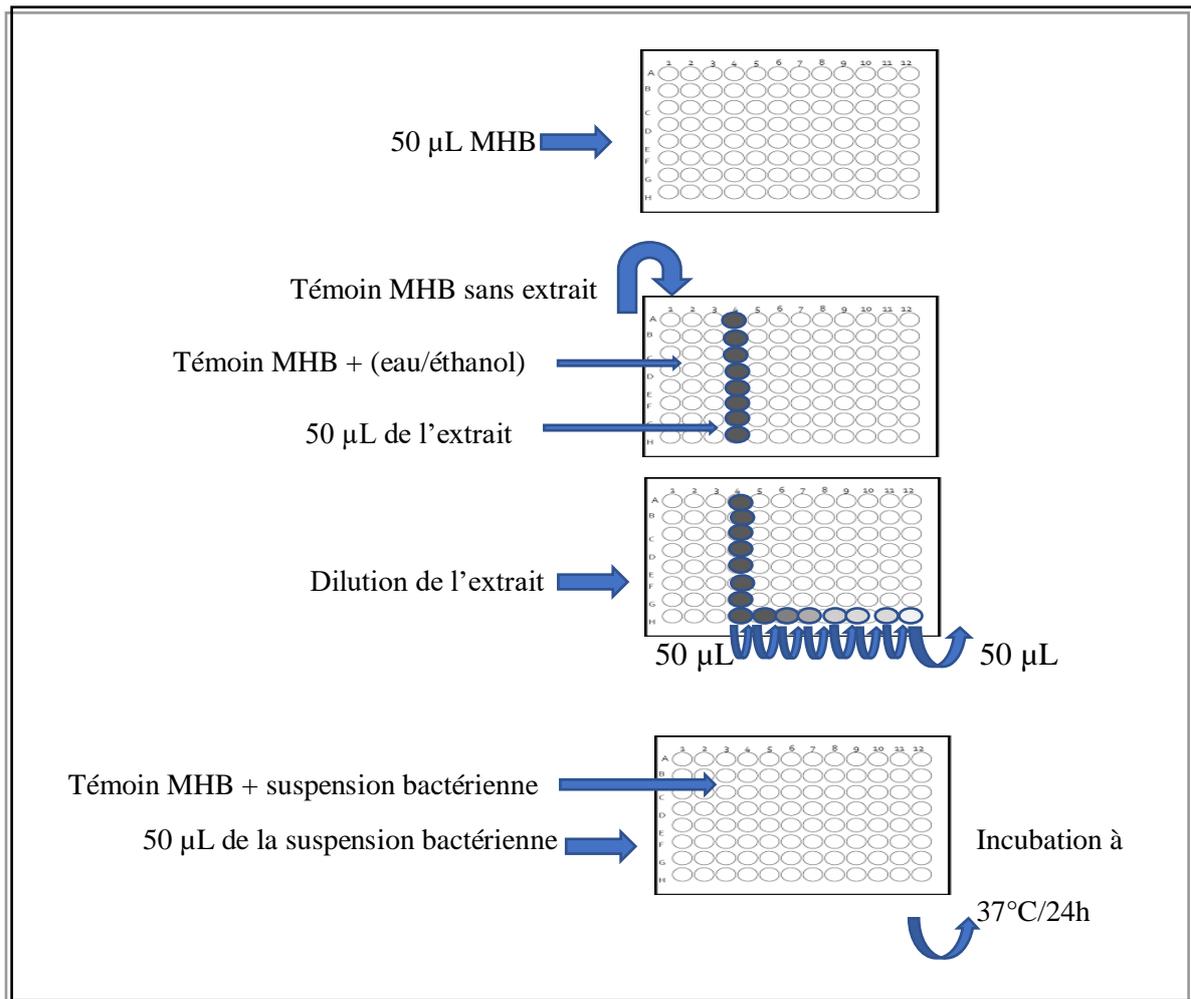


Figure 12 : Détermination des CMI par la méthode de micro-dilution sur microplaque.

II.3. Etude de l'activité anti-biofilm

La détection de l'activité antibiofilm se fait en plusieurs étapes selon un protocole bien établi en utilisant des microplaques contenant 96 puits (Figure 13). L'étude est basée sur les biofilms qui peuvent se former à l'interface solide-liquide et par l'addition de différentes concentrations d'extraits éthanoliques des deux plantes, qui pourraient éventuellement avoir un effet anti-biofilm. Les bactéries utilisées pour cette technique sont une souche clinique préalablement productrice de biofilms *K.pneumoniae* 71, et une souche de référence *K.pneumoniae* ATCC 700603.

Jour 1 :

- Une colonie de chaque souche bactérienne testée a été inoculée dans 10 mL de MHB additionné à 2,5 % de glucose (MHBG), pour favoriser la formation du biofilm puis incubés à 37°C/24h.
- Un tube ne contenant que MHBG a été utilisé comme témoin négatif.

Jour 2 :

- Les 96 puits de la microplaque ont été remplis avec 200 µL de la suspension bactérienne standardisée à 10⁸ UFC/mL.
- Un volume de 50 µL a été prélevé pour les différentes concentrations (100 mg/mL, 50 mg/mL et 25 mg/mL) de chaque plante et mélangé aux 200 µL du MHBG contenant dans chaque cupule puis incubé à 37°C/24h.
- Une rangée ne contenant que MHBG a été utilisée comme témoin négatif.
- Une autre rangée ne contenant que le MHBG + l'inoculum sans extrait a été utilisée comme témoin positif.

Jour 3 :

- Le liquide contenu dans la microplaque a été retiré, puis les cupules ont été lavées trois fois avec 350 µL d'eau distillée afin d'éliminer les cellules non adhérentes.
- La microplaque a été incubée à 60°C/45 minutes pour fixer le biofilm formé.
- Les cupules ont été remplis avec 200 µL d'une solution aqueuse de cristal violet à 0,2% et laisser pendant 15 minutes à température ambiante.
- Un rinçage à l'eau distillée a été réalisé 3 fois pour éliminer le cristal violet non lié.
- Le cristal violet fixé sur les parois des cupules, a été solubilisé avec 150 µL d'éthanol à 96 %.
- La densité optique (DO) de toutes les cupules est déterminée par un lecteur de microplaque BioTeK à une longueur d'onde de 630 nm (Driche et al., 2017).

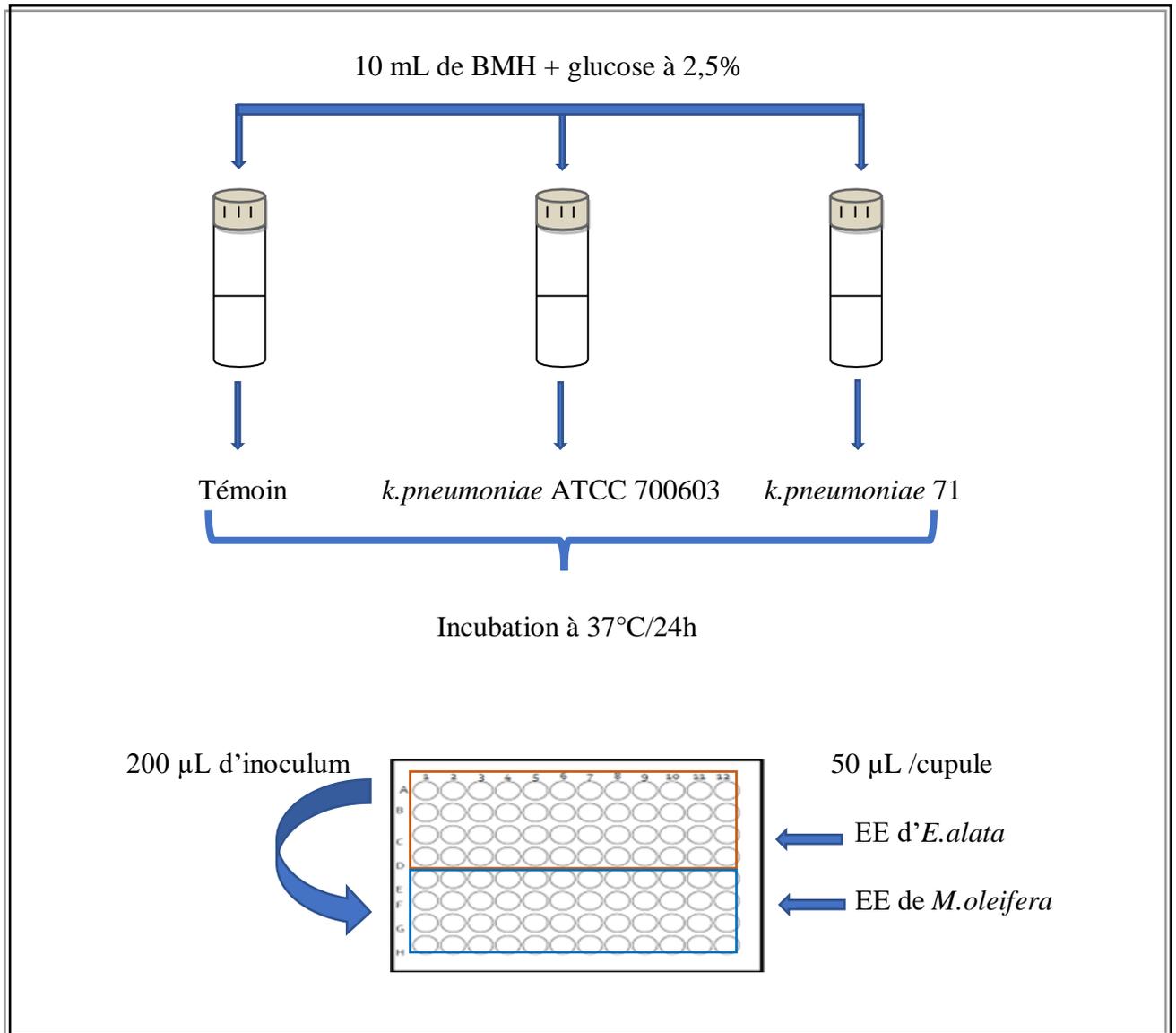


Figure 13 : Protocole de la technique de quantification des biofilms sur microplaque.

(Driche et al., 2017)

II.4 Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale d'*Ephedra alata*

II.4.1 Test de la toxicité aiguë

Pour vérifier la toxicité de l'extrait éthanolique d'*E. alata*, différentes doses (100 mg/kg, 500 mg/kg et 1000 mg/kg) ont été administrées par voie orale chez des souris BALB/c qui ont été réparties en 4 lots (3 souris pour chaque lot). Un lot témoin n'a reçu que l'eau distillé.

Les souris ont ensuite été surveillées pendant 2 heures en vue de révéler le moindre changement comportemental ou physiologique, puis une observation continue une fois par jour pendant les 6 jours pour détecter les signes de toxicité de l'extrait : changement du poids corporel, mortalité, hyperactivité, diarrhée, sommeil et coma.

II.4.2 Étude de l'effet de l'extrait éthanolique de *Ephedra alata*

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire intestinale de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata*, une inflammation colique a été provoquée chez des souris de BALB/c selon le protocole de Martelli et ses collaborateurs en 2007.

II.4.2.1 les groupes de souris

Les souris ont été réparties en 5 lots contenant chacun 6 souris (3 femelles/3 mâles) et misent à jeun pendant 16h avant l'expérimentation.

Lot témoin : n'ont rien reçu (témoin négatif).

Lot 1 : ont reçu 50 µL d'acide di nitrobenzène sulfonique (DNBS) (témoin positif).

Lot 2 : ont reçu 50 µL de DNBS et 50 µL de la dose de 50 mg /kg d'extrait éthanolique (EE).

Lot 3 : ont reçu 50 µL de DNBS et 50 µL de la dose de 100 mg/kg d'EE.

Lot 4 : ont reçu 50 µL de DNBS et 50 µL de la dose de 200 mg/kg d'EE.

II.4.2.2 Induction de l'inflammation colique par le DNBS

- Une anesthésie légère avec le diéthyl-éther a été réalisée pour les 4 lots afin d'administrer 50 µL de DNBS (dilué dans une solution de 50% éthanol / 50% eau distillée) par voie rectale à l'aide d'une seringue doté d'une sonde, qui déclenche une inflammation transmurale (assimilée à la maladie de Crohn).

- Les souris ont été ensuite maintenues dans une position de tête vers le bas pendant 30 secondes pour éviter l'expulsion de la solution du DNBS.
- Après 2h d'injection du DNBS, 50 µl de différentes doses d'extrait (50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg) ont été administrés quotidiennement par gavage (voie orale) pendant 6 jours (Figure 14, 15).

