

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Pour l'obtention du diplôme de **Master en biologie**

Présenté par

M^{lle} Benaouda Nadia

M^{lle} Benkerroum Nora

Spécialité : MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE

THÈME

**Effet des extraits d'*Ephédra alata* sur la croissance
d'*Escherichia coli* responsable des infections nosocomiales**

Soutenue publiquement le : **09/07/2019**

Devant le jury :

Président :	M. MEKHALDI Abdelkader	Professeur	Université de Mostaganem
Encadreur :	M. BAHRI Fouad	Professeur	Université de Mostaganem
Examineur :	M. CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	Université de Mostaganem

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2018/2019



Remerciement

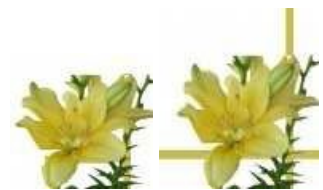


A Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné le courage, la santé, et accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles

*Nous exprimons nos profonds remerciements et nos vives connaissances à M^r **BAHRI Fouad**, professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour avoir encadré et dirigé ce modeste travail avec une grande rigueur scientifique, merci pour votre sympathie et la confiance que vous nous avez accordées tout au long de ce parcours. Ce travail a été co-encadré par le Doctorant **BOUSSENA Abdelhadi**, on le remercie sincèrement pour toute l'aide qu'il nous a apporté, pour sa disponibilité, sa patience et ses conseils pour mener à bien ce travail.*

*Nous remercions également M^r **MEKHALDI Abdelkader** professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem qui a accepté de présider notre jury de soutenance. Nos remerciements sont adressés au M^r **CHERIGUENE Abderrahim** professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont apporté un plus à ce travail.



Dédicace

A la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, à mon père je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie

À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde la nuit pour que je me rendorme, à ma très chère mère je dédie ce travail et je lui souhaite une longue belle vie

A mes sœurs

A mes frères surtout le plus grand

*A tous les famille **Benkerroumet Boukoub***

A mon binôme Nadia

A mes collègues de promotion de microbiologie fondamentale

A Tout le personnel de laboratoire biochimie et microbiologie pour leur accueil durant la réalisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail

Benkerroum Nora





DEDICACES

*À la bougie qui est la source de la lumière de ma vie, qui se fond toujours pour éclairer ma route, à mon cher père **Brahim** je dédie ce modeste travail et je lui souhaite une longue belle vie ;*

*À la fleur qui rehausse et aromatise mes jours, qui garde les nuits pour que je me rendorme, à ma très chère mère **Fatma** je dédie ce modeste travail et je lui souhaite une longue belle vie;*

*À mes soeurs; **Aicha, Zoulikha, Malek et Yasmine**
À mon frère ; **Mohammed Réda**
À mes oncles et mes tantes
A tout les familles **Benaouda et Cherrara.**
À mon binôme et mon intime **Nora,**
A mes amies : **Nour Houda ,Asma , Nassima, khadidja ,***

*A mes collègues de la promotion de master "**Microbiologie Fondamentale** "*

Je dédie ce modeste travail

M^{lle} BENAOUA Nadia

Résumé :

Ce travail a porté sur l'étude de l'effet des extraits ; au méthanol, à l'acétate d'éthyle, à l'acétone, au chloroforme et à l'eau de l'*Ephédra alata* récoltée dans la région de Bechar sur l'un des germes responsables aux infections nosocomiales à savoir *Escherichia coli*.

L'extraction des composés bioactifs a été effectuée à partir de la partie aérienne de la plante *E.alata*.

Selon l'enquête ethnobotanique, l'importance pharmacologique de la plante semble être ignorée par une grande partie de la population de la wilaya de Mostaganem.

L'extrait méthanolique et l'extrait aqueux ont représenté des rendements les plus élevés avec 22.5% et 19% respectivement en comparant avec les extraits d'acétone, d'acétate d'éthyl et de chloroforme.

Le screening phytochimique a montré la présence de divers métabolites secondaires dans la partie aérienne de la plante tels que les alcaloïdes, les polyphénols (tanins et flavonoïdes), les triterpènes et les composés réducteurs.

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé, a montré une faible activité inhibitrice des extraits de la plante sur la croissance d'*E.coli*. Les résultats obtenus montrent que la souche testée possède une sensibilité variable contre les quatre extraits et l'extrait de chloroforme est inactif.

L'extrait à l'acétate d'éthyle polaire a exercé le meilleur effet antibactérien chez *E.coli*.

La CMI de l'extrait méthanolique d'*E.alata* est de 20 mg/ml et il a un effet bactéricide. L'extrait d'acétone a une valeur de CMI de 156.25 mg/ml et il a un effet bactéricide et l'extrait d'acétate d'éthyle présente une valeur de CMI de 78 mg/ml et leur effet n' est pas déterminé .

Les extraits aux solvants à différentes polarités de l'*Ephédra alata* semblent exercer un effet bactéricide chez la bactérie d'*E.coli*.

Les mots clés : *Ephédra alata*, *Escherichia coli*, extraits, CMI, CMB.

Abstract :

This work focused on the study of the effect of extracts with methanol, ethyl acetate, acetone, chloroform and water from *Ephedra alata* harvested in Bechar. one of the germs responsible for nosocomial infections namely *Escherichia coli*.

The extraction of the bioactive compounds was carried out from the aerial part of the plant *E.alata* .

According to the ethnobotanical survey, the pharmacological importance of the plant seems to be ignored by a large part of the population (wilaya of Mostaganem).

The methanolic extract and aqueous extract represent the highest yields, 22.5% and 19% comparing with with acetone, ethyl acetate and chloroform extracts.

Phytochemical screening has shown the presence of various secondary metabolites in the aerial part of the plant such as alkaloids, polyphenols (tannins and flavonoids), terpenes and reducing compounds.

The disk diffusion method in agar medium, showed a weak inhibitory activity of the extracts of the plant on the growth of *E. coli*. The results obtained show that the strain tested has a variable sensitivity against the four extracts and the chloroformed extract is inactive.

The extract with polar ethyl acetate, exert the best antibacterial effect in *E. coli*; with average growth rates and lower inhibitory rates.

The micro-dilution method in a liquid medium makes it possible to obtain the MIC of the methanolic extract of *E. alata* equal to 20 mg / ml and a bactericidal effect, the acetone extract has a MIC value equal to 156.25 mg / ml and a bactericidal effect and the ethyl acetate extract has a MIC value equal to 78 mg / ml and their effect is not determined.

Solvent extracts with different polarities of *Ephedra alata* appear to exert a bactericidal effect in *E.coli* bacteria.

Key words: *Ephedra alata*, *Escherichia coli*, extract, CMI, CMB.

الملخص:

هذا العمل يتمحور حول تأثير مستخلصات الميثانول، خلات الإيثيل، الأستون، الكلوروفورم، والمستخلص المائي لإحدى النباتات الطبية *Ephédra alata* لمنطقة بشار على الجراثيم المسؤولة عن عدوى المستشفيات وهي الاشيريشيا القولونية *E. coli*

حسب الدراسة الاثنو نباتية، تبدو الأهمية الصيدلانية للنبنة مجهولة عند سكان ولاية مستغانم.

المستخلص الميثانولي والمستخلص المائي أعطيا أكثر مردود بنسبة تقدر ب 22.5% و 19% مقارنة بمستخلص الأستون، خلات الاثيل والكلوفورم.

تم استخراج المركبات النشطة بيولوجيا من الجزء الهوائي للنبات.

أثبتت الدراسة الكيميائية للجزء الهوائي للنبنة وجود مختلف المركبات الثانوية مثل : القلويدات، البوليفينولات، العفص، التربينات والمركبات المرجعة.

أظهرت طريقة الانتشار على الأقراص أن المستخلصات النباتية لها تأثير تثبيطي لنمو البكتريا *E. coli* حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها أن للبكتيريا حساسية مختلفة اتجاه المستخلصات الأربعة في حين مستخلص الكلوروفورم غير فعال . مستخلص خلات الإيثيل القطبي أعطى أفضل تأثير ضد البكتيريا *E. coli* مع معدلات نمو متوسطة ومعدلات تثبيط أقل ارتفاع.

سمحت طريقة الميكرو تخفيف في الوسط السائل بالحصول على CMI لمستخلص الميثانول للجزء الهوائي للنبنة *E. alata* التي تقدر ب 20مغ/مل مع تأثير مبيد، تقدر CMI لمستخلص خلات الإيثيل ب156.25مغ/مل مع تأثير مبيد ومستخلص الأستون الذي أظهر CMI تقدر ب 78مغ/مل وتأثيره غير محدد.

المستخلصات المتعلقة بالمذيبات ذات القطبية المختلفة من *E. alata* لها تأثير قاتل على البكتيريا *E. coli*

الكلمات المفتاحية: *Ephédra alata*، *Escherichia coli*، مستخلص، CMI، CMB.

Liste des abréviations

% : pourcentage

≤ : Inférieur ou égale

≥ : Supérieur ou égale

°C : degré Celsius

μg : microgramme

ATB : antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

BMH : bouillon Muller Hinton

BN : bouillon nutritif

CMB : concentration minimale bactéricide

CMI : concentration minimale inhibitrice

DMSO: Diméthyl sulfoxyde.

DO : densité optique

E.coli : *Escherichia coli*

g : gramme

GMH : gélose Muller Hinton

GN : gélose nutritive

h : heure

H₂O₂ : eau oxygénée

IN : infection nosocomiale

Km² : kilomètre carré

MeOH : méthanol

Mg : magnésium

MH : Muller Hinton

min : minute

mm : millimètre

nm : nanomètre

Ø : Diamètre

R : rendement

UFC : unité formant des colonies

v/v : volume par volume.