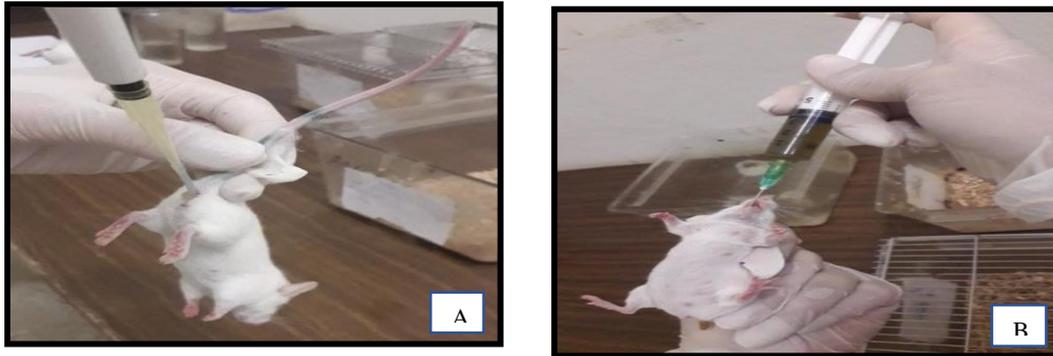


Figure 14 : Photographie de l'administration du DNBS par voie rectale (A) et l'administration de l'extrait éthanolique par voie orale (B).

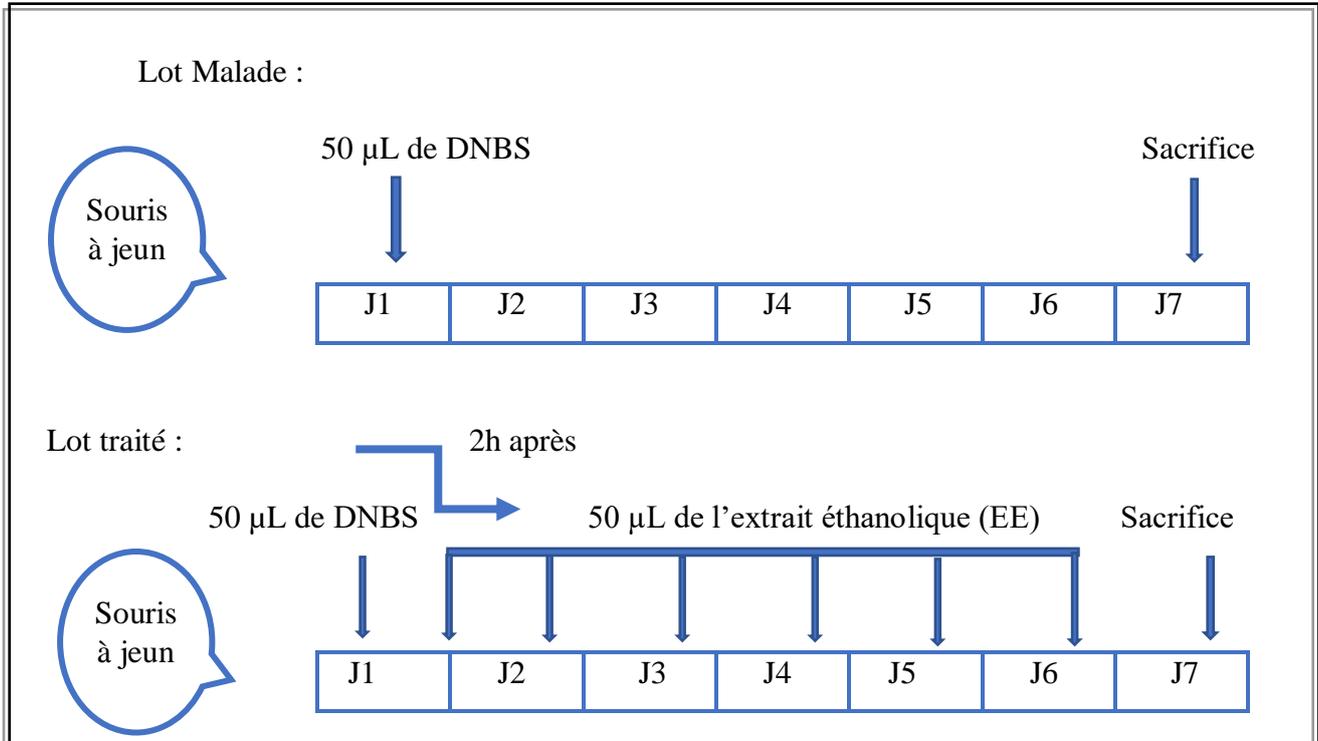


Figure 15 : Protocole expérimental d'induction de la colite chez les souris par DNBS (lot malade) et d'un traitement par l'EE d'*Ephedra alata* pendant 6 jours (Martelli et al., 2007).

II.4.2.3 Evaluation des dommages causés par DNBS

L'indice d'activité de la maladie (DAI) a été enregistré quotidiennement en observant les changements du poids corporel, la consistance des selles et les saignements. Chaque score a été déterminé selon la méthode de Cooper et *al.* (1993).

Après 6 jours de traitement, les souris ont été anesthésiées et sacrifiées. Les colons ont été collectés, rincés doucement avec l'eau distillée, pesés et mesurés. La longueur du côlon est mesurée en centimètres entre la jonction iléo-caecale et le rectum proximal, et son poids est mesuré en milligrammes.

II.5 Analyse statistique

Les données de l'étude de l'activité anti-inflammatoire sont présentées par graph pad comme moyenne \pm SEM. Les analyses ont été faites grâce au test ANOVA, suivant le test de Dunnett, utilisé afin de comparer les valeurs des groupes traités aux valeurs du groupe contrôle (malade), avec des significations statistiques de * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, et (#) (non significatif), utilisant un effectif de (n=6).

A decorative border in a dark blue color, resembling a scroll or a ribbon, framing the text. It has rounded corners and small circular motifs at the top and bottom edges.

Chapitre III
Résultats et discussion

I. Résultats

I.1 Le rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des deux plantes sont rapportés dans le Tableau suivant :

Tableau VI : Taux d'extraction des deux plantes *Moringa oleifera* et *Ephedra alata*.

Solvant	Taux d'extraction (%)	
	<i>Ephedra alata</i>	<i>Moringa oleifera</i>
Ethanol (96%)	10,8 %	6 %

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique d'*E. alata* présente le rendement le plus élevé par rapport à *M. oleifera*.

Le rendement d'extraction est effectivement variable en fonction de l'espèce végétale, la partie utilisée, les conditions de séchage, la richesse et les métabolites de chaque plante. Il dépend aussi de la nature du solvant, de sa polarité et de la solubilité des composés phytochimiques dans le solvant d'extraction (Daoudi et al., 2015).

I.2 Etude de l'activité antibactérienne

I.2.1 Test des puits

Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont présentés dans le Tableau VII et illustrés dans les Figures (16, 17).

Tableau VII : Activité de l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera* et d'*Ephedra alata* sur plusieurs espèces bactériennes.

Espèces bactériennes	Diamètre des zones d'inhibition (mm)						Témoin
	Concentration des extraits (mg/mL)						
	<i>Moringa oleifera</i>			<i>Ephedra alata</i>			
	C1 :100 mg /mL	C2 :50 mg /mL	C3 :25 mg/mL	C1 :100 mg/mL	C2 :50 mg/mL	C3 :25 mg/mL	
<i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène II	(-)	(-)	(-)	25	18	14	(-)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Escherichia coli</i> 13	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Escherichia coli</i> O29 mecr1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	(-)	(-)	(-)	20	14	13	(-)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 71	(-)	(-)	(-)	10	5	3	(-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 893	(-)	(-)	(-)	13	10	5	(-)
<i>Salmonella enterica</i> Typhi ATCC 14028	(-)	(-)	(-)	20	14	12	(-)
<i>Vibrio cholerae</i> ATCC 14035	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i> LGA 251	13	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	10	6	10	8	7	(-)
<i>Streptococcus</i> D	12	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(-) : Pas de zone d'inhibition.

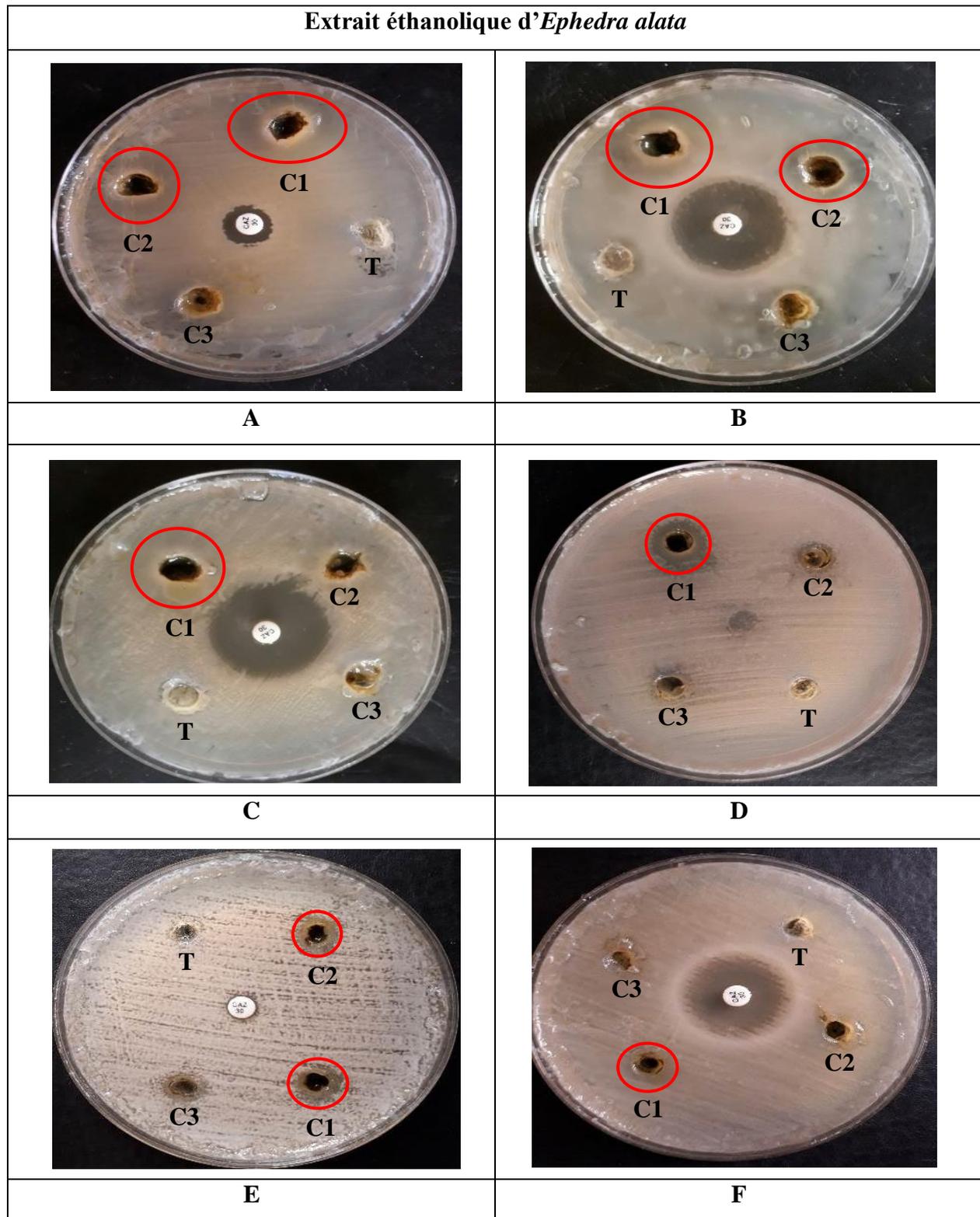


Figure 16 : Photographie des zones d'inhibition obtenus par l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata* sur *S.Typhi* ATCC 14028 (A), *K.pneumoniae* ATCC 700603 (B), EPEC II (C), *P.aeruginosa* 893 (D), *S.aureus* (E) et *K.pneumoniae* 71 (F), C1: 100 mg/mL, C2: 50 mg/mL, C3: 25 mg /mL, T: témoin.