Liste des figures

Figure 1 : Port général d' <i>Ephedra alata</i>	4
Figure 2 : Distribution de l' <i>Ephédra</i> dans le monde.....	5
Figure 3 : Le noyau phénol	11
Figure 4 : Principales classes des composés phénoliques	12
Figure 5 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide benzoïque	13
Figure 6 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide cinnamique.....	13
Figure 7 : Structure chimique de coumarine	14
Figure 8 : Squellette de base de flavonoïde.....	14
Figure 9 : Structure chimique de principales classes de flavonoides	15
Figure 10 : Classification des tanins.....	16
Figure 11 :Usambarensine exemple de vrais-alcaloïde.....	17
Figure12 : Paravallarine exemple de pseudoalcaloïdes	17
Figure 13 : Exemple de proto alcaloïdes la mescaline	17
Figure 14 : La molécule d'isoprène	18
Figure 15 : Staphylococcus aureus	22
Figure 16 : Pseudomonas aeruginosa	23
Figure 17 : La morphologie et Coloration de gram de <i>E. coli</i>	24
Figure 18 : Matière végétale séchée et broyée (<i>Ephédra alata</i>).....	29
Figure 19 : Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante	30
Figure 20 : La fiche d'enquête ethnobotanique.....	31
Figure 21 : Schéma général représente les étapes d'extraction des extraits d' <i>E.alata</i>	32
Figure22 : Principe de l'aromatogramme.....	41
Figure 23 : Procédure du test de la sensibilité aux antimicrobiens par la méthode de vincen.	42
Figure 24 : Teneur en humidité d' <i>Ephédra alata</i>	45

Figure 25 : Profils des enquêtés selon : (l'âge, le sexe, niveau d'instruction et situation familiale)	46
Figure 26: Le taux des enquêtés selon la connaissance de la plante et de ses utilisation.....	47
Figure 27 : Répartition de l'âge des enquêtés selon la connaissance de la plante et de de ses utilisation.....	47
Figure 28: Proportion de différents parties utilisées de la plante.....	48
Figure 29 : Proportion des pathologies traitées par la plante	48
Figure 30: Pourcentage des extraits brutes de <i>L'Ephédra alata</i>	49
Figure 31: Aspect macroscopique d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Hektoen et Mac conckey.	53
Figure 32: Observation microscopique des colonies d' <i>Escherichia coli</i>	53
Figure 33: Résultat de test catalase positif d' <i>Escherichia coli</i>	54
Figure 34: Effet des antibiotiques sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i>	55
Figure 35 : Effet des différents extraits sur <i>E. coli</i>	58
Figure 36 : Résultats de la CMI sur la microplaque.....	60
Figure 37: Concentration minimale bactéricide les extraits d' <i>Ephédra alata</i> chez <i>E.coli</i>	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification d' <i>Ephédra alata</i>	4
Tableau 2 : Liste des antibiotiques utilisés	40
Tableau 3 : Catégorie de souche selon le diamètre d'inhibition selon la méthode d'aromatogramme.....	41
Tableau 4 : Rendement et l'aspect de différents extraits bruts de l' <i>Ephédra alata</i>	49
Tableau 5 : Résultats de screening phytochimiques de <i>Ephédra alata</i>	51
Tableau 6 : L'antibiogramme d' <i>E. coli</i>	55
Tableau 7 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition obtenus avec les extraits de rameau d' <i>E. alata</i> sur la souches <i>E. coli</i>	56
Tableau 8 : Paramètres antibactériens des extraits méthanol, acétate d'ethyle, acétone d' <i>Ephédra alata</i> sur la souchede référence <i>E.coli</i>	60

Table de matières

Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Schémas	
Liste des Abréviations	
Introduction.....	1
PREMIERE 01: SYNTHSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Généralité sur la plante	4
I.1. L'espèce <i>Ephédra alata</i>	4
I.1.1 Description botanique d'<i>Ephédra alata</i>	4
I.1.2 Position systématique	4
I.1.3 Origine et répartition géographique	6
I.2 Utilisation en médecine traditionnelle	7
I.3 Pharmacologie et Toxicologie	7
I.3.1 Pharmacologie	8
I.3.2 Toxicologie	8
I.4 Chimie de plante	9
I.5 Activité biologique de la plante	10
II. Les métabolites secondaires	12
II.1 Rappel sur les métabolites secondaires des végétaux	12
II.2 Les composés phénoliques	12
II.3 Les alcaloïdes	17
II.4. Les terpènes	19
II.5 Les stérols	20

III. Infections nosocomiales	21
III.1 Définition	21
III.2 Les types des infections nosocomiales	21
III.3 Les sites d'infections nosocomiales	21
III.4 Les microorganismes responsables aux infections nosocomiales	23
III.5 .Généralités sur les entérobactéries.....	24
III.5.1L'espèce <i>Escherichia coli</i>	25
III.5.2Les caractères morphologiques et cultureux	25
III.5.3Les caractères antigéniques	26
III.5.4Les supports génétique de virulence	26
III.5.6Pouvoir pathogène	27

PARTIE 02: PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 01: Matériels et méthodes

1. Matériel végétal	29
1.1. Préparation des échantillons végétaux :	29
1.2. Sites de collecte : Climat et géographie	29
2. Détermination du taux d'humidité :	30
3. Enquête ethnobotanique :	31
4.Extractions	32
4.1.Méthode d'extraction	32
4.2. Détermination du rendement d'extraction :	33
5. Aalyse qualitative :	33

5.1. Screening phytochimique :	33
6. Test d'activité antibactérienne	37

CHAPITRE 02: Résultats et discussion

1. Taux d'humidité.....	45
2. L'enquête ethnobotanique	45
3. Les rendements des extraits bruts	50
4. Analyse qualitative	51
4.1. screening phytochimique	51
5. Etude des effets antimicrobiens des extraits d' <i>E.alata</i>	53
Conclusion	65
Références bibliographique.....	67
Annexes	

Introduction

Les plantes médicinales sont largement utilisées pour soulager et guérir certaines pathologies infectieuses chez l'homme. Elles sont une source habituelle de remèdes sous forme de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs. Les produits naturels provenant des plantes offrent une nouvelle source d'activités biologiques qui ont un grand impact sur la maladie et la santé humaine (**Worowoungaet al., 2019**).

On estime que près de 50% des agents thérapeutiques utilisés actuellement proviennent de sources naturelles, alors que moins de 10% des espèces ont été étudiées pour leurs activités biologiques. Ces chiffres indiquent qu'il subsiste encore une grande marge de progression et que l'étude approfondie des espèces végétales pourrait mener à la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques (**Djermane, 2014**).

La découverte et l'utilisation des antibiotiques a été l'une des principales réalisations scientifiques du XX^{ème} siècle. Ils ont été utilisés pour traiter des infections potentiellement mortelles.

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique, puis qu'elles ont développée des mécanismes de résistance efficaces reposant sur différents facteurs génétiquement indépendants. Chez les bactéries à Gram-, la présence d'une barrière de perméabilité qui ralentit la diffusion de l'antibiotique. Cependant, l'utilisation généralisée des antibiotiques a favorisé l'émergence de souches résistantes parfois même multi résistantes. Cette résistance se propage rapidement notamment dans les hôpitaux. La propagation de cette multi résistance incite à explorer d'autres sources de molécules alternatives dont les plantes médicinales (**Niass et al., 2015 ; Bouamoud, 2014**).

L'Algérie, par sa position géographique présente une large gamme d'étages bioclimatiques induisant une biodiversités de plantes utilisés comme condiments, aliment naturels et pour des buts thérapeutiques, elle est caractérisée par sa diversité florale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques ; ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable (**Bechlem, 2018 ; Berreghioua, 2016**).

Les espèces d'*Ephédra* ont une longue histoire en médecine traditionnelle chinoise (environ 5000 ans), avec des utilisations dans le traitement des allergies, de la congestion nasale, de l'asthme bronchique, de la toux et de la grippe.

A cet effet, nous nous sommes intéressés à étudier l'activité antibactérienne d'*Ephédra alata*

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Extraction et détermination des différents groupes chimiques présents dans les rameaux de la plante *Ephédra alata*
- Etude de l'activité antibactérienne des extraits bruts de la plante *Ephédra alata*, en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide et la détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide de différents extraits en milieu liquide sur le germe *Escherichia coli* responsable des infections nosocomiales.

Partie 01 :

Synthèse bibliographique

Partie 02 :

Partie expérimentale

Conclusion

Résultats et discussion

Références bibliographiques

Annexes

I. Généralité sur la plante:

Le genre *Ephedra* est considéré parfois comme ayant été créé il y a plus de 200 millions d'années sur la base du pollen fossile « éphédroïde » (Huang, 2003). L'*Ephedra* c'est le seul genre qui représente par la famille Ephedraceae, il inclut plus de 60 espèces (Zhang et al., 2018) réparties dans la plupart des régions arides et dans les déserts dans le monde. (Ickert-Bond et Wojciechowski, 2004).

L'*Ephédra* est l'une des plantes médicinales les plus connues depuis plus de 5000 ans dans la médecine traditionnelle chinoise pour le traitement des allergies, l'asthme bronchique, les frissons, la fièvre, la grippe, les maux de tête, le rhume des foies, congestion nasale et troubles du système nerveux central. (Gherraf et al., 2014 ; Bagheri-Gavkosh et al., 2009 ; Parsaeimehr et al., 2010).

I.1. L'espèce *Ephédra alata* :

I.1.1 Description botanique d'*Ephédra alata* :

Il s'agit de l'un des rares arbustes des zones sahariennes (figure 1), vivace, raide, jaune-vert de 0.5 à 2m de haut (Catier et Roux, 2011), également considéré comme nanophanérophite au sens de Raunkiaer (1934). Les rameaux sont articulés et portent au niveau des nœuds des feuilles réduites en écailles et opposées, alternes. Les fleurs unisexuées sont groupées en petits cônes. Les fleurs mâles et femelles sont généralement sur des pieds différents. Toutefois, on peut dans certains cas observer des individus portant les deux types de fleurs. Les cônes mâles sont groupés en chatons jaunâtres, Les cônes femelles à bractées s'accroissent pendant la maturation. (Bruneton, 2009).

Les tiges rameuses sont photosynthétiques de type balai vertes (Mayer et Susan, 2008) à port de préle à rameaux grele, anguleux et striés. Elles présentent aussi un système de racines latérales extrêmement puissant (Derbal et al., 2010) et peuvent dépasser 1 m de hauteur, avec une forte odeur de pin et un goût astringent (Abourashed et al., 2003)

I.1.2 Position systématique :

Selon Bell et Bachman. 2011, et le catalogue de Dobignard et Chatelain 2010, la position systématique d'*Ephédra alata* est la suivante (tableau 1) :

Tableau 1 : classification d'*Ephédra alata*

Règne : <i>Plantae</i>
Embranchement : <i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement : <i>Gymnospermes</i>
Classe : <i>Gnetopsida</i>
Ordre : <i>Ephedrales</i>
Famille : <i>Ephedraceae</i>
Genre : <i>Ephédra</i>
Espèce : <i>Ephédra alata</i>



Figure 1 : Port général d'*Ephédra alata* (A) ; rameau fleurit (B) et fleur en épanouissement (C).

I.1.3 Origine et répartition géographique :

E.alata c'est une plante originaire des régions tempérées et latitudes subtropicales (**figure2**) de:

- L'Afrique: Algérie; Egypte, Libye, Maroc, Tunisie, Mauritanie, Tchad, Mali ;
- L'Asie : Arabie Saoudite, Irak, Iran, Palestine, Liban, Jordanie, Syrie et pousse surtout dans le nord et l'ouest de la Chine, le nord de l'Inde et
- l'Amérique, Aux États-Unis, l'éphédra pousse au long des montagnes Rocheuses (**Al-Snafi, 2017 ; Bell et Bachman, 2011**).

En Algérie, *E. alata* se trouve dans le Sahara septentrional et occidental au niveau des terrains sableux, des regs et les lits sablonneux des oueds. Elle est même rencontrée dans le sable de l'étage tropical et la Hamada de Tinghert (**Ozenda, 1991**).

E.alata est une excellente espèce fixatrice de sable éolien. Toutefois, la qualité de son charbon de bois, apprécié par les populations sahariennes, l'expose au phénomène du déboisement.

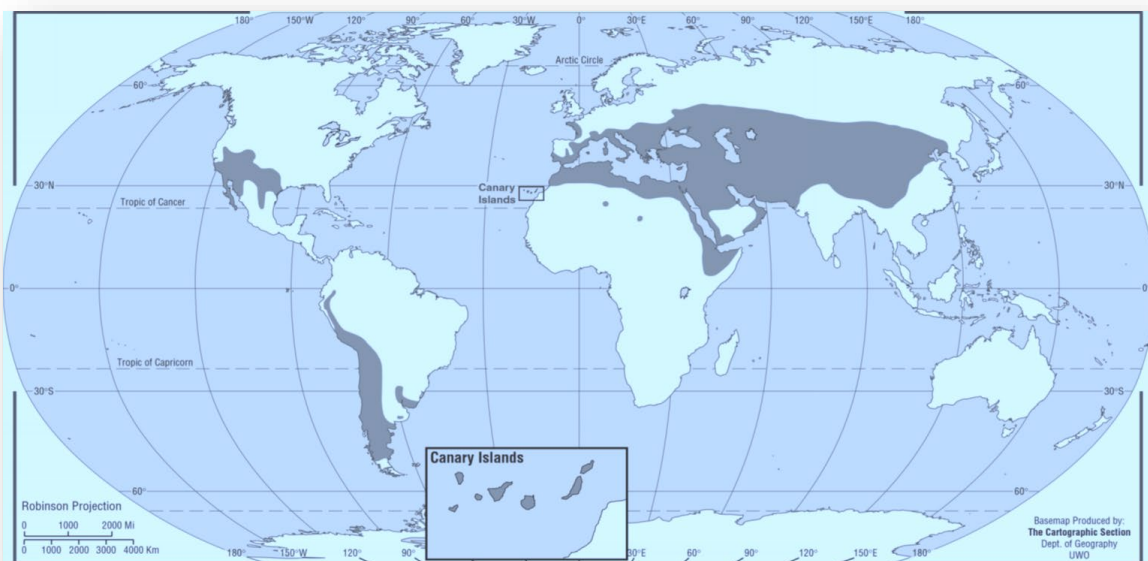


Figure 2 : Distribution de l'*Ephédra* dans le monde (**Cavaney et al., 2001**)

I.2 Utilisation en médecine traditionnelle :

Le dispensatoire chinois écrit en 1569 mentionne que les espèces d'éphédra étaient utiles comme antipyrétiques, diaphorétique, stimulant circulatoire et sédatif pour la toux. Cependant, l'*éphédra* a été utilisé dans la médecine chinoise pour traiter les allergies, l'asthme, les poumons congestion, frissons, rhumes, rhume des foins, toux, œdème, fièvre, grippe, maux de tête et congestion nasale.

La plante était aussi traditionnellement utilisé en Russie pour le traitement respiratoire troubles et rhumatismes pendant de nombreux siècles. **(Al-sanafi, 2017)**

Ephedra alata a été couramment utilisé dans la médecine traditionnelle en Egypte et la plupart des les pays arabes. *Ephedra alata* a été utilisé pour le traitement de l'asthme, du foin la fièvre et le rhume **(Ghanem et El-Magly, 2008)**.

La poudre d'*Ephedra alata* est utilisé comme un traitement contre le diabète en Maroc **(Ghourri et al., 2013)**

en Palestine ,Il est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter les allergies, l'asthme bronchique, les frissons, le rhume, la toux, l'œdème, la fièvre, la grippe et les maux de tête **(Al-Rimawi et al., 2017)**.

En Algérie, *Ephédra alata* est utilisé contre la grippe, les troubles respiratoires et la faiblesse générale en tisane et par inhalation ainsi que sous forme de gouttes nasales contre les rhumes .Elle est très appréciée par le dromadaire **(Boulberhane et Nabti, 2017 ; Ould EL hadj et al., 2003)**.

Les parties utilisés dans la médecine traditionnelle sont les feuilles et les rameaux**(Ould EL hadj et al., 2003)** et aussi les tiges vertes séchées, qui sont usuellement bouillies dans de l'eau pendant environ trente minutes et administrées comme thé chaud **(Abourashedet al., 2003)**.

I.3 Pharmacologie et Toxicologie :

Des travaux antérieurs, ont permis de constater la richesse des espèces sahariennes en ces biomolécules. Ils ont aussi mis en évidence l'intérêt pharmacologique de la flore saharienne, sans oublier les risques de toxicité.

Les effets pharmacologiques et toxicologique de l'*Ephédra alata* semble être attribuable à ses alcaloïdes de types éphédrine, principalement (-) éphédrine et (+) pseudoéphédrine. **(Limbergeret al., 2013 ; Chen et al., 2010 ; Ma et al., 2007)**.

I.3.1 Pharmacologie :

L'éphédrine est un sympathomimétique indirecte. Structuralement très proche de l'adrénaline, elle provoque la libération des catécholamines endogènes des fibres sympathique post-ganglionnaire. Elle stimule l'automatisme cardiaque et exerce une activité inotrope positive ; l'éphédrine accélère les mouvements respiratoires bulbaire, elle affaiblit les capacités contractiles de la vessie. Difficilement dégradé, elle est utilisable par voie orale et son action est plus durable que celle de l'adrénaline bien résorbée, fortement lipophile, l'éphédrine franchit la barrière hémato-encéphalique et libérant les médiateurs au niveau centrale, induit une action psychostimulante de type amphétaminique : stimulation de l'attention et de la capacité de concentration, diminution de la sensation de fatigue et du besoin de sommeil ,etc . L'éphédrine induit un phénomène de tachyphylaxie, c'est-à-dire à une disparition rapide des effets lors d'administrations répétées (**Bruneton,2009**).

La pseudoéphédrine a montré une forte activité diurétique dans des expériences sur des chiens et des lapins (**Blumenthal et King, 1995**).

I.3.2 Toxicologie :

Toutefois, la phytothérapie n'a pas que des effets bénéfiques. Comme tout produit actif, elle peut avoir des effets indésirables, toxiques et allergiques.

Des études sur les propriétés phytochimiques ou biologiques de plusieurs produits végétaux ont démontré l'action et le potentiel toxique de ces produits sur les systèmes cellulaires des mammifères (**Aline, 2010**). Cette toxicité dépend de la nature de la substance, de la dose, de la durée d'exposition et de différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal) (**Tron , 2002**).

À fortes doses, l'éphédrine provoque de la nervosité, des maux de tête, de l'insomnie, des vertiges, des palpitations, des rougeurs de peau, des picotements et des vomissements.

Selon le manuel des médicaments en vente libre qui a noté : "Les principaux effets indésirables de l'éphédrine sont la stimulation du système nerveux central, les nausées, les tremblements, la tachycardie [battement de cœur rapide] et la rétention urinaire."

Un groupe consultatif de la FDA sur les médicaments antitussifs, contre la toux, le rhume, l'allergie, recommandait d'éviter l'éphédrine aux personnes souffrant de cardiopathie,

d'hypertension, de maladie de la thyroïde, de diabète ou de miction difficile en raison d'une hypertrophie de la prostate (**Blumenthal et King, 1995**).

Ces effets peuvent être les raisons pour lesquelles l'utilisation de l'Ephédra est recommandée uniquement pour les situations aiguës en médecine traditionnelle chinoise et contre-indiqué pour une utilisation à long terme (**Chen et al., 2010**).