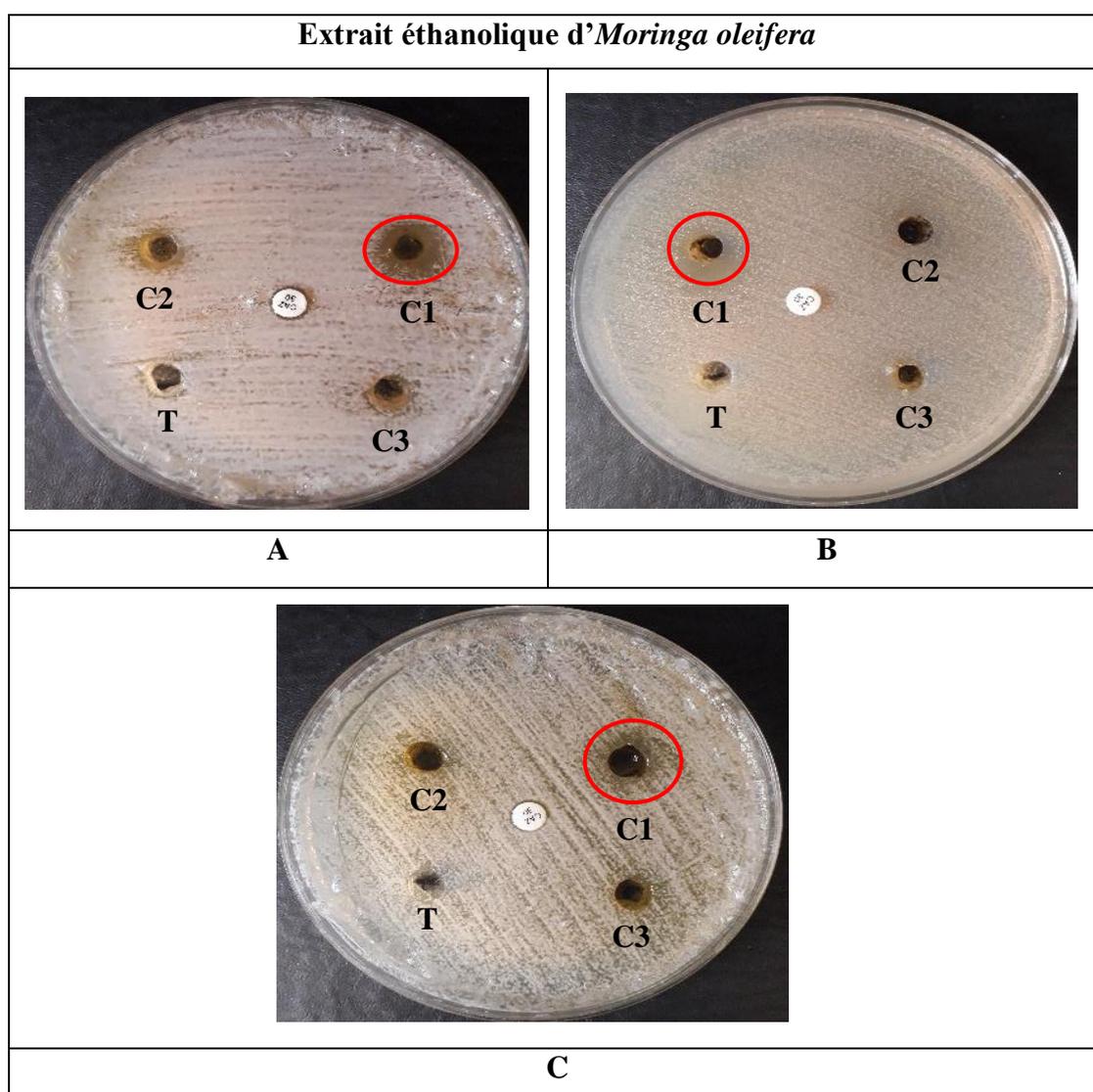


Figure 17 : Photographie des zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera* sur *S.aureus* (A), *S.aureus* LGA 251 (B) et *Streptococcus* D (C), C1: 100 mg/mL, C2: 50 mg/mL, C3: 25 mg /mL, T: témoin.

I.2.2 Test de micro-dilution sur milieu liquide

Les résultats de la détermination des CMI des extraits éthanoliques par la technique de micro-dilution sur milieu liquide (MHB) ont montré que les souches cibles étaient relativement sensibles aux extraits des deux plantes (*M. oleifera* et *E. alata*), les résultats sont résumés dans le Tableau VIII et les Figures (18, 19).

Tableau VIII : Résultats des CMI d'extrait éthanolique d'*Ephedra alata* et *Moringa oleifera*.

Espèces bactériennes	CMI (mg /mL)	
	EEE	EEM
EPEC II	12,5	12,5
<i>E.coli</i> 13	12,5	25
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12,5	12,5
O29 mecr1	12,5	12,5
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603	6,25	6,25
<i>K.pneumoniae</i> 71	25	6,25
<i>P.aeruginosa</i> 893	25	12,5
<i>S.Typhi</i> ATCC 14028	25	12,5
<i>V.cholerae</i> ATCC 14035	25	12,5
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	12,5	6,25
<i>S.aureus</i> LGA 251	12,5	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	25

EEE : Extrait éthanolique d'*Ephedra alata* ; **EEM** : Extrait éthanolique de *Moringa oleifera*.

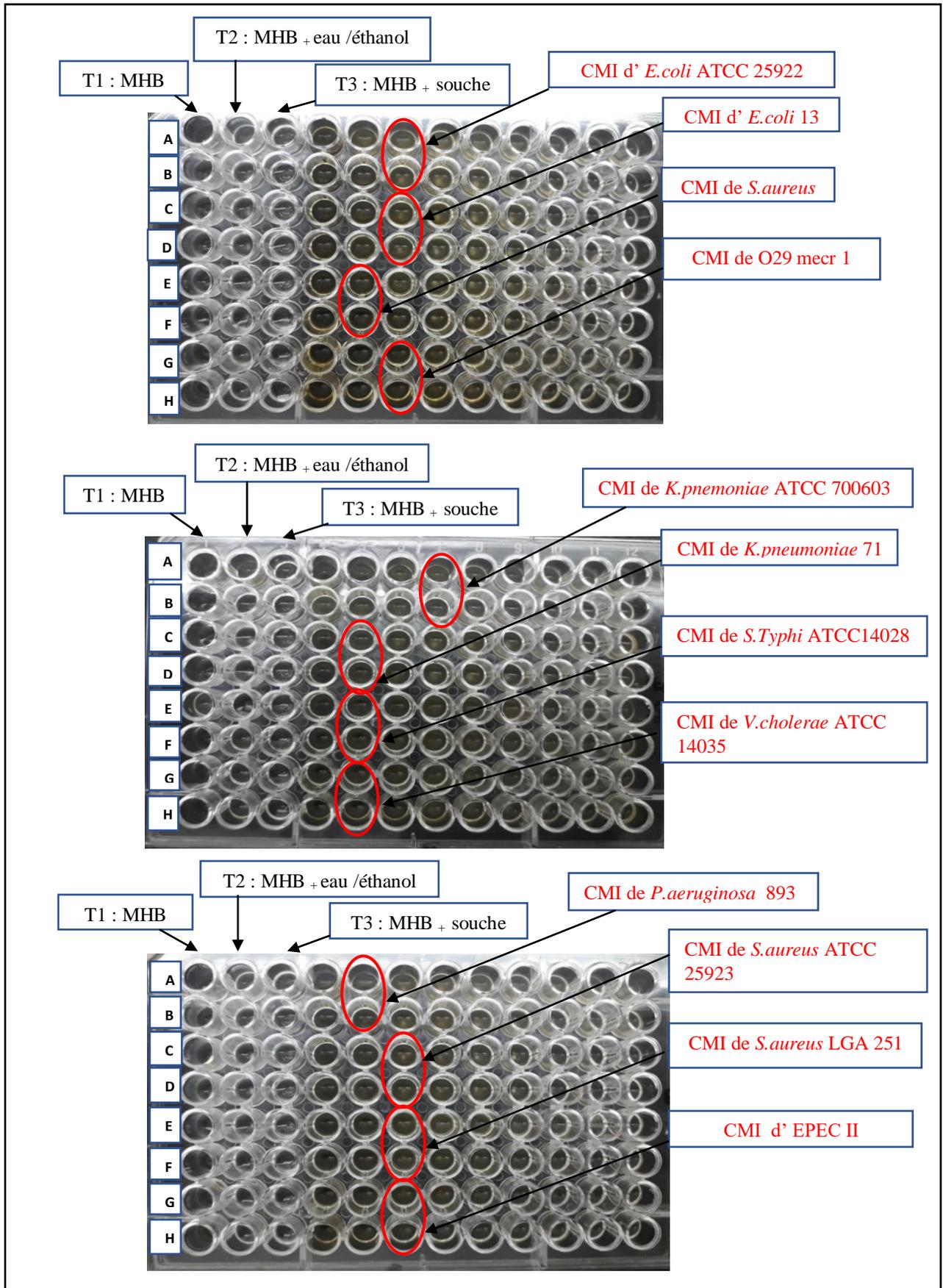


Figure 18 : Photographie des résultats des CMI de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata*.

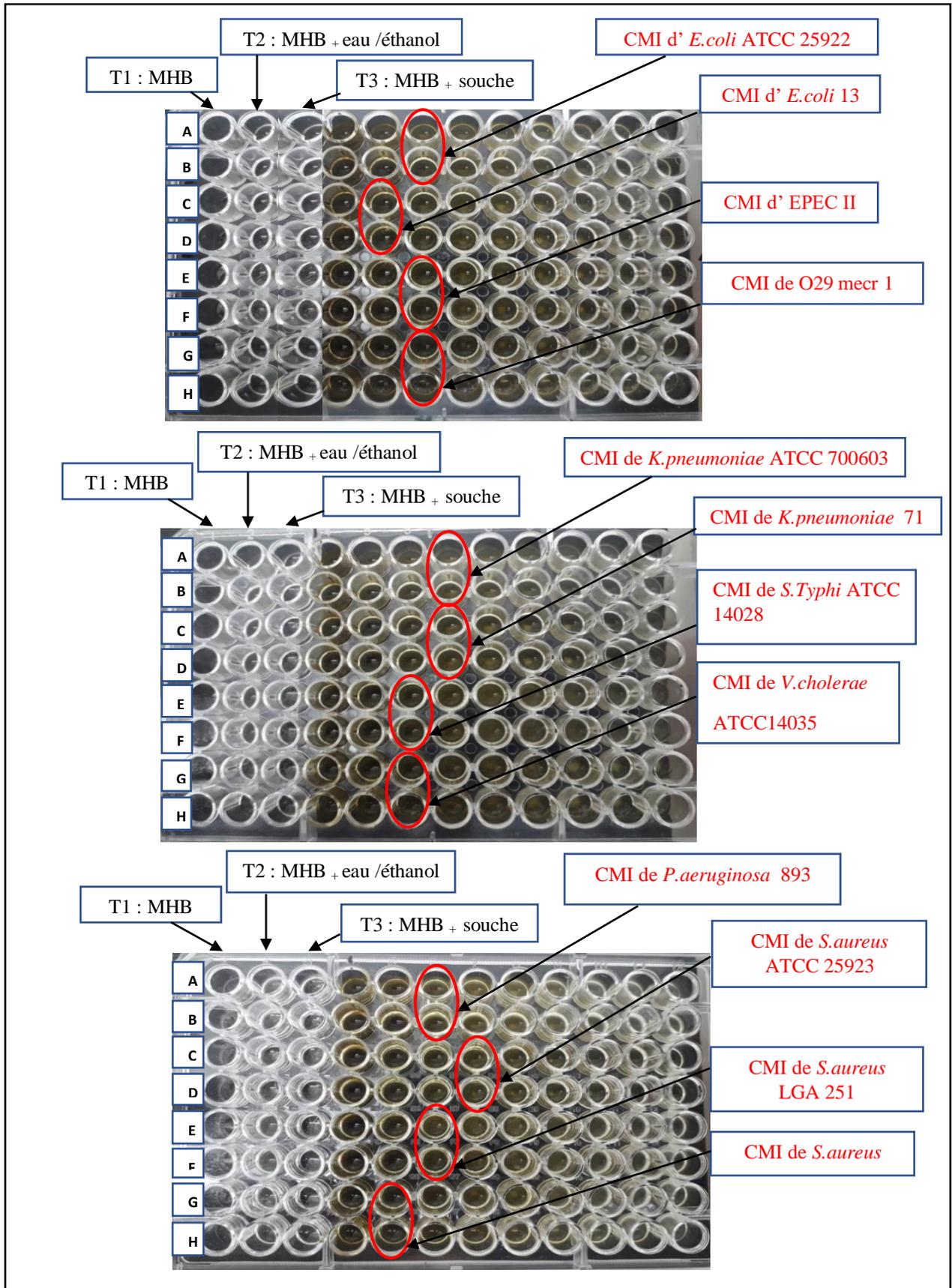


Figure 19 : Photographie des résultats des CMI de l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera*.