Étant donné que l'éphédrine provoque la libération de noradrénaline, l'administration d'éphédrine à un patient recevant un inhibiteur de la monoamine oxydase, ce qui diminue la dégradation et augmente le stockage de noradrénaline, peut entraîner une hypertension grave. Cette interaction peut être fatale (**Blumenthal et King, 1995**).

I.4 Chimie de plante :

L'analyse phytochimique préliminaire d'*Ephedra alata* a révélé la présence de glycosides cardiaques, de sucres réducteurs, de flavonoïdes, de composés phénoliques, d'alkaloïdes (**Al-Snafi, 2017**).

Ephédra c'est une source naturelle d'alkaloïdes tels que : éphédrine, pseudoéphédrine, noréphédrine, norpseudoéphédrine, méthyléphédrine et méthylpseudoéphédrine. À côté des alkaloïdes de type E, de l'éphédroxane et des spermidines macrocycliques appelées éphédradine AD, ont été découverts chez certaines espèces d'*éphédra* d'Eurasie. (**Ibragic et Sofi, 2015 ; Al-Snafi, 2017**).

L'éphédra contiendrait divers composés phénoliques, tels que l'acide trans-cinnamique, la catéchine, la syringine, l'épicatéchine, le symplocoside, le kaempférol 3-O-rhamnoside 7-O-glucoside, l'isovitexine 2-O-rhamnoside, qui contribuent de manière significative à l'activité antioxydante de la plante (**Al-Rimawi et al., 2017**).

Les autres composés phytochimiques comprennent les kynurénates, les acides citrique, malique et oxalique, les saponines, les cristaux d'oxalate de calcium et les oligo-éléments. Selon plusieurs rapports, les composés volatils présents dans cette plante sont principalement représentés par des terpénoïdes et peuvent être utilisés comme marqueurs chimio taxonomiques.

Les composés phénoliques et leurs sous-groupes de flavonoïdes les plus importants sont des composés aromatiques largement répandus dans le règne végétal (**Ibragic et Sofi, 2015**).

I.5 Activité biologique de la plante :

En plus de leurs utilisations traditionnelles, *Ephedra alata* possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

I.5.1 Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des extraits flavonoïdes de l'*Ephedra alata* a été évalué contre les bactéries pathogènes Gram positif et Gram négatives tel que : *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (Al-Snafi, 2017).

L'extrait éthanolique agit comme un agent bactériostatique contre les souches bactériennes suivantes : (*Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, et *parapsilose*) (Danciu et al., 2019).

Ephedra sarcocarpa montre aussi une activité inhibitrice contre ces bactéries surtout *Pseudomonas aeruginosa* qui est la plus inhibé et qui est l'agent responsable par son opportunité sévère des infections (Rustaiyan et al., 2001).

I.5.2 Activité antifongique :

L'extrait aqueux d'*E. alata* avait un potentiel inhibiteur significatif in vitro et in vivo contre la croissance, ainsi que la production d'aflatoxines par la moisissure aflatoxigénique *Aspergillus flavus* (Al-Qarawi et al., 2011 ; Parsaeimehr et al., 2010).

Selon Ghanem et El-Magly, 2008, L'extrait d'acétonitrile d'*E. alata* montre une activité antifongique surtout sur *Aspergillus fumigatus* (Ganems et El-Magly, 2008)

et l'extrait éthanoliques de la partie aérienne de l'*E. alata* agit comme un agent bactéricide contre *Candida* spp (Danciu et al., 2019).

I.5.3 Activité anticancéreuse :

Certaines espèces d'*éphedra* se sont vu attribuer un potentiel anticancéreux contre diverses lignées cellulaires. Par exemple, des extraits obtenus avec différents solvants d'*Ephedra aphylla* ont montré une activité anti-proliférative contre les lignées cellulaires de cancer du sein T47D et MCF-7 (Al-Awaida et al., 2018).

l'extrait hydroalcoolique d'*Ephedra alata* Decne a un potentiel d'effet anti-prolifératif, pro-apoptotique et cytotoxique contre la lignée cellulaire de cancer du sein humain MCF-7.

Dans une étude ethnopharmacologique en Palestine, *Ephedra alata* était la phytothérapie la plus utilisée pour le traitement du cancer (**Danciu et al., 2019**)

I.5.4 Activité antioxydante :

L'activité antioxydante d' *Ephedra alata* était évalué par le 2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyl-hydrate essai. L'extrait méthanolique d'*Ephedra alata* a montré une forte activité antioxydante et puissant radical libre d'oxygène capacités de récupération, la valeur IC 50 de la centrale était presque équivalent à l'antioxydant standard Trolox.

Les résultats ont montré que l' *Ephedra alata* cultivé en Palestine est riche en antioxydants, phénoliques et flavonoïdes. Leur activité antioxydante est comparable ou supérieure à celle d'*Ephedra* d'autres pays. Il existe une corrélation entre les activités antioxydantes et le contenu phénolique total, mais pas avec le contenu total en flavonoïdes. Les quatre tests d'activité antioxydante étaient fortement et significativement corrélés les uns aux autres. (**Al-Rimawi et al., 2017**).

I.5.5 Effet sur la masse corporelle :

le mélange d'éphédra et la caféine a favorisé la réduction du poids et de la masse grasse à court terme ainsi que l'amélioration des lipides sanguins sans événement indésirable significatif (**Boozer et al., 2001**).

I.5.6 Effet hypoglycémiant :

Ephedra alata présentait des effets hypoglycémiques persistant une heure après son administration à des rats à jeun (**Shabana et al., 1990**)

Cinq glycanes actifs isolés de *E.distachya*: ephedranes A, B, C, D et E ont réduit significativement le taux de glucose sanguin chez des souris normales et diabétiques.

I.5.7 Effet anti-inflammatoire :

Ephedra alata a été utiliser en phytothérapie traditionnelle pour traiter les maladies inflammatoires. (**Kmail et al., 2017**)

La partie aérienne de *Ephedra intermedia*, a été soumis à des essais biologiques pour l'activité anti-inflammatoire. A partir de L'extrait de méthanol qu'était actif, la pseudoéphédrine a été isolé et elle a montré une activité antiinflammatoire la plus forte (**Hikino et al., 1980**).

II. Les métabolites secondaires :

II.1 Rappel sur les métabolites secondaires des végétaux

À côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéines et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Herbert, 1989**).

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes, parmi lesquels, on cite les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes, et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité des composés, qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (**Li, 2007**). Les métabolites secondaires sont réputés par leurs activités biologiques nombreuses, comme antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti - inflammatoires, diurétiques, gastro- intestinales et antioxydantes (**Harborne, 1998 ; Bruneton, 2009**).

Tous les travaux phytochimiques ont mis en évidence au sein des organismes végétaux les biomolécules suivantes :

II.2 Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des molécules aromatiques qui ont un ou plusieurs groupes hydroxyle liés directement à un cycle aromatique « le phénol » (**figure 3**) qu' est la structure sur laquelle repose tout le groupe (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

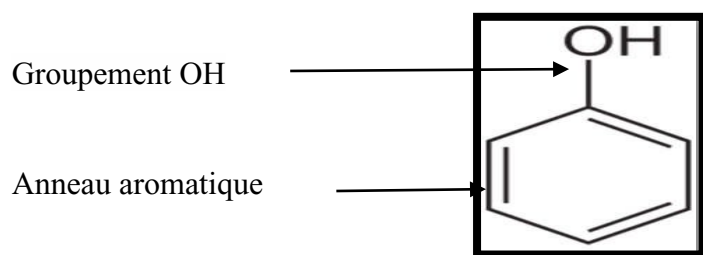


Figure 3 : Le noyau phénol (**Herzi, 2013**).

Ces molécules ont un rôle dans la défense contre les pathogènes surtout les moisissures et les bactéries phytopathogènes en tant qu'attractifs pour les pollinisateurs et les animaux à dispersion des graines (**Del Rio et al., 2013**) aussi dans la protection des rayonnements UV car tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (**Sarn-imanchado et Cheynier, 2006**).

Ce sont des Molécules qui donnent la couleur, les arômes et les parfums aux plantes, Ils constituent les 40% du charbon organique dans la biosphère(Touafek,2010).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. (Boizot et Charpentier, 2006) .

II.2.1. Classification des composés phénoliques :

Plus de 8 000 molécules ont été isolés et identifiés, divisées en une dizaine de classes chimiques (Mansour, 2009) (figure 4) ; basés sur le nombre de carbones dans la molécule(Vermerris et Nicholson. 2006) et la structure de base du squelette carbone (Macheix ,1996).

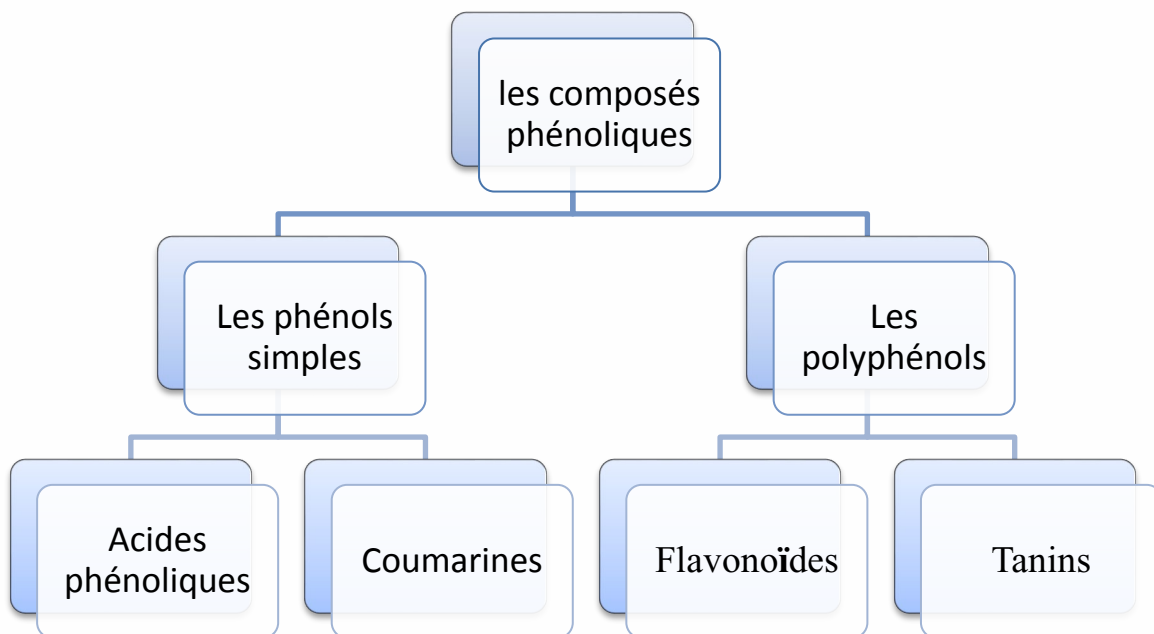


Figure 4 : Principales classes des composés phénoliques (Hurtado-fernandez et al., 2010 ; Meziane et Mekaouche, 2012).

1. Les phénols simples :

1.1. Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont rares dans la nature ; ils se trouvent dans certain nombre des plantes agricoles et médicinales (Psotova et al., 2003). Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone. (Hmid, 2013). Ils se subdivisent en deux classes :

- **Acides-phénols dérivés de l'acide benzoïque** : ils ont une structure générale de type C₆-C₁, ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et ils existent souvent sous forme libre que combiné à l'état d'ester ou d'hétéroside (figure 5)

(ex : acides benzoïques, salicylique, vanilliques, gentisique etgallique.....)
(Bruneton, 2009).

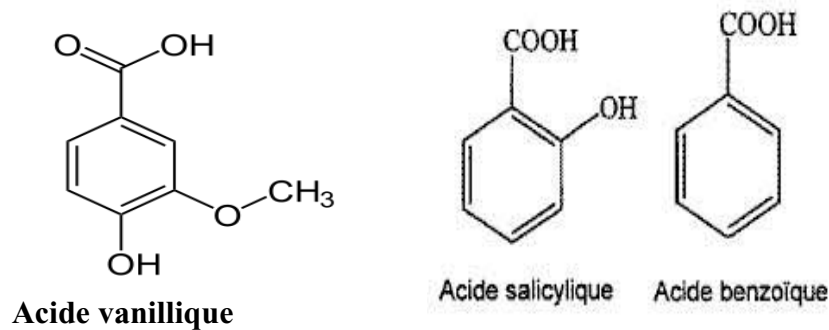


Figure 5 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide benzoïque

- **Acides-phénols dérivés de l'acide cinnamique :** la plupart de ces acides ont une structure générale C₆-C₃, parmi les acides qu'ont une distribution très large on trouve **(figure 6) :** acides 4-coumarique, férulique, sinapique **(Bruneton, 2009).**

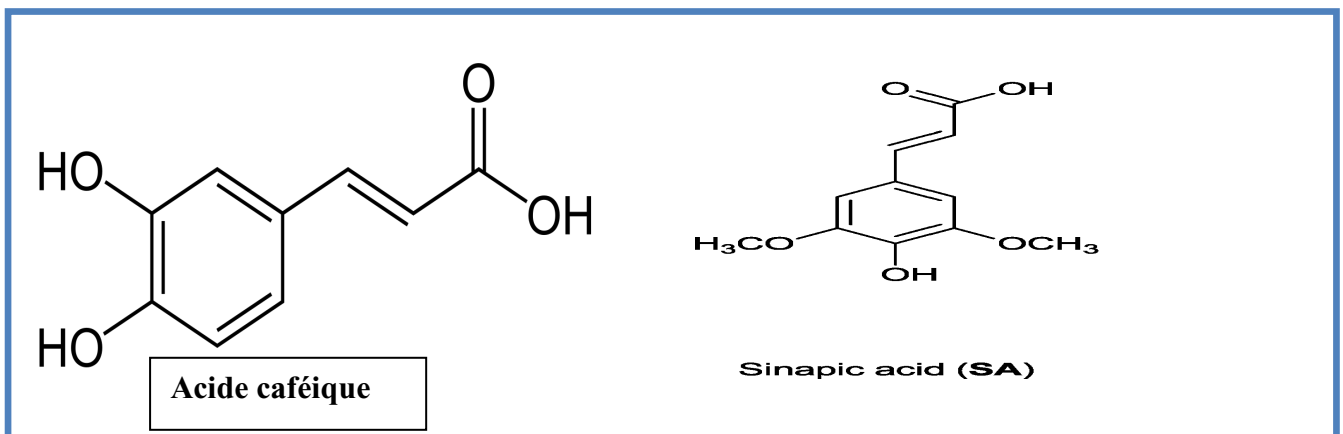


Figure 6 : Structures chimiques de quelques dérivés de l'acide cinnamique

1.2. Les coumarines :

Les coumarines sont des composés chimiques hétérocycliques **(figure 7)**, produites par la combinaison d'un noyau benzène avec un pyrane **(Rezine et Fedaouche, 2017)**, on peut les considérer comme des 2H-1-benzopyran-2-ones **(Bruneton, 2009).**

Il existe environ 1 300 coumarines connues et isolées **(Pereira et al., 2009)**, parmi les plus fréquentes on trouve : l'ombelliférone, la scopoline, le fraxoside, la skimmine... **(Bruneton, 2009).**

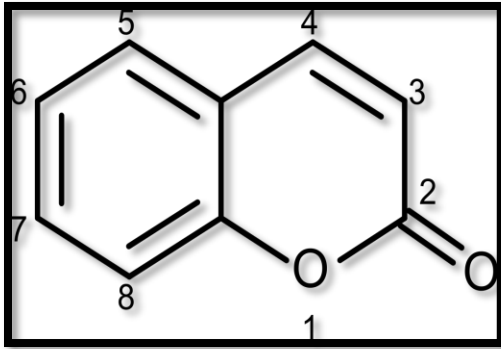


Figure 7 : structure chimique de coumarine

2. Les poly phénols :

2.1. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde vient du latin *flavus* qui signifie « jaune » (Verbois, 2015), il représente plus la moitié des composés phénoliques dans la nature, de structure générale en C₁₅ : (C₆-C₃-C₆), (figure 8) (wang et al., 2018). Les flavonoïdes sont des pigments très répandus dans la règne végétale (Hmid, 2013), presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs (Bruneton, 2009), des fruits et parfois des feuilles (Mansour, 2009).

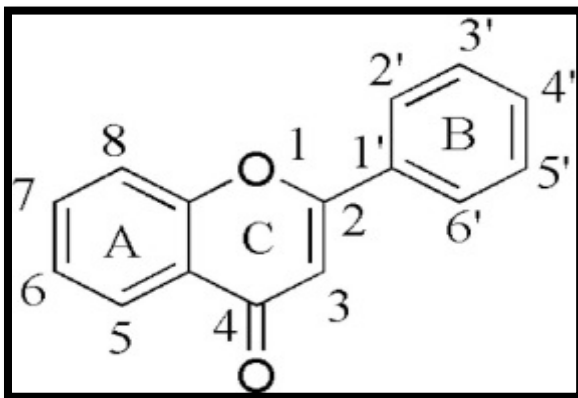


Figure 8 : squelette de base de flavonoïde

Les principales sous-classes de ces composés (figure 9) sont :

les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines (Del Rio et al., 2013).

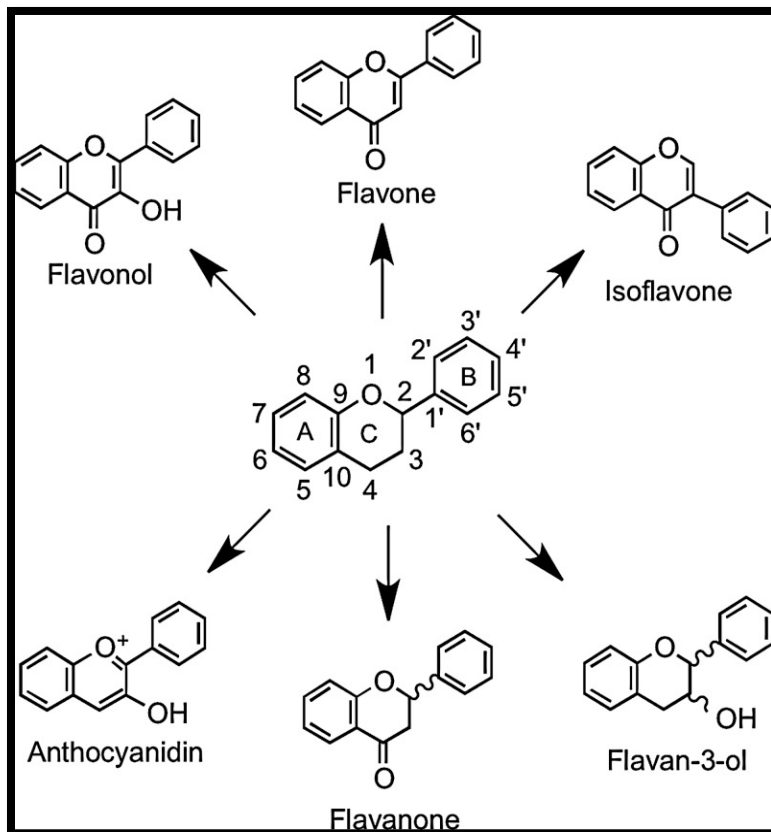


Figure 9 : structure chimique de principales classes de flavonoïdes

2.2. Les tanins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques hydrosolubles, de structure variées ayant une masse moléculaire entre 500 et 3000 (**Bruneton, 2009**), ils sont très répandus dans le règne végétale dans presque toutes les parties de la plante, comme dans l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabaee et van Ree, 2001**).