I.3 Etude de l'activité antibiofilm

I.3.1 Formation de biofilm

La capacité à former un biofilm a été testée pour une souche clinique *K.pneumoniae* 71, et une souche de référence *K.pneumoniae* ATCC 700603. Les absorbances indiquant la formation de biofilms ont été mesurées après coloration au cristal violet par le lecteur de microplaque (BioTeK). La souche *K.pneumoniae* ATCC 700603 a donné le meilleur résultat, les résultats de la formation de biofilm sont résumés dans la (Figure 20) et le Tableau IX :

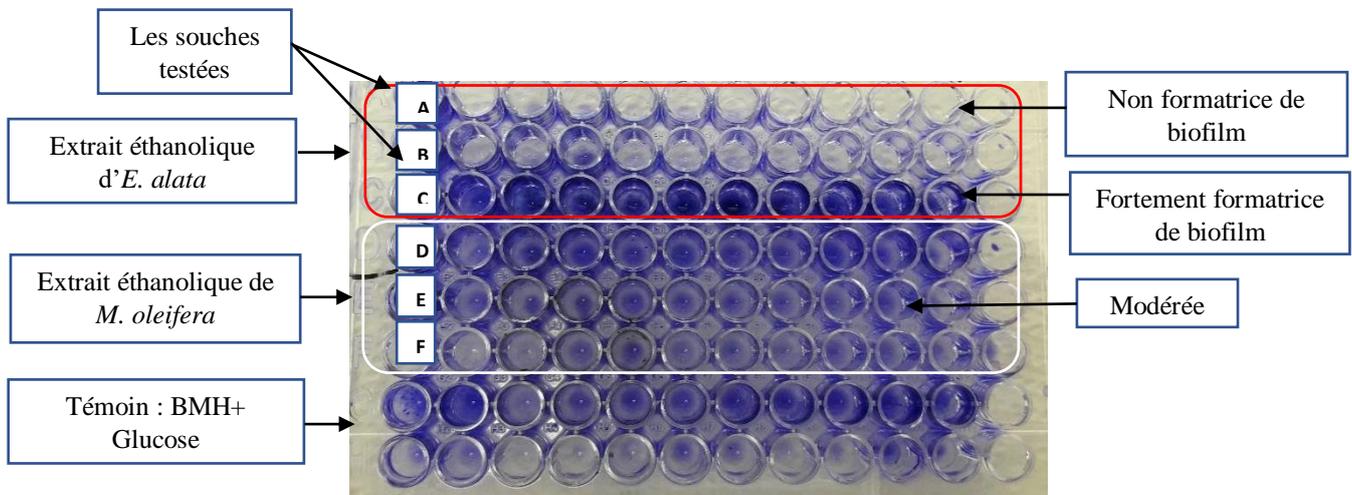


Figure 20 : Microplaque du biofilm : A+D : *K.pneumoniae* ATCC 700603 ; B+E : *K.pneumoniae* 71.

Tableau IX : Résultats du test de formation de biofilm pour les souches *K.pneumoniae* ATCC 700603, *K.pneumoniae* 71.

Souches		
	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 70063	<i>K.pneumoniae</i> 71
DO (à 630 nm)	0,87	0,28

I.3.2 Activité antibiofilm de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata*

D'après les résultats obtenus, il est clairement remarqué une diminution de la formation des biofilms par les souches cibles (*K.pneumoniae* ATCC 700603 et *K.pneumoniae* 71). En effet, la réduction de la formation de biofilms augmente avec l'augmentation des concentrations de l'EE d'*E. alata* (25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL) (Figure 21).

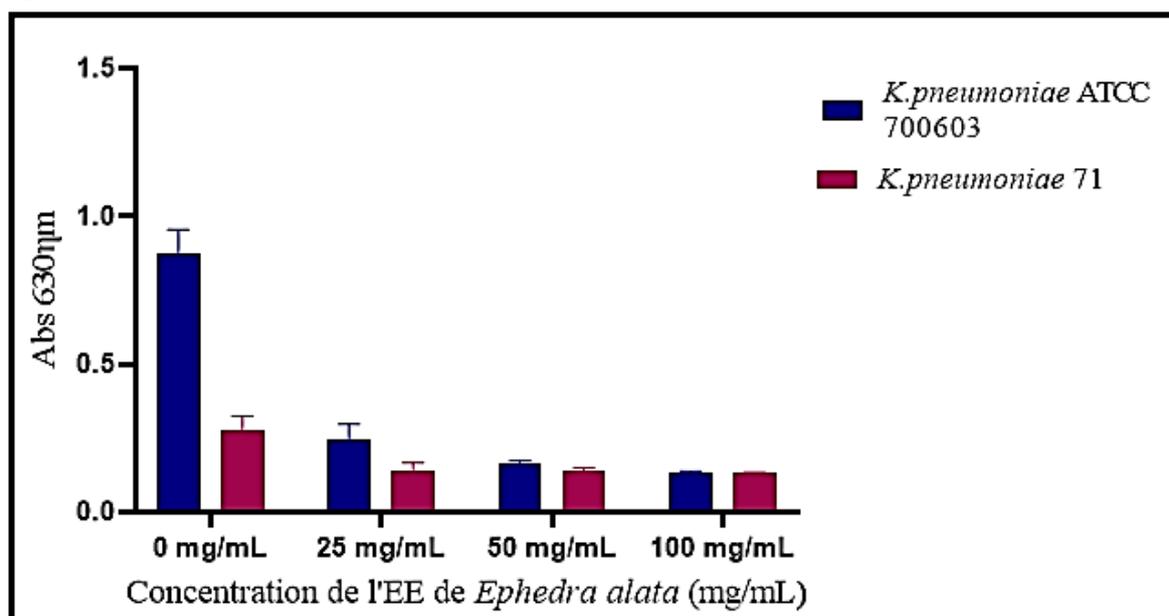


Figure 21 : Effet de l'EE d'*Ephedra alata* sur les biofilms formés.

Le taux de réduction de formation de biofilm pour *K.pneumoniae* ATCC 700603 aux concentrations (25 mg/mL, 50 mg/mL et 100 mg/mL) est de (71%, 81% et 85%) respectivement et pour la souche *K.pneumoniae* 71 est de (49%, 51% et 53%).

I.3.3 Activité antibiofilm de l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera*

De même pour l'EE de *M. oleifera*, une diminution de la formation des biofilms par les souches cibles (*K.pneumoniae* ATCC 700603, *K.pneumoniae* 71) a été observé avec l'augmentation des concentrations de l'extrait (25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL) (Figure 22).

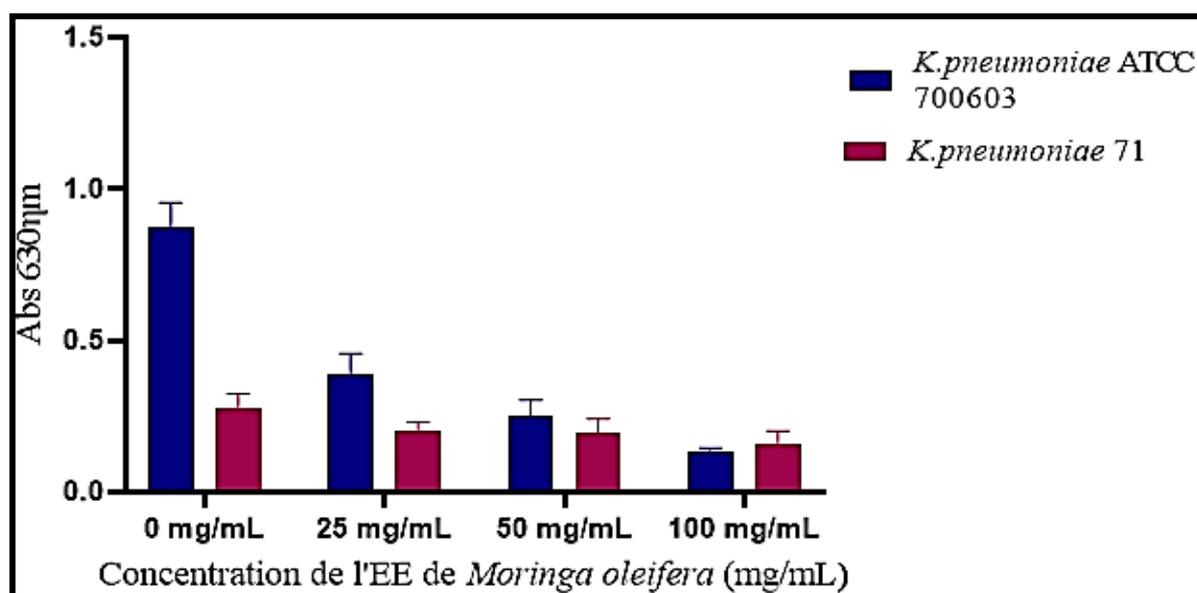


Figure 22 : Effet de l'EE de *Moringa oleifera* sur les biofilms formés.

Le taux de réduction de formation de biofilm pour *K.pneumoniae* ATCC 700603 aux concentrations (25 mg/mL, 50 mg/mL et 100 mg/mL) est de (55%, 71% et 85%) respectivement et pour la souche *K.pneumoniae* 71 est de (28%, 29% et 43%).

I.4 Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale

I.4.1 Étude de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë de l'extrait éthanolique d'*E.alata* a été évaluée sur les souris BALB/c réparties en 4 lots. Aucun signe de toxicité comme le changement de comportement et de mortalité n'ont été observés pour les doses (100 mg/kg, 500 mg/kg et 1000 mg/kg). D'après ces résultats l'extrait éthanolique d'*E.alata* n'est pas toxique à ces différentes concentrations.

I.4.2 Etude de l'effet de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata*

I.4.2.1 Résultats de l'indice d'activité de la maladie et du rapport poids/longueur

Les résultats ont révélé que le DNBS a provoqué une augmentation importante du DAI (indice d'activité de la maladie), avec des signes cliniques typiques, notamment : la diarrhée, diminution de la consommation d'eau et de la nourriture et la perte de poids corporel. Un cas de mortalité a été signalé au sein du lot malade. D'autre part, le traitement avec les doses (50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg) de l'extrait éthanolique d'*E.alata* ont montré une réduction significative du DAI, du poids du côlon et l'amélioration de la longueur de ce dernier (Figure 23).

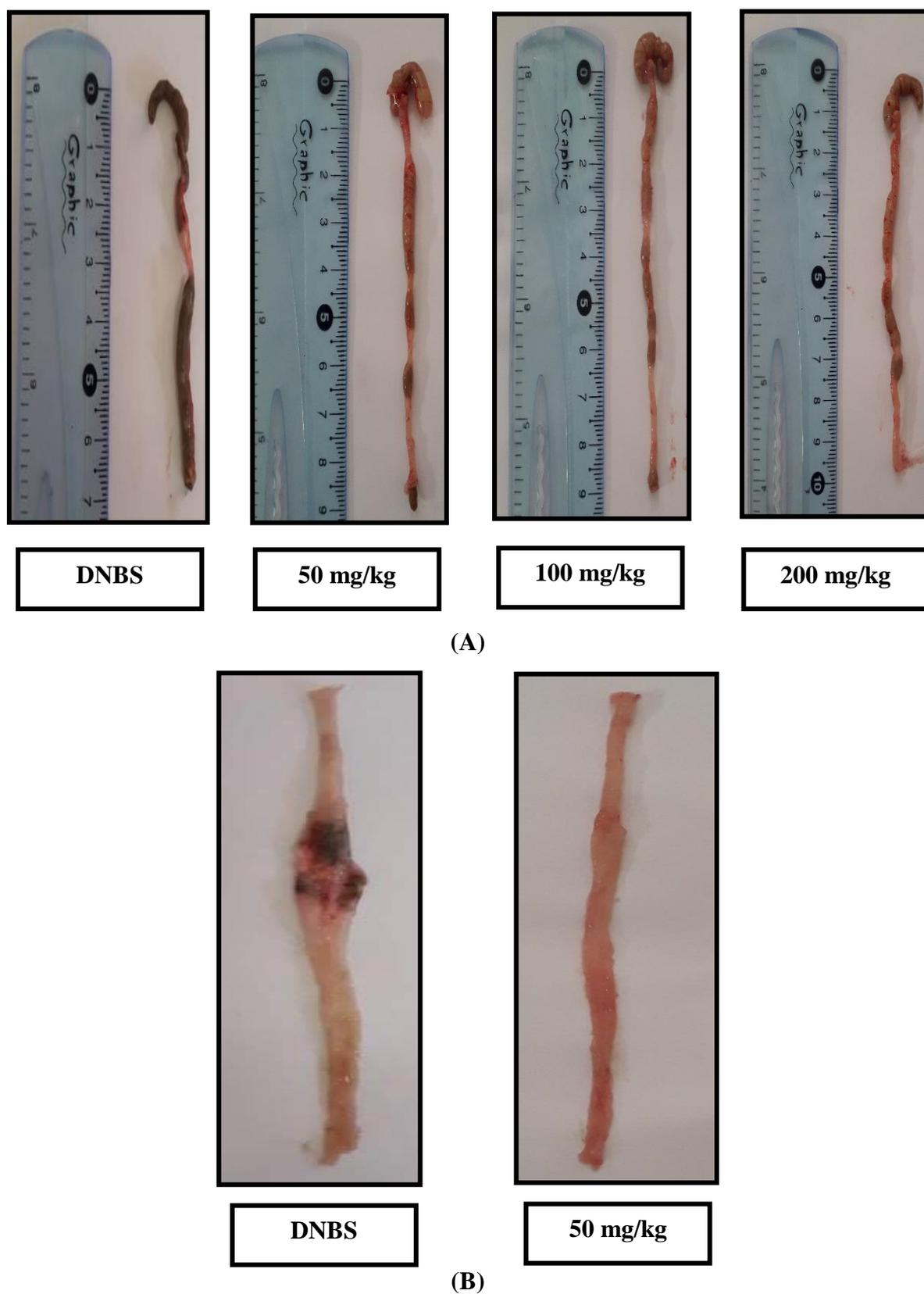


Figure 23 : Photographie de la longueur des différents côlons des lots (A) et l'aspect de l'inflammation intestinale des colons chez des souris expérimentales colitiques (B).