Les tanins sont présents dans toutes les plantes vasculaires et certaines plantes non vasculaires. (**Arbenz et Avérous, 2015**).

On distingue deux groupes des tannins différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (**figure 10**) :

- ✓ Les tanins hydrolysables
- ✓ Et les tanins condensés (**Macheix et al., 2005**).

Mais il existe aussi Une autre classe qui peut également être envisagée: les tanins complexes (**Arbenz et Avérous, 2015**).

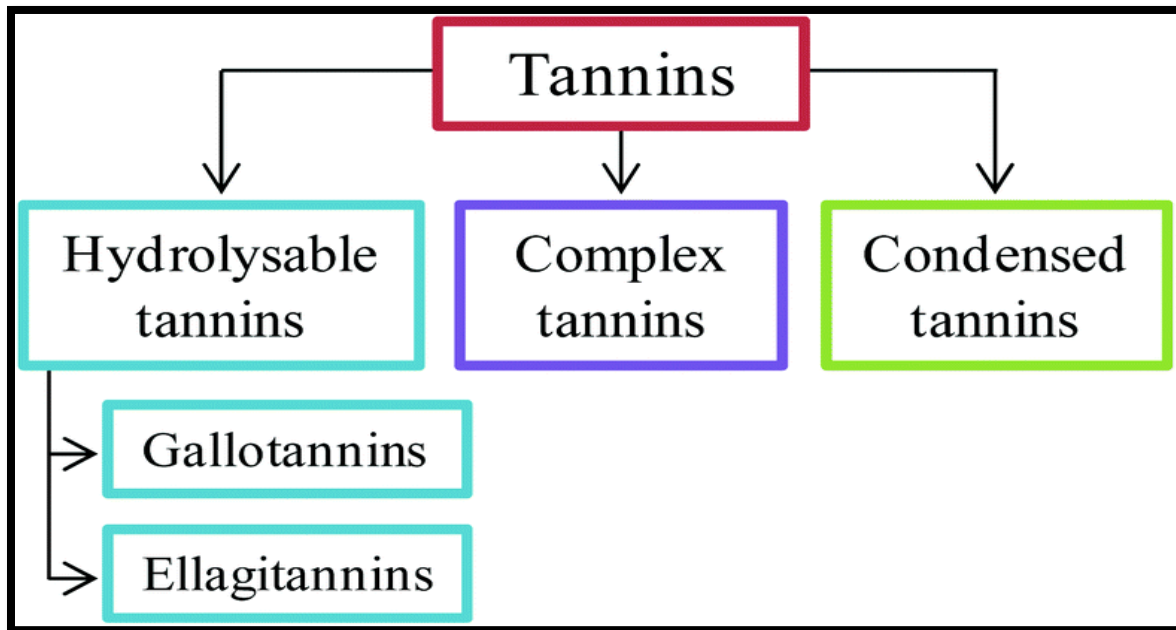


Figure 10 : classification des tanins (Arbenz et Avérous, 2015).

II.3 Les alcaloïdes :

Ils ont été introduit par W .Meisner au début de XIXème siècle,Ils forment un groupe important de substances naturelles d'intérêt thérapeutique par leur diversité structurale et l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Ce sont des substances azotées qui agissent comme des bases,comme des alcalise . Ils ont été défini comme des substances azotés,basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte . Ils ont une structure complexe leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique.Ils sont issus du seule règne végétale,ils existent à l'état de sels et sont biosynthétiquement formés a partir des acides(Brunetou, 2009).

Les alcaloïdes sont divisé en trois genre :

II.3.1 Les alcaloïdes vrais :

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plante(figure 11),(Badiaga, 2011).

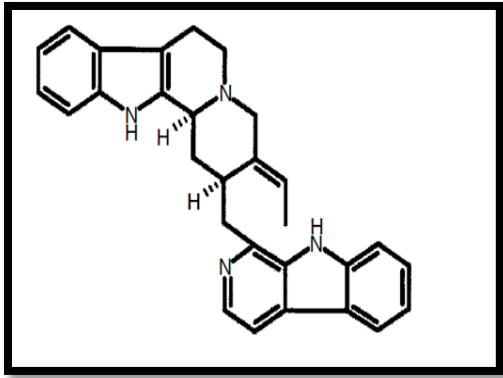


Figure 11 :Usambarensine exemple de vrais-alcaloïdes(Aniszewski, 2007).

II.3.2 **Les pseudo-alcaloïdes:** présentent les caractéristiques des alcaloïdes vrai mais ne sont pas des dérivé des acides aminées, ne possèdent pas d'azote intra cyclique et l'incorporation de l'azote dans la structure se fait en phase finale: exemple la paravallarine (figure 12),(Djermane, 2014).

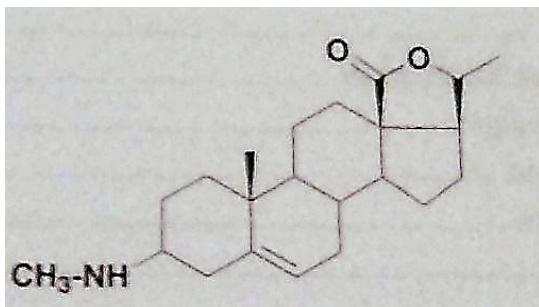


Figure12 : paravallarine exemple de pseudoalcaloïdes(Brunetou,2009).

II.3.3 **Les proto-alcaloïdes :**sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans système hétérocyclique comme la mescaline(figure 13)(Brunetou,2009).

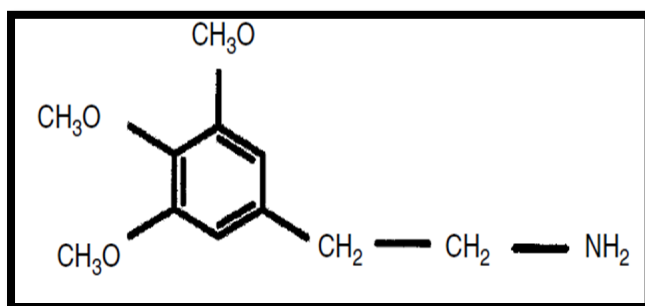


Figure 13: Exemrple de proto alcaloïdes la mescaline (Aniszewski, 2007).

II.4. Les terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$. Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques.

La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (**figure14**).

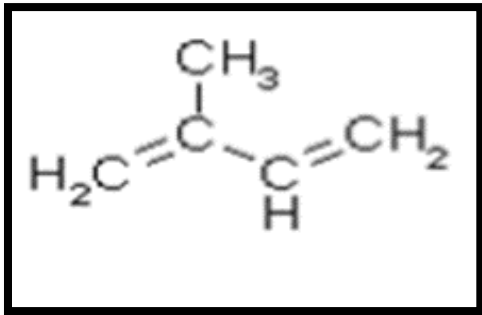


Figure14 : La molécule d'isoprène (Malecky, 2005).

II.4.1. Classification des terpènes

1. Hémyterpènes :

Ils sont des composés naturels ayant une formule de C_5 ramifiée. Parmi eux seul l'isoprène est considéré comme hémiterpène, il a toutes les caractéristiques biogéniques des terpènes.

2. Monoterpènes :

Se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques). Ils résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités d'isoprène

3. Diterpènes :

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C_{20}) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène le géranylgeranylpyrophosphate (GGPP). Ces composés sont principalement présents dans les plantes supérieures, ainsi que dans les champignons. La majorité est sous forme cyclique. Parmi les diterpènes linéaires, on rencontre la famille Phytane dont le phytol est le représentant le plus connu dans la chlorophylle ou dans les vitamines K et E. Les diterpènes cycliques sont des dérivés de cyclophytane (**Malecky, 2005**).

4. Triterpènes :

Les triterpènes en C₃₀ sont produits à partir de deux molécules de farnésyl- pyrophosphate . Il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare. Parmi les triterpènes acycliques, le squalène , et aussi des stéroïdes végétaux. La plupart de triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside (les saponines) ou ester .

Les triterpènes constituent un groupe important et diversifié de produits naturels à base de plantes qui jouent un rôle important dans la protection des végétaux et la qualité des aliments, ainsi que dans une gamme d'applications pharmaceutiques(**Maleckey, 2005**) .

II. Les stérols :

Ce sont des dérivées des phytostérols ces composés sont naturellement trouvées dans la partie lipidique des plantes. Ils peuvent être apportés que par l'alimentation lorsque, ils ne sont pas synthétisés par l'homme et l'animal. Il été démontré que les phytostérols et les phytostanols réduisant l'absorption de cholestérols dans l'intestin grêle.

Leur structure général est composés de quatre cycles dans les trois premiers six chaînons et le dernier cinq. Les principaux stérols dans les plantes, algues, et les champignons sont caractérisé par la présence d'un méthyl ou éthyle lié au carbone C-24 sur la chaîne latérale.

Ces différents types de stérols appelées les poly stérols sont des constituants de membrane cellulaire jouent un rôle important dans la perméabilité et aussi la prolifération cellulaire(**Kahlouche-Riacht, 2014**).

III. Infections nosocomiales :

III.1 Définition :

Les infections nosocomiales « aussi appelées infections hospitalières » sont des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission du patient. Les infections survenant plus de 48 heures après l'admission sont habituellement considérées comme nosocomiales (**Ducel et al., 2002**).

III.2 Les types des infections nosocomiales :

III.2.1 Les infections nosocomiales exogènes : causée par les microbes de l'environnement, introduits chez le malade, venant le plus souvent d'autres malades.

III.2.2 Les infections nosocomiales endogènes : provenant du malade lui-même, chez lequel la voie digestive, la peau et le vagin, sont les réservoirs humains les plus importants(**Langlois,2000**).

III.3 Les sites d'infections nosocomiales :

III.3.1 Infections urinaires nosocomiales :

Ce sont les infections nosocomiales les plus fréquentes (40% des cas d'IN). Il faut distinguer la colonisation des voies urinaires de la véritable infection urinaire. En absence de sonde les IUN sont le plus souvent de mécanisme ascendant :les remontent le long de l'urètre .

En présence de sonde elles peuvent avoir divers mécanismes d'acquisitions :

- lors de la pose de la sonde
- voie endoluminale :moins fréquente depuis l'utilisation des systèmes clos .
- voie extraluminale les bactéries remontent dans la vessie le long de la surface externe de la sonde
- voie lymphatique ou hématogène : incidence difficile à estimer

Le germe prédominant reste *E. coli*, mais d'autres germes sont plus en plus fréquents : Enterococcus, Pseudomonas, Staphylococcus, levures (**Epelbon et Macey, 2008**).

III.3.2 Infection sur cathétérisme intravasculaire :

On distingue l'infection liée au cathéter, la phlébite bactérienne et la phlébite chimico-mécanique.

Symptômes cliniques : symptômes d'inflammation locale et/ou fièvre 38 °C et/ou sécrétion purulente.

Bactériologie : cultures positives en l'absence de signes cliniques ne sont pas considérées comme un critère suffisant (**Dridi et al.,2008**).

III.3.3 Les bactériémies :

Les bactériémies se définissent par la présence de bactéries dans le sang. Ce sont des infections graves associées à une mortalité élevée, en particulier dans le cas des patients déjà atteints d'une maladie grave ou immunodéprimés. Au Québec, quatre groupes de ces infections font l'objet d'une surveillance : les bactériémies sur cathéters centraux (BACC) aux soins intensifs (SI), les bactériémies nosocomiales associées aux accès veineux en hémodialyse chronique, les bactériémies nosocomiales pan hospitalières et les bactériémies à *Staphylococcus aureus*.(**Beaulieu et al., 2011**).

III.3.4 Infection du site opératoire :

Les infections du site opératoire sont considérées comme étant nosocomiales, si elles surviennent dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année s'il y a eu mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique. Ces infections peuvent être superficielle, en affectant la peau (ou les muqueuses), ou profonde, en affectant les tissus ou les organes(**Bouguenoun, 2017**).

III.3.5 Infection respiratoire basse (pneumonie) :

Le diagnostic de pneumonie est posé lorsqu'on a des signes radiologiques :

- Deux clichés radiologiques ou plus avec une image évocatrice de pneumonie.

En l'absence d'antécédents de cardiopathie ou de maladie pulmonaire sous-jacente, une seule radiographie ou un seul examen scéno-graphique suffit.

Et au moins un des signes suivants :

- Hyperthermie supérieure à 38 °C sans autre cause.
- Leucopénie (< 4000 GB/mm³) ou hyperleucocytose (> 12 000 GB/mm³)
- Apparition des sécrétions purulentes ou modifications des caractéristiques (couleur, odeur, quantité, consistance).
- Toux ou dyspnée ou tachypnée.
- Auscultation évocatrice.
- Désaturation ou besoins accrus en oxygène ou en assistance respiratoire (Qassmi, 2010) .

III.4 Les microorganismes responsables aux infections nosocomiales :

Par ordre décroissement de fréquence, les germes responsables aux infections nosocomiales sont :

- *Escherichia coli* :20%
- *Staphylococcus aureus* :15% :

Staphylococcus aureus : ce sont des cocci gram positif regroupés en amas (**figures 15**), ils sont des commensals de la peau et de la muqueuse de l'homme et des animaux .

S.aureus peut survive longtemps dans l'environnement.

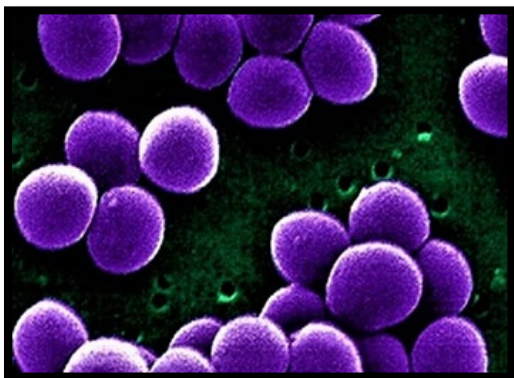


Figure 15: *Staphylococcus aureus*

➤ *Pseudomonas aeruginosa* : 10%

C'est un germe saprophyte de l'environnement, fréquemment dans les infections nosocomiales chez les patients immunodéprimés, c'est un micro-organisme ubiquitaire dont l'habitat naturel est l'eau, le sol et les plantes(**figure16**)(Dali Ali, 2015).



Figure 16 :*Pseudomonas aeruginosa*

➤ Autres bactéries, virus, champignons.

- 60% des bactéries responsables sont des bacilles à Gram négatif ,30% sont des cocci à Gram positif.
- Ces germes ont la particularité d'être souvent multi résistants aux antibiotiques suite à la pression exercée par l'antibiothérapie .(**Epelboin et Macey, 2008**).

Parmi ces microorganismes *Escherichia coli* le majeur agent bactérien qui provoque les infections nosocomiales :

III.5 .Généralités sur les entérobactéries :

Les entérobactéries sont des hôtes normaux du tube digestif de l'homme et de tous les animaux à sang chaud. Elles sont des bacilles à Gram négatif ,anaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase.Les entérobactéries forment des colonies rondes, lisses, à bord réguliers, elles peuvent être de plus grande taille (3 à 4 mm) généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche, sauf pour le genre *Klebsiella* qui sont toujours immobiles(**Ramoul, 2014**).

III.5.1 L'espèce *Escherichia coli* :

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. Son nom actuel lui est ensuite donné en 1919 par Castellani et Chamber Grimont. *Escherichia coli* fait partie de la microflore commensale intestinale de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud. Il représente près de 80% de la microflore aérobie (Savoye, 2011).

A ce titre *Escherichia coli*, et plus largement les coliformes thermo tolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale. Bien que la majorité des souches d'*E. coli* soient commensales (Levine, 1987).

III.5.2 Les caractères morphologiques et culturels :

E. coli est une bacille à gram négatif le plus souvent mobile péritriche (figure17), aéro-anaérobie facultatif non sporulée, elle croit après 24 heures d'incubation à 37°C en donnant des colonies S, de 2 à 3 mm de diamètre, elle est identifiée par la fermentation de lactose, du mannitol et de sorbitol, ainsi la production d'indole et présence de bêta-galactosidase.



Figure 17 : A) : la morphologie de *E. coli*, **B) :** Coloration de gram de *E. coli*.

Elle est caractérisée par l'absence de l'uréase, de désaminases et l'incapacité de cultiver sur le milieu citrate de Simons, ne produit pas de H₂S, la mise en évidence par la réaction de Voges-Proskauer est négatif (Berche et al., 1988).

III.5.3 Les caractères antigéniques :

➤ L'antigène H :

Les antigènes flagellaires H sont retrouvés sur le flagelle, 53 de ces antigènes sont connus chez *E.coli*. La majorité des antigènes H montrent une réaction croisée, On retrouve une association entre ces antigènes et les antigènes O et ces deux derniers sont souvent des marqueurs de pathogénicité de plusieurs souches d'*E. coli*.

➤ L'antigène O :

Ce sont des facteurs somatiques composées de complexe phospholipides-polysaccharides. La différenciation entre ces antigènes est selon leur ordre dans la chaîne polysaccharidiques et la nature de leur groupes terminaux. Ces antigènes ne sont inactivées par la chaleur. La caractérisation de l'antigène O se fait par l'agglutination de la bactérie en utilisant l'antisérum de lapin (Lymberopoulos, 2004).

➤ L'antigène K :

de nature polysaccharidique, sont également très diverses et ont la particularité d'être constamment associés à petit nombre d'antigènes O. Cette association correspond à une liaison sur le chromosome de gène codant pour ces différents antigènes les antigènes les plus fréquents sont dénommées K1, 2,5, 12,13 et on leur attribue un rôle anti-phagocytaire. Ils sont appliqués dans les infections néonatales à *E. coli* (Berche et al., 1988)

III.5.4 Les supports génétique de virulence :

E. coli a de nombreux gènes qui codent pour des propriétés de virulence qui permettant des échanges permanents grâce aux structures génétiques mobiles, comme des plasmides, des transposons, des phages et des îlots de pathogénicité. Les souches pathogènes d'*E. coli* possèdent jusqu'à 20% d'information génétique supplémentaire, acquise au cours de transferts horizontaux d'ADN. L'origine étrangère de ces fragments d'ADN est encore décelable grâce à un G+C% et à un usage préférentiel des codons différents. De nombreux gènes nouvellement acquis sont localisés sur le chromosome, mais beaucoup d'autres sont sur des réplicons extra-chromosomiques, les plasmides. Au cours de l'évolution, ces gènes peuvent s'intégrer dans des structures relativement indépendantes, comme les transposons ou les phages, ou se regrouper pour former des îlots de pathogénicité (Mainil, 2003).

III.5.6 Pouvoir pathogène

1. Infection urinaire :

L'infection des voies urinaires se fait en général par voie montante, elle est plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté de l'urètre. Chez l'homme, infection est généralement secondaire peut s'accomplir de prostatite. *E. coli* est souvent impliqué dans les infections urinaires nosocomiales. (Naucial et Vildé, 2005).

2. Infection intestinale

Les souches de *E. coli* responsables au infections intestinales altèrent la muqueuse intestinale par différents mécanismes. Ils sont classés de la manière suivants :

- **les *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC):**

Les *Escherichia coli* entéro-hémorragiques (EHEC) encore appelés *E. coli* producteurs de Véro toxines (VTEC), sont des agents pathogènes associés à des manifestations digestives allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique (Kurkdjian et Bonacorsi, 2014).