Le rapport P/L du côlon est considéré comme un indicateur direct de la gravité et de l'étendue de l'inflammation intestinale (Sotnikova et al., 2013). Les résultats montrent que le groupe malade (DNBS) avait le plus grand rapport moyen P/L du côlon comparé au groupe témoin et aux groupes traités avec les différentes doses de l'extrait éthanolique. Les doses 50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg ont un rapport P/L plus faible par rapport au groupe DNBS et la différence est significative, la dose 100 mg/kg donne un meilleur effet que les doses 50 mg/kg et 200 mg/kg, ce qui implique une possibilité de diminution et guérison des maladies inflammatoires intestinales.

L'administration de l'EE d'*E. alata* a réduit le rapport P/L d'une manière très significative $p < 0.01$ à la concentration 100 mg/kg, les valeurs de ce dernier à des niveaux plus ou moins similaires à ceux des souris dans le groupe normal (non malade) (Figure 24).

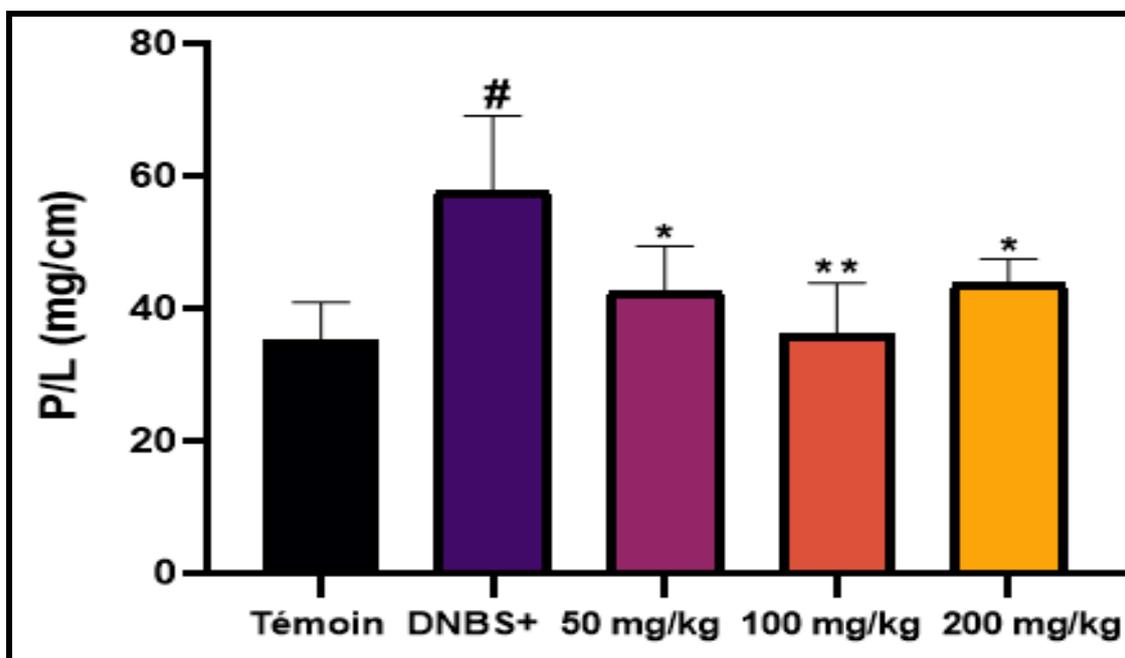


Figure 24 : Effet de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata* (50, 100 et 200 mg/kg) sur l'évolution du rapport P/L des souris en mg/cm dans un modèle de souris colitique induite par DNBS. Les données sont exprimées en moyen \pm SEM (n = 6). Les groupes avec différentes lettres DNBS+ (groupe malade) ; Témoin (control négatif) ; groupe traitée (50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg), statistiquement (*P < 0,05 ; ** P < 0.01).

II. Discussion

Ephedra alata et *Moringa oleifera* sont connues pour leurs hautes valeurs nutritionnelles et médicinales. Elles sont utilisées dans le traitement de plusieurs maladies et ce en raison de leurs propriétés biologiques diverses parmi lesquelles des activités anti-inflammatoire, antifongiques, antibactériennes, antioxydantes, antidiabétiques et anticancéreuses (Peixoto et al., 2011 ; Sioud et al., 2020). En effet, *M. oleifera* est une plante largement disséminée en Algérie dont toutes les parties peuvent être utilisées y compris les feuilles, les fleurs, les graines, les gousses et les racines. Alors que, *E. alata* est plus fréquemment retrouvée au niveau des régions sub-sahariennes et dont les feuilles sont le principal point d'intérêt (Singh et al., 2009 ; García-Beltran et al., 2020 ; Tirado et al., 2020; González-Juárez et al., 2020).

A partir des feuilles de ces deux plantes, des extraits éthanoliques ont été obtenus. Ainsi, l'éthanol est considéré comme le solvant le plus efficace pour l'extraction de composés actifs des plantes en raison de sa polarité élevée, son faible coût et sa nature écologique. Il permet une meilleure solubilité des composés phytochimiques incluant les composés phénoliques y compris (les acides chlorogénique, ellagique, férulique, protocatechique, coumarique, caféique et salicylique), les flavonoïdes (dont la quercétine, le kaempférol, la rutine, l'apigénine, la catéchine, l'épicatéchine, l'isorhamnétine et la myricétine), les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les terpénoïdes (surtout les triterpènes), les stérols (β -sitostérol), les caroténoïdes, les coumarines, les anthraquinones, les anthocyanes et les proanthocyanines qui se sont avérés être les principaux métabolites secondaires responsables des activités biologiques attribuées à ces plantes dont l'activité antibactérienne (Abadallah et Ali, 2019 ; Abdallah et al., 2020 ; García-Beltran et al., 2020).

Dans notre étude, l'extrait éthanolique d'*E. alata* a montré une activité antibactérienne aussi bien sur les souches Gram positif que les Gram négatif. Toutefois, une meilleure activité antibactérienne à la concentration de 100 mg/mL a été enregistrée envers EPECII (zone d'inhibition maximale de 25 mm et une CMI de 12,5 mg/mL), suivies de *K. pneumoniae* ATCC 7000603 et de *S. Typhi* ATCC 14028 (zone d'inhibition 20 mm et d'une CMI de 6,25 mg/mL et de 25 mg/mL respectivement). Des études précédentes ont montré que l'extrait éthanolique (concentration 1 mg/mL) d'*E. alata* récoltée en Tunisie, de même

pour les extraits d'acétate d'éthyle (AcDET) et dichlorométhane (DCM) des feuilles d'*E. alata* de la région de Ouargla, avaient un meilleur effet inhibiteur vis-à-vis de *S.aureus* comparativement à *E.coli* et *P.aeruginosa* (Chebouat et al., 2014 ; Danciu et al., 2018).

En ce qui concerne l'extrait éthanolique de *M. oleifera*, le test des puits a permis de constater un effet antibactérien uniquement sur les souches Gram positif avec un meilleur effet vis-à-vis de *S.aureus* (clinique) (15 mm de diamètre). Ces résultats sont en accord avec les travaux menés par Pal et al. (1994) et Issa et al. (2021), qui ont trouvés des diamètres d'inhibition allant de 12 mm à 13 mm à la concentration 50 mg/mL et 100 mg/mL respectivement à l'égard de *S. aureus*. En revanche, nos résultats sont différents de ceux rapportés par Adouko et al. (2020), montrant que l'extrait éthanolique de *M. oleifera* originaire du Bénin était actif contre les souches d'*E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, et *S.Typhi*.

Notre étude sur l'activité antibiofilm a révélé un taux de réduction de la formation de biofilm de 85% pour la souche *K.pneumoniae* ATCC 700603 et de 53% et 43% pour la souche *K.pneumoniae* 71 avec les deux extraits éthanoliques à (100 mg/mL) d'*E. alata* et *M. oleifera* respectivement.

Selon Onsare et Arora. (2014), les extraits flavonoïdes du tégument de *M. oleifera* ont montré un effet antibiofilm potentiel contre la formation de biofilm de *P.aeruginosa*, *S.aureus* et *Candida albicans*. En outre, Dilawar et al. (2018) ont montré que les extraits de feuilles de *M. oleifera* présentent un effet antibiofilm plus puissant contre *E.coli* et *Bacillus subtilis* par rapport aux autres parties aériennes de la plante, avec un taux de réduction de 66,32% et 63,17% respectivement.

Les phytoconstituants de la plante sont responsables de l'inhibition du biofilm, comme les glycosides qui agissent en brisant les plus gros polysaccharides présents dans l'EPS en plus petites sous-unités monomériques. Les alcaloïdes et leurs dérivés perturbent les fimbriae et autres adhérences utilisées pour l'adhérence cellulaire et la formation de biofilm, tandis que l'acide tannique inhibe les systèmes de détection de quorum dans diverses bactéries Gram-négatif (Famuyide et al., 2019).

En Algérie il existe peu de travaux réalisés sur l'incidence des maladies inflammatoires chroniques intestinales. Les statistiques hospitalières étudiées font état d'une progression croissante de la maladie de Crohn plus fréquemment rencontrée, actuellement que la rectocolite hémorragique (Hodges et Kelly., 2020). Les malades porteurs de la maladie de Crohn notamment de siège iléo-caecal ou colique appartiennent au groupe de patients à risque élevé de développer un cancer colorectal (CCR). Il s'agit de patients qui ne sont pas soumis à une surveillance endoscopique régulière.

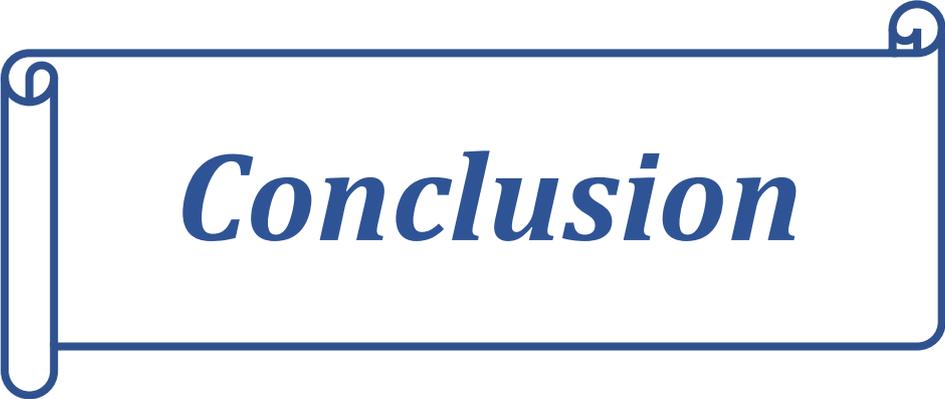
L'induction de la colite chez les souris BALB/c par la substance chimique DNBS est l'une des méthodes les plus utilisées pour étudier les modifications des maladies associées aux MICI (principalement la MC). Le DNBS provoque des signes cliniques similaires à la maladie de Crohn présente chez l'homme à savoir, une diarrhée sévère et parfois sanglante, une perte de poids, un accourcissement et un épaissement des parois tissulaires coliques (Morampudi et al., 2014).