- **Les *E. coli* Enteropathogènes (EPEC)**

Ils sont responsables de diarrhées infantiles et touchent en particulier les enfants en bas âge (<3 ans). Des lésions histopathologies apparaissent lors d'infections. Ces lésions sont appelées lésions d'attachement et d'effacement (Andrade et al., 1989)

- **Les *E. coli* Entérotoxinogènes (ETEC)**

Ils sont majoritairement associés à deux syndromes cliniques importants, les diarrhées du nourrisson dans les pays en voie de développement et la diarrhée du voyageur. Ils sont présents essentiellement dans la partie proximale de l'intestin grêle (Levine, 1987).

- **Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC) :**

Ce sont des souches très proches de *Shigella* dysenterie, elles ont la capacité d'envahir les cellules du colon grâce à des gènes plasmidiques, elles provoquent le plus souvent une diarrhée liquide (Naucial et Vildé, 2005).

3. Septicémies et méningites

E. coli est un pathogène majeur pour le nourrisson de moins de 3 mois puisqu'il représente la première cause d'infection urinaire compliquée d'une bactériémie et la deuxième cause de méningite chez le nouveau-né.

Au cours des méningites néonatales, les bactériémies font suite, dans 80 % des cas, au passage des bactéries par translocation à partir de la colonisation digestive et dans 20 % des cas à une infection urinaire haute. La capacité de multiplication intravasculaire élevée entraîne un haut niveau de bactériémie (> 10³ UFC/ml).

La bactérie traverse la barrière hémato méningée à partir de sang par transcytose est suivie de l'invasion et de l'internalisation. De nombreux facteurs de virulence sont impliqués au cours des différentes étapes de la pathogenèse des méningites (Ag O18, capsule K1, pili de type 1) **(Bertholom, 2009)**.

1. Matériel végétal

1.1. Préparation des échantillons végétaux :

Le matériel végétal utilisé correspond à la partie aérienne : les rameaux. Ainsi, pour l'échantillon prélevé a été ramené au Laboratoire, où ils ont été lavé, découpé en de petits morceaux et séché à l'air libre et à l'ombre durant 21 jours (**Catier et Roux, 2007**). Après séchage, l'échantillon a été pulvérisé en poudre fine (**figure 18**), puis stocké dans des bocaux fermés hermétiquement et placés à l'abri de la lumière et de la chaleur avant leur utilisation.



Figure 18 : Matière végétale séchée et broyée (*Ephédra alata*).

1.2. Sites de collecte : Climat et géographie

Le matériel végétal a été collecté au mois de décembre 2018 par le Dr Bouyahyaoui ahmed (enseignant chercheur à l'université de Bechar) dans la région saharienne de l'algerie d'ouest, et plus précisément dans la régions de Bechar.

Cette région se situe au sud-ouest du territoire national. Elle est limitée : à l'Est par la wilaya d'Adrar, à l'Ouest par le Royaume du Maroc, au Nord par les wilayas de Naâma et d'El Bayadh, au Sud par les wilayas de Tindouf et d'Adrar. Elle s'étend sur une superficie de 161 400 Km² (**figure 19**). Leur climat est de type désertique continental qui se caractérise par un été très chaud (+45°C) et un hiver très froid (2°C à 3°C). Tout au long de l'année, la pluie y est techniquement inexistante. Les vents de sables sont très fréquents et violents pouvant atteindre la vitesse de 100 km/h.

L'ensemble de ces conditions météorologiques est susceptible d'influer sur la composition chimique des espèces végétales, en particulier au niveau la nature et la quantité des métabolites secondaires qu'elles contiennent.

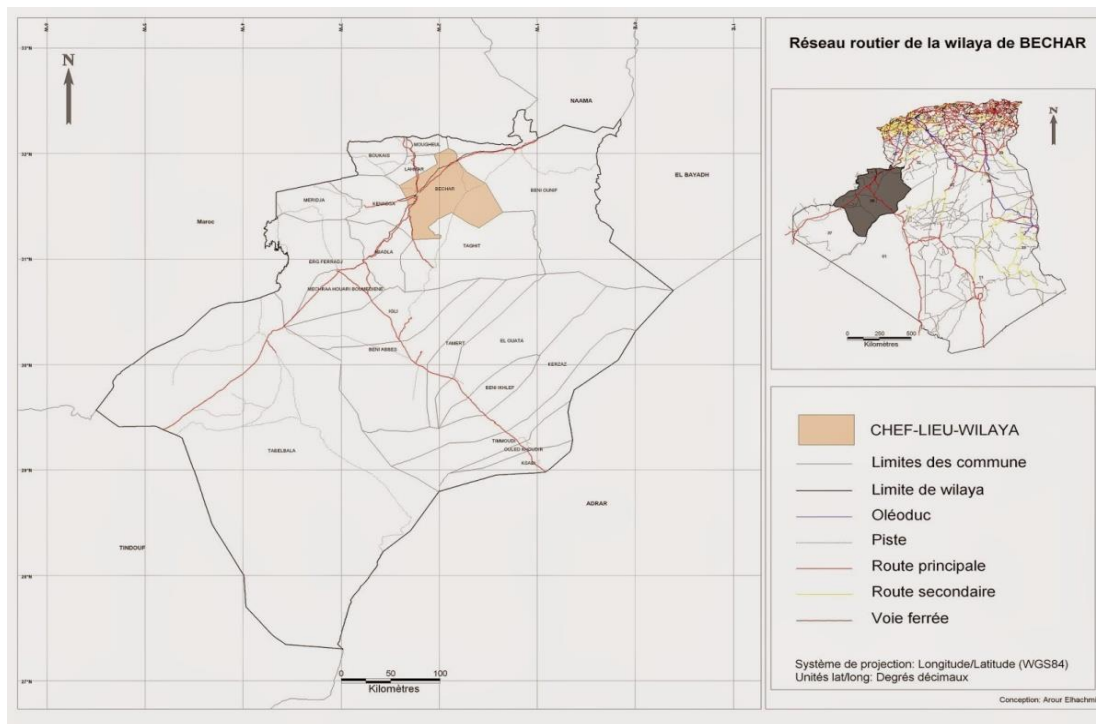


Figure 19 : Carte géographique illustrant la région de récolte de la plante.

2. Détermination du taux d'humidité :

Le contenu en humidité de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de rameaux fraîches d'une masse de $5g \pm 0.01$ a été exposée à une température de $105^{\circ}C \pm 5$ dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Twidwellet al., 2002**).

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante (**Doymaz et al., 2004**) :

$$H\% = \frac{(\text{poids } \alpha - \text{poids } \beta)}{\text{poids } \alpha} \times 100$$

Considérons :

α : Poids de l'échantillon (plante fraîche) en gramme ;

β : Poids de l'échantillon (plante sèche) en gramme;

$H\%$: Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

3. Enquête ethnobotanique :

Les enquêtes ethnobotaniques sur la plante *Ephédra alata* ont été menées sur la population locale de la ville de Mosataganem située au nord-ouest de l'Algérie durant deux mois (Février et Mars 2019) à l'aide de 92 fiches questionnaires remplies par interrogation orale (**figure 20**)

<i>Ephédra alata</i>		
Des informations sur les personnes questionnées		
1. Sexe	2. Age	3. Habita
<input type="checkbox"/> Homme	<input type="checkbox"/> < 20 ans	<input type="checkbox"/> 40-49 ans
<input type="checkbox"/> Femme	<input type="checkbox"/> 20-29 ans	<input type="checkbox"/> 50-59 ans
	<input type="checkbox"/> 30-39 ans	<input type="checkbox"/> 60et + wilaya/Daira
4. Niveau d'étude	5. Situation familiale	
<input type="checkbox"/> Analphabètes	<input type="checkbox"/> Mariée	
<input type="checkbox"/> Primaire	<input type="checkbox"/> Céliataire	
<input type="checkbox"/> Secondaire	<input type="checkbox"/> Universitaire	
Des informations sur la plante		
6. Autre nom de plante	7. Partie utilisée	
	Racine <input type="checkbox"/>	Fleur <input type="checkbox"/>
	Tige <input type="checkbox"/>	Fruit <input type="checkbox"/>
	Feuille <input type="checkbox"/>	Graine <input type="checkbox"/>
8. Etat d'utilisation	9. période de cueillette	
<input type="checkbox"/> Sec	Hiver <input type="checkbox"/>	Eté <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Frais	printemps <input type="checkbox"/>	Automne <input type="checkbox"/>
Des informations sur la préparation de remèdes		
10. Poids de drogue	11. Quantité d'eau	12. Plante ou produits ajoutés
13. Technique de préparation		
14. Maladies Traitées	15. Dose et la durée de traitement :	
	Adultes	<input type="checkbox"/>
	Enfants	<input type="checkbox"/>
16. Voie d'administration	17. Toxicité	
Orale <input type="checkbox"/>		
Cutanée <input type="checkbox"/>	18. Effet indésirable	

Figure 20 : la fiche d'enquête ethnobotanique

4.Extractions

une gamme de 5 solvants d'extraction de polarité variable a été utilisée. Il s'agit de l'eau, du méthanol, de l'acétone, de l'acétate d'éthyle et du chloroforme.

Le matériel technique est composé d'une table d'agitation, d'un rotavapor de marque (Büchner) ainsi que toute la verrerie classique de laboratoire de chimie (voir l'annexe)

4.1.Méthode d'extraction

Pour chaque extraction vingt grammes de poudre de l'organe ont été homogénéisés séparément dans 200 millilitres des 5 différents solvants (eau, méthanol, acétone, acétate d'éthyle et du chloroforme) avec une agitation pendant 48 heures à température ambiante (**Hamadache. 2011**) Chaque mélange a ensuite été filtré sur du papier filtre.

Les solvants sont ensuite éliminés au rotavapor ou par lyophilisation (eau). Les extraits