D'après les résultats obtenus dans la présente étude, le traitement des souris malades par l'administration de l'extrait éthanolique d'*E. alata* à différentes concentrations (50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg) a produit un effet anti-inflammatoire traduit par une diminution du rapport P/L comparé au lot malade, avec effet très significatif à la dose 100 mg/kg. Ces résultats suggèrent que l'extrait éthanolique d'*E. alata*, exerce un effet anti-inflammatoire marqué dans la colite expérimentale en régulant l'expression des marqueurs pro-inflammatoires par ses composés phytochimiques.

Selon Bribi et al. (2016), le processus inflammatoire intestinal induit par le DNBS chez la souris était également caractérisé par une expression altérée des différents marqueurs coliques. Ainsi, une augmentation significative de l'expression de différentes cytokines pro-inflammatoires, dont l'IL-1 β , le TNF α , IL-6, IL-12 et de l'IL-17, a été obtenue en comparaison avec le groupe non colitique.

D'après Miao et al. (2020), les espèces d'*Ephedra* jouent un rôle important dans l'effet anti-inflammatoire, il peut considérablement réduire la quantité de leucocytes dans la zone inflammatoire pour exercer un effet anti-inflammatoire aiguë en inhibant la libération de médiateurs inflammatoire et en empêchant l'augmentation de la perméabilité capillaire.

Selon Ziani, et al. (2019), les composés phénoliques d'*E. alata* sont l'une des classes les plus importantes de composés phytochimiques qui possèdent un rôle protecteur contre les maladies dues aux dommages oxydatifs tels que le cancer.



Conclusion

Conclusion

A travers la présente étude qui a porté sur l'activité antibactérienne et antibiofilm *in vitro* des extraits éthanoliques d'*E. alata* et *M. oleifera* et l'étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale *in vivo* de l'extrait éthanolique d'*E. alata*, nous pouvons tirer un certain nombre de conclusions :

- Les extraits éthanoliques de deux plantes possèdent une activité antibactérienne avec une meilleure activité contre EPECII pour *E. alata* et seulement envers *S.aureus* et *Streptococcus D* pour *M. oleifera*.
- Les extraits éthanoliques de deux plantes présentent une activité antibiofilm non négligeable à une concentration de 100 mg/mL avec un taux de réduction de la formation de biofilm relativement élevé (85% pour *K.pneumoniae* ATCC 700603 et 53% et 43% pour la souche *K.pneumoniae* 71).
- L'extrait éthanolique d'*E. alata* a montré un effet anti-inflammatoire intestinal important par la diminution du rapport P/L avec une réduction très significative à la dose 100 mg/kg.

Par conséquent, *Moringa oleifera* et *Ephedra alata* pourraient servir de candidats potentiels pour le traitement des infections bactériennes et le développement d'inhibiteurs de biofilm et pourraient agir comme des médicaments puissants contre la production de biofilm résistant aux antibiotiques. En outre, cette étude offre des résultats prometteurs en ce qui concerne l'activité anti-inflammatoire intestinale d'*Ephedra alata* suggérant son utilisation dans le traitement des MICI notamment la maladie de Crohn.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturel biologiquement active, c'est pour cela il serait donc important d'approfondir les recherches sur ces deux plantes intéressantes et les perspectives qui en résultent sont les suivantes :

- Approfondir l'étude sur d'autres souches bactériennes à Gram positif et sur d'autres micro-organismes notamment les champignons et les levures.
- Étudier l'effet synergique des extraits de plantes avec les antibiotiques.
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice de biofilm.

- Réalisation des coupes histologiques et des tests biochimiques afin de confirmer les résultats de l'effet anti-inflammatoire.
- Identification et purification des principaux constituants actifs et la cible responsable des trois activités étudiées par des techniques chromatographiques et spectrométriques.
- Élargir l'étude sur d'autres activités biologiques des deux plantes telle que l'activité anti-oxydante.



Références bibliographiques

A

- **Abdallah, M.S., & Ali, M. (2019).** Antibacterial activity of *Moringa Oleifera* leaf extracts against bacteria isolated from patients attending general sani abacha specialist hospital Damaturu. *Journal of allied pharmaceutical sciences* ,1(1), 61-66.
- **Abdallah, M.S., Machina, F.M., & Ibrahim, A.S. (2020).** Antibacterial activity of *Moringa Oleifera* methanolic leaves extracts against some Gram positive and Gram negative bacterial isolates. *Microbes and infectious diseases* ; Article In Press.
- **Abd el-hack, M.E., Alagawany, M., Elrys, A.S., Desoky, E.M., Tolba, H.N., Elnahal, A.M., Elnesr, S.S., & Swelum, A.A. (2018).** Effect of forage *Moringa oleifera* L. (moringa) on animal health and nutrition and its beneficial applications in soil, plants and water purification. *Agriculture*, 8(145), 1-22.
- **Abdulkadir, I.S., Nasir, I.A., Sofowora, A., Yahaya, F., Ahmas. A.A., & Hassan, I.A. (2015).** Phytochemical screening and antimicrobial activities of ethanolic extracts of *Moringa oleifera* Lam on isolates of some pathogens. *Journal of applied pharmacy*,7(4), 203, 1-7.
- **Abdull Razis, A.F., Ibrahim, M.D., & Kntayya, S.B. (2014).** Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian pacific journal of cancer prevention*, 15(20), 8571-8576.
- **Adouko, S. J., Soha, S.S.A., Ohouko, O.H.F., & Dougnon, T.J. (2020).** Review on biological and immunomodulatory properties of *Moringa oleifera* in animal and human nutrition. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, 12(1), 1-9.
- **Alotaibi, S. S., Alshoaibi, D., Alamari, H., Albogami, S., Khan, E., Alshanbari, A., Darwish, H., Alshanqiti, B., Alghamdi, H., & Almalki, W. (2021).** Potential significance of medicinal plants in forensic analysis : a review. *Saudi journal of biological sciences*,7(28), 3929-3935.
- **Al-Snafi, A. E. (2017).** Therapeutic importance of *Ephedra alata* And *Ephedra foliata*- a review. *Indo american journal of pharmaceutical sciences*, 4 (2), 399-406.
- **Altwegg, R., & Michon, A. L. (2020).** La dysbiose intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Revue francophone des laboratoires*, 2020(527), 48-54.

- **Alves-Silva, J.M., Romane, A., Efferth, T., & Salgueiro, L. (2017).** North african medicinal plants traditionally used in cancer therapy. *Frontiers in pharmacology*, 8(383), 1-24.
- **Armuzzi, A. (2018).** Ustekinumab in the management of crohn's disease : expert opinion. *Digestive and liver disease*, 50(7), 653-660.
- **Atakpama, W., Kponor, E.G.E., Kanda, M., Dourma, M., Nare, M., Batawila, K., & Akpagana, K. (2014).** *Moringa oleifera* lamarck (moringaceae) : une ressource phytogénétique à usage multiple. *Sciences de la vie, de la terre et agronomie*, 2(1), 1-14.

B

- **Bagheri-Gavkosh, S., Bigdeli, M., Shams-Ghahfarokhi, M., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2009).** Inhibitory effects of ephedra major host on aspergillus parasiticus growth and aflatoxin production. *Mycopathologia*, 168(5), 249-255.
- **Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'algerie : *Origanum glandulosum* desf. *Phytothérapie*, 10(1), 1-9.
- **Bayé-Niwah, C., & Mapongmetsem, M.P. (2014).** Seed germination and initial growth in *Moringa oleifera* lam. 1785 (moringaceae) in sudano-sahelian zone. *International research journal of plant science*, 5(2), 23-29.
- **Bribi, N., Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Garrido-Mesa, J., Utrilla, M.P., Contreras, M.D.M., Maiza, F., Segura-Carretero, A., Rodriguez-Cabezas, M.E., & Gálvez, J. (2016).** Intestinal anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *Fumaria capreolata* in the dnbs model of mice colitis and intestinal epithelial cmt93 cells. *Phytomedicine*, 23(9), 901-913.

C

- **Caveney, S., Charlet, D.A., Freitag, H., Maier-Stolte, M., & Starratt, A. N. (2001).** New observations on the secondary chemistry of world ephedra (ephedraceae). *American journal of botany*, 88(7), 1199-1208.

- **Chebouat, E., Dadamoussa, B., Gharabli, S., Gherraf, N., Allaoui, M., Cheriti, A., Lahham, A., & Zellagui, A. (2014).** Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extract from *Ephedra alata*. *Der pharmacia lettre*, 6 (3), 27-30.
- **Chekesa, B., & Mekonnen, Y. (2016).** Antibacterial activity of *Moringa stenopetala* against some human pathogenic bacterial strains. *Science, technology and arts research journal*, 4(2), 190-198.
- **Chouikh, A. (2020).** Phytochemical profile, antioxidant, analgesic and hypolipidaemic effects of *Ephedra alata* dence female cones fextract. *Farmacia*, 68 (6), 1011-1020.
- **Chouitah O. 2019.** The essential oil of algerian *Ephedra alata* subsp. *alenda* and its antimicrobial properties. *Journal on new biological reports*, 8(3) : 190-193.
- **Conrad, K., Roggenbuck, D., & Laass, M. W. (2014).** Diagnosis and classification of ulcerative colitis. *Autoimmunity reviews*, 13(4-5), 463-466.
- **Cooper, H.S., Murthy, S.N., Shah, R.S., & Sedergran, D.J. (1993).** Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Journal of technical methods and pathology*, 69(2), 238-249.

D

- **Dalibon, P. (2015).** Maladie de Crohn et rectocolite ulcéro-hémorragique, de grandes similitudes. *Actualités pharmaceutiques*, 54(545), 20-24.
- **Danciu, C., Muntean, D., Alexa, E., Farcas, C., Oprean, C., Zupko, I., Bor, A., Minda, D., Proks, M., Buda, V., Hancianu, M., Cioanca, O., Soica, C., Popescu, S., & Dehelean, C. (2018).** Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial, antiproliferative and pro-apoptotic potential of *Ephedra alata* Decne. hydroalcoholic extract against the MCF-7 breast cancer cell line. *Molecules*, 24(1), 1-15.
- **Daoudi, A., Sabiri, M., Bammou, M., Zair, T., Ibjibijen, J., & Nassiri, L. (2015).** Valorisation des extraits de trois espèces du genre *urtica* : *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of applied biosciences*, 87(1), 8094-8104.

- **Das, P. E., Majdalawieh, A. F., Abu-Yousef, I. A., Narasimhan, S., & Poltronieri, P. (2020).** Use of a hydroalcoholic extract of *Moringa oleifera* leaves for the green synthesis of bismuth nanoparticles and evaluation of their anti-microbial and antioxidant activities. *Materials*, 13(4), 876. 1-19.
- **Derbel, S., Touzard, B., Triki, M. A., & Chaieb, M. (2010).** Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alenda* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora - morphology, distribution, functional ecology of plants*, 205(7), 471-474.
- **Driche, E. H., Sabaou, N., Bijani, C., Zitouni, A., Pont, F., Mathieu, F., & Badji, B. (2017).** *Streptomyces* sp. At 37 isolated from a saharan soil produces a furanone derivative active against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *World journal of microbiology and biotechnology*, 33(6), 1-15.

F

- **Famuyide I.M., Aro A.O., Fasina F.O., Eloff J.N., & McGaw L.J. (2019).** Antibacterial and antibiofilm activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated south African *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) species and their selectivity indices. *Bmc complement altern medecine*, 19(141), 1–13.
- **Foild, N., Makkar H.P.S., & Becker K. (2001).** The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. *Dar es salaam*. 20.

G

- **García-Beltran, J. M., Mansour, A. T., Alsaqf, A. S., Ali, H. M., & Esteban, M. A. (2020).** Effects of aqueous and ethanolic leaf extracts from drumstick tree (*Moringa oleifera*) on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, and their cytotoxic, antitumor, bactericidal and antioxidant activities. *Fish and shellfish immunology*, 106(1), 44–55.
- **Ghafoor, S., Shah, M. M., Ahmad, H., Swati, Z. A., Shah, S. H., Pervez, A., & Farooq, U. (2007).** Molecular characterization of ephedra species found in Pakistan. *Genetics and molecular research*, 6 (4), 1123-1130.

- **González-Juárez, D. E., Escobedo-Moratilla, A., Flores, J., Hidalgo-Figueroa, S., Martínez-Tagüena, N., Morales-Jiménez, J., Muñiz-Ramírez, A., Pastor-Palacios, G., Pérez-Miranda, S., Ramírez-Hernández, A., Trujillo, J., & Bautista, E. (2020).** A review of the ephedra genus: distribution, ecology, ethnobotany, phytochemistry and pharmacological properties. *Molecules*, 25(14), 3283. 1-37.

H

- **Haldar, R. (2017).** *Moringa Oleifera*: the miracle tree. *International journal of advance research, ideas and innovations in technology*, 3(6), 966-970.
- **Hamel T, Sadou S., Seridi R., Boukhdir S., Boulemtafes A. (2018).** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes medicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia*, 1(59), 75-81.
- **Hêdji, C., Kpoguè Gangbazo, D., Houinato, M., & Fiogbé, E. (2014).** Valorisation de *Azolla spp*, *Moringa oleifera*, son de riz, et de co-produits de volaille et de poisson en alimentation animale : synthèse bibliographique. *Journal of applied biosciences*, 81(1), 7277 – 7289.
- **Hegazi, G. A. E.-M., & El-Lamey, T. M. (2011).** In vitro production of some phenolic compounds from *Ephedra alata* Decne. *Journal of applied environmental and biological sciences*, 1(8),158-163.
- **Hodges, Ph et Kelly, P (2020).** Iflammatory bowel disease in Africa : what is the current state of knwoledge. *International health*, 12(3), 222-230.

I

- **Issa, S. B., Muazu, M., & Rabi'u, I. (2021).** Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Moringa oleifera* leaves extracts against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian journal of biochemistry, genetics and molecular biology*, 7(1), 34-43.

K

- **Khan, Z. J., & Khan, N. A. (2020).** A scientific review on phyto-pharmacological properties of *Moringa olifera* Lam. A journal of nani, siddha and homeopathy, 7(3),1–11
- **Kökten, T., Hansmannel, F., Melhem, H., & Peyrin-Biroulet, L. (2016).** Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Hegel, 6(2), 119-129.
- **Kou, X., Li, B., Olayanju, J.B., Drake, J.M., & Chen, N. (2018).** Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* lam. Nutrients, 10(3), 343. 1-12.
- **Kouider, H., Belkacem, D. B., & Lakhdar, G. (2020).** Importance de la plante *Ephedra alata* subsp. alenda dans la medecine traditionnelle pour la population de la region de guettara (djelfa, Algerie). Lejeunia, 1-18.

L

- **Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. (2016).** Etude 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.
- **Lee, M. (2011).** The history of ephedra (ma-huang). Journal of the royal college of physicians of edinburgh, 41(1), 78-84.
- **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. International journal of molecular sciences 16(1), 12791-12835.
- **Luo, A., Leach, S. T., Barres, R., Hesson, L. B., Grimm, M. C., & Simar, D. (2017).** The microbiota and epigenetic regulation of T helper 17/regulatory T cells : in search of a balanced immune system. Frontiers in immunology, 8(1). 1-14.

M

- **Mahmood, K. T., Mugal, T., & Haq, I. U. (2010).** *Moringa oleifera* : a natural gift-a review. *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 2 (11), 775-781.
- **Martelli, L., ragazzi, E., Di mario, F., Martelli, M., Castagliuolo, I., Dalmaschio, M., Palu, G., Maschietto, M., Scorzeto, M., Vassanelli, S., & Brun, P. (2007).** A potential role for the vanilloid receptor trpv1 in the therapeutic effect of curcumin in dinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in mice. *Neurogastroenterology et motility*, 19(8), 668-674.
- **Martini, N., & Eloff, J. N. (1998).** The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (combretaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 62(3), 255–263.
- **Miao, S.M., Zhang, Q., Bi, X.-B., Cui, J.-L., & Wang, M.-L. (2020).** A review of the phytochemistry and pharmacological activities of ephedra herb. *Chinese journal of natural medicines*, 18(5), 321-344.
- **Mohanty, M., Mohanty, S., Bhuyan, S. K., & Bhuyan, R. (2021).** Phytoperspective of *Moringa oleifera* for oral health care: an innovative ethnomedicinal approach. *Phytotherapy research*, 35(3), 1-13.
- **Morampudi, V., Bhinder, G., Wu, X., Dai, C., Sham, H. P., Vallance, B. A., & Jacobson, K. (2014).** DNBS/TNBS colitis models: providing insights into inflammatory bowel disease and effects of dietary fat. *Journal of visualized experiments*, 84(51297), 1-8.
- **Mosquera, W. G., Criado, L. Y., & Guerra, B. E. (2020).** Actividad antimicrobiana de hongos endófitos de las plantas medicinales *Mammea americana* (Calophyllaceae) *Moringa oleifera* (moringaceae). *Biomédica*, 40(1), 55-71.

N

- **Nathan, P., Law, E. J., Murphy, D. F., & MacMillan, B. G. (1978).** A laboratory method for selection of topical antimicrobial agents to treat infected burn wounds. *Burns*, 4(3), 177–187.

O

- **Okou, O. C., Yapo, S. E.-S., Kporou, K. E., Baibo, G. L., Monthaut, S., & Djaman, A. J. (2018).** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanum torvum* swartz (solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries. *Journal of applied biosciences*, 122(1), 12287-12295.
- **Osman, H.E., & Abohassan, A.A. (2012).** Morphological and analytical characterization of *Moringa peregrina* populations in western Saudi arabia. *International journal of theoretical & applied sciences*, 4(2), 174-184.
- **Ouahab, I., & Behar, A. (2017).** Forme complexe de maladie de Crohn : a propos d'un cas clinique. *Batna journal of medical sciences*, 4(1) ,108-110.
- **Ozenda, P. (1991).** Flora and végétation of the sahara. 2 ème éd, CNRS., Paris, pp. 622.

P

- **Pakade, V., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2013).** Comparison of antioxidant activity of *Moringa oleifera* and selected vegetables in south africa. *South african journal of science*, 109(3/4), 1-5.
- **Pal, S.K., Mukherjee, P.K., Saha, K., Pal, M., & Saha, B. P (1994).** Antimicrobial action of the leaf extract of *Moringa oleifera* lam. *Ancient science of life*, 14(3), 197 – 199.
- **Peixoto, J. R. O., Silva, G. C., Costa, R. A., de Sousa Fontenelle, J.L., Vieira, G. H. F., Filho, A. A. F., & Vieira, R. H. S. dos F. (2011).** In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic moringa leaf extracts. *Asian pacific journal of tropical medicine*, 4(3), 201-204.
- **Pickard, J. M., Zeng, M. Y., Caruso, R., & Núñez, G. (2017).** Gut microbiota : role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunological reviews*, 279(1), 70-89.

Q

- **Quévrain, É., Seksik, P., & Rajca, S. (2011).** Rôle du microbiote au cours des maladies inflammatoires intestinales : connaissances actuelles et perspectives. *La lettre de l'hépto-gastroentérologue*, 6(4), 148-153.

S

- **Senchina, D. S., Hallam, J. E., Kohut, M. L., & Nguyen, N. A. (2014).** Alkaloids and athlete immune function: caffeine, theophylline, gingerol, ephedrine, and their congeners. *Alkaloids and athlete immune function*, 68-93.
- **Siegel, C. A. (2011).** Review article : Explaining risks of inflammatory bowel disease therapy to patients: review : communicating risks of ibd therapy. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 33(1), 23-32.
- **Sioud, F., Ben Toumia, I., Lahmer, A., Khlifi, R., Dhaouefi, Z., Maatouk, M., Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2020).** Methanolic extract of *Ephedra alata* ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity through reducing oxidative stress and genotoxicity. *Environmental science and pollution research*, 27(11), 12792-12801.
- **Sotnikova, R., Nosalova, V., & Navarova, J. (2013).** Efficacy of quercetin derivatives in prevention of ulcerative colitis in rats. *Interdisciplinary toxicology*, 6(1), 9-12.
- **Soumaya, B., Yosra, E., Rim, B. M., Sarra, D., Sawsen, S., Sarra, B., Kamel, M., Wissem, A.-W., Isoda, H., & Wided, M.-K. (2020).** Preliminary phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of two tunisian ephedra species : *Ephedra alata* and *Ephedra fragilis*. *South african journal of botany*, 135(1), 421-428.
- **Stimm, B., Roloff, A., Lang, U. M., & Weisgerber, H. (Éds.). (2014).** Enzyklopädie der holzgewächse : handbuch und atlas der dendrologie (1re éd.). Wiley, 1-8.
- **Sujatha, B.K & Patel, P. (2017).** *Moringa oleifera* – nature’s gold. *Imperial journal of interdisciplinary research*, 3(5), 1175-1179.
- **Sy, A. N., Diorfall, A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Gueye, R. S., Bassene, E., Dieye, A. M., & Sy, G. Y. (2018).** Evaluation de l’activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* lam. (moringaceae) du sénégal. *International journal of biological and chemical sciences*, 12(4), 1816-1823.

T

- **Teanpaisan R, Kawsud P, Pahumunto N, Puripattanavong J. (2017).** Screening for antibacterial and antibiofilm activity in thai medicinal plant extracts against oral microorganisms. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(2), 1-6.

- **Tirado-Torres, D., Chan-Keb, C. A., Pérez-Balán, R. A., Ake-Canché, B., Gómez-Solano, M. I., Aragón-Gastélum, J. L., Gómez-López, I., Aguirre-Crespo, F. J., López-Ramos, M. C., & Gutiérrez-Alcántara, E. J. (2019).** Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk. *Applied ecology and environmental research*, 17(1), 587-599.
- **Trigo, C., Castelló, M. L., Ortolá, M. D., García-Mares, F. J., & Desamparados Soriano, M. (2020).** *Moringa oleifera* : an unknown crop in developed countries with great potential for industry and adapted to climate change. *Foods*, 10(31), 1-14.

U

- **Udikala, M., Verma, Y., Sushma, S., & Lal, S. (2017).** Phytonutrient and pharmacological significance of *Moringa oleifera*. *International journal of life-sciences scientific research*, 3(5), 1387-1391.

Y

- **Yang, Y., & Wang, Q. (2013).** The earliest fleshy cone of ephedra from the early cretaceous yixian formation of northeast china. *Plos one*, 8(1), 1-7.

Z

- **Zhang, B.-M., Wang, Z.-B., Xin, P., Wang, Q.H., Bu, H., & Kuang, H.X. (2018).** Phytochemistry and pharmacology of genus ephedra. *Chinese journal of natural medicines*, 16(11), 811-828.
- **Ziani, B. E. C., Heleno, S. A., Bachari, K., Dias, M. I., Alves, M. J., Barros, L., & C.F.R. Ferreira, I. (2019).** Phenolic compounds characterization by lc-dad- esi/msn and bioactive properties of *Thymus algeriensis* boiss. & reut. and *Ephedra alata* decne. *Food research international*.



Annexes

Annexe I

Matériel analytique

- Autoclave (BIOBASE)
- Appareil de soxhlet
- Bain-marie (GFL)
- Balance analytique (RADWAG référence : PS210/C/2)
- Barreaux magnétiques
- Bec Bunsen
- Béchers
- Boîtes de pétri
- Ecouvillons
- Embouts bleus et jaunes
- Eprouvette graduée
- Erlenmeyers
- Etuves à 37°C et à 60°C
- Flacons
- Micropipettes (200, 500 et 1000 µL)
- Microplaques de 96 puits
- Pipettes Pasteur
- Les oses jetables
- Pince
- Spatule
- Spectrophotomètre (RAYLEIGH)

- Tube à essais
- Tube à Eppendorf (1,5 mL)
- Vortex (VELP scientifica)

Annexes II

Solutions

- Bouillon Mueller Hinton (BMH).
- Eau distillée
- Eau physiologique.
- BMH additionné de glucose à 2.5%.
- Cristal Violet à 0. 2%.
- Ethanol à 96%.
- Nacl.
- Diéthyl-éter.
- DNBS.
- Extrait éthanolique d'*Ephedra alata*.
- Extrait éthanolique de *Moringa oleifera*.

Annexe III

Composition des milieux de culture

Gélose nutritive

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2,5 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar-Agar	15 g

pH =7

Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300 g
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	17 g

pH=7,4

Gélose Hektoen

Protéase-Peptone	12 g
Extrait de levure	3 g
Désoxycholate de sodium	9 g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Salicine	2 g
Bleu de bromothymol	65 g
Fuchsine acide	100 g
Thiosulfate de sodium	5 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g

pH=7,5

Gélose EMB (Éosine bleu de méthylène)

Peptone	10 g
Lactose	5 g
Hydrogénophosphate de potassium ...	2 g
Eosine	400 mg
Bleu de méthylène	65 mg
Agar	13,5 g

pH=7

Gélose Chapman

Peptone	10 g
Extrait de bœuf	1 g
Chlorure de sodium	75 g
D-mannitol	10 g
Rouge de phénol	25 mg
Agar	15 g
pH=7,4	

Annexe IV

Tableau I : Résultats de lecture de microplaque après coloration au cristal violet de l'extrait éthanolique d'*Ephedraalata*.

Concentration de l'extrait éthanolique d' <i>Ephedraalata</i> (mg /mL)												
Souches	0 mg/mL			25 mg/mL			50 mg/mL			100 mg/mL		
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603	0.921	0.78	0.919	0.24	0.03	0.2	0.158	0.175	0.16	0.128	0.139	0.132
Moyenne	0.873333333			0.246666667			0.164333333			0.133		
Ecart type	0.080835223			0.05033223			0.009291573			0.005567764		
<i>K.pneumoniae</i> 71	0.292	0.229	0.316	0.115	0.165	0.147	0.125	0.142	0.146	0.135	0.131	0.132
Moyenne	0.279			0.142333333			0.137666667			0.132666667		
Ecart type	0.044933284			0.02532456			0.011150486			0.002081666		

Tableau II : Résultats de lecture de microplaque après coloration au cristal violet de l'extrait éthanolique de *Moringa oleifera*.

Concentration de l'extrait éthanolique de <i>Moringa oleifera</i> (mg /mL)												
Souches	0 mg/mL			25 mg/mL			50 mg/mL			100 mg/mL		
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603	0.921	0.78	0.919	0.45	0.4	0.32	0.2	0.26	0.3	0.13	0.121	0.147
Moyenne	0.873333333			0.39			0.025333333			0.132666667		
Ecart type	0.080835223			0.065574385			0.010969655			0.013203535		
<i>K.pneumoniae</i> 71	0.292	0.229	0.316	0.209	0.227	0.171	0.186	0.16	0.247	0.205	0.125	0.15
Moyenne	0.279			0.202333333			0.197666667			0.16		
Ecart type	0.044933284			0.028589042			0.044657959			0.040926764		

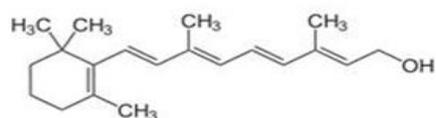
Annexe VI**Tableau III** : La moyenne et l'écart Type du rapport P/L.

Lot	Le rapport P/L	
	La moyenne	L'écart Type
Témoin	36,07	5,77
DNBS	57,76	11,30
50 mg/kg	42,60	6,73
100 mg/kg	35,92	7,89
200 mg/kg	43,71	3,68

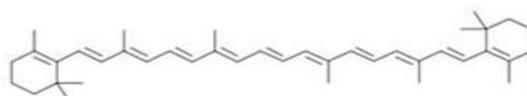
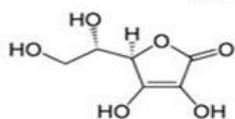
Annexe VI

Structure chimique des composés bioactifs trouvés dans les feuilles de *Moringa oleifera* (Leone et al., 2015).

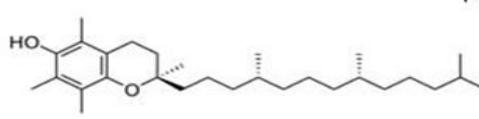
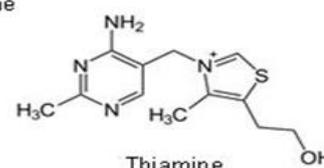
Vitamins



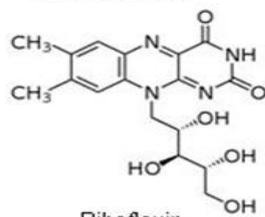
Retinol

 β -Carotene

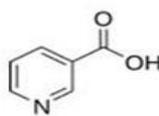
L-Ascorbic acid

 α -Tocopherol

Thiamine

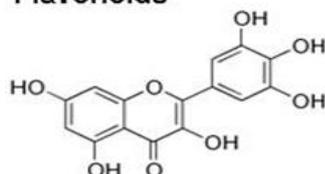


Riboflavin

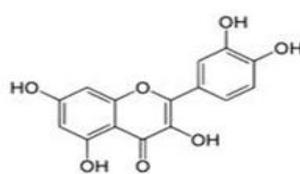


Niacin

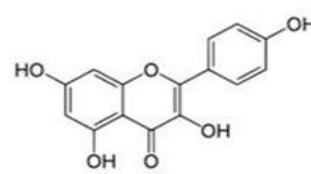
Flavonoids



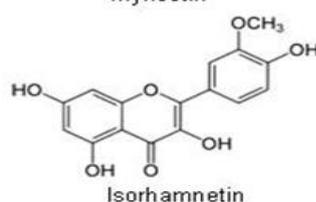
Myricetin



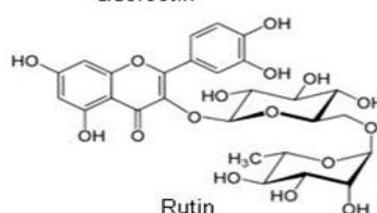
Quercetin



Kaempferol

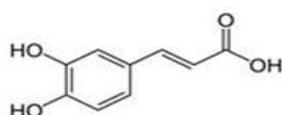


Isorhamnetin

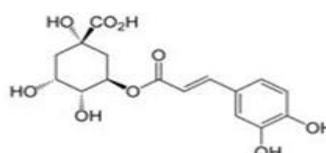


Rutin

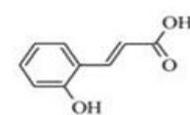
Phenolic acids



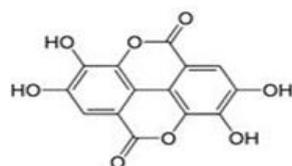
Caffeic acid



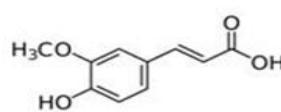
Chlorogenic acid



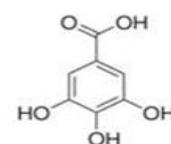
o-Coumaric acid



Ellagic acid



Ferulic acid

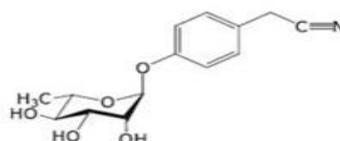


Gallic acid

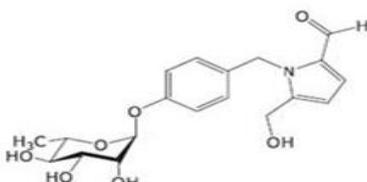
Alkaloids



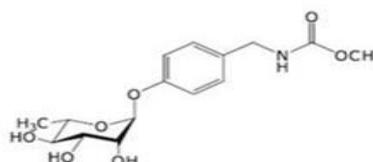
N,α-L-rhamnopyranosyl vincosamide



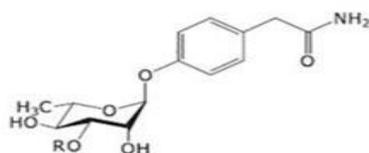
4-(α-L-rhamnopyranosyloxy)phenylacetone nitrile (Niazirin)



Pyrrolemarumine 4''-O-α-L-rhamnopyranoside

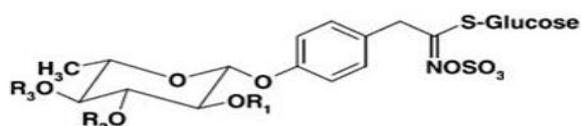


methyl 4-(α-L-rhamnopyranosyloxy)-benzylcarbamate

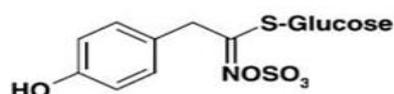


4'-hydroxyphenylethanamide-α-L-rhamnopyranoside (Marumoside A) (R = H)
 4'-hydroxyphenylethanamide-α-L-rhamnopyranoside (Marumoside B) (R = D-Glucose)

Glucosinolates

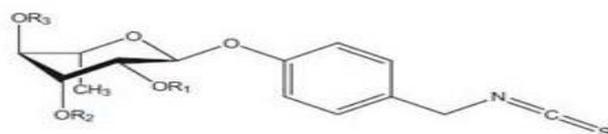


4-O-(α-L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl glucosinolate (R1, R2, R3 = H)
 4-O-(α-L-acetyl-rhamnopyranosyloxy)-benzyl glucosinolate Isomer 1 (R1, R2 = H; R3 = Ac)
 4-O-(α-L-acetyl-rhamnopyranosyloxy)-benzyl glucosinolate Isomer 2 (R1, R3 = H; R2 = Ac)
 4-O-(α-L-acetyl-rhamnopyranosyloxy)-benzyl glucosinolate Isomer 3 (R2, R3 = H; R1 = Ac)



4-hydroxybenzyl glucosinolate (sinalbin)

Isothiocyanates



4-(α-L-rhamnosyloxy)benzyl isothiocyanate (R1, R2, R3 = H)
 4-(4'-O-acetyl-α-L-rhamnosyloxy)benzyl isothiocyanate (R1, R2 = H; R3 = Ac)
 4-(3'-O-acetyl-α-L-rhamnosyloxy)benzyl isothiocyanate (R1, R3 = H; R2 = Ac)
 4-(2'-O-acetyl-α-L-rhamnosyloxy)benzyl isothiocyanate (R2, R3 = H; R1 = Ac)

Résumé

Cette étude a porté en premier lieu sur l'étude *in vitro* de l'activité antibactérienne et antibiofilm des extraits éthanoliques de *Moringa oleifera* et *Ephedra alata* vis-à-vis des souches bactériennes. Et en deuxième lieu l'étude *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire intestinale de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata*.

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu solide (Test des puits) et par la méthode de micro-dilution sur milieu liquide (CMI) et l'activité antibiofilm a été évaluée par la méthode de microplaque basée sur la coloration par le cristal violet. Alors que l'activité anti-inflammatoire intestinale de l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata* a été testée avec les doses de (50 mg/kg, 100 mg/kg et 200 mg/kg) sur une colite induite par DNBS chez les souris BALB/c.

Les résultats ont montré que les extraits éthanoliques d'*Ephedra alata* et *Moringa oleifera* ont un effet antibactérien sur les souches bactériennes avec une meilleure activité envers EPECII (25 mm/12,5 mg/mL) et *Staphylococcus aureus* (15 mm/25 mg/mL) respectivement, et un effet antibiofilm important envers *Kleibseilla pneumoniae* ATCC 700603 et 71 avec un taux de réduction allant jusqu'à 85% à la concentration la plus élevée (100 mg/mL). De plus, l'extrait éthanolique d'*Ephedra alata* a réduit significativement l'inflammation intestinale avec une diminution très significative du rapport P/L à la dose 100 mg/kg.

Les extraits éthanoliques de *Moringa oleifera* et *Ephedra alata* possèdent un effet antibactérien, antibiofilm et anti-inflammatoire intestinal pouvant ainsi être considérée comme une stratégie thérapeutique potentielle dans le traitement des maladies infectieuses et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Mots clés : Extrait éthanolique, *Ephedra alata*, *Moringa oleifera*, Activité antibactérienne, Activité antibiofilm, Activité anti-inflammatoire intestinale, Maladies intestinales chroniques de l'intestin.

Summary

This study focused primarily on the *in vitro* study of the antibacterial and antibiofilm activity of ethanolic extracts of *Moringa oleifera* and *Ephedra alata* against bacterial strains. And secondly, the *in vivo* study of the intestinal anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of *Ephedra alata*.

The antibacterial activity of the ethanolic extracts was evaluated by the diffusion method on solid medium (well test) and by the micro-dilution method on liquid medium (MIC) and the antibiofilm activity was evaluated by the microplate method based on staining by crystal violet. While the intestinal anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of *Ephedra alata* was tested with the doses of (50 mg/kg, 100 mg/kg and 200 mg/kg) on DNBS-induced colitis in mice BALB/c.

The results showed that the ethanolic extracts of *Ephedra alata* and *Moringa oleifera* have an antibacterial effect on bacterial strains with better activity towards EPECII (25 mm/ 12.5 mg/mL) and *Staphylococcus aureus* (15 mm/25 mg/mL) respectively, and a significantly antibiofilm effect against *Kleibseilla pneumoniae* ATCC 700603 and 71 with a reduction rate of up to 85% at the highest concentration (100 mg/mL). In addition, the ethanolic extract of *Ephedra alata* significantly reduced intestinal inflammation with a very significant decrease in the P/L ratio at the 100 mg/kg dose.

The ethanolic extracts of *Moringa oleifera* and *Ephedra alata* have an antibacterial, antibiofilm and intestinal anti-inflammatory activity, which can therefore be considered as a potential therapeutic strategy in the treatment of infectious diseases and chronic inflammatory diseases of the intestine.

Keywords : Ethanolic extract, *Ephedra alata*, *Moringa oleifera*, Antibacterial activity, Antibiofilm activity, Intestinal anti-inflammatory activity, Chronic bowel disease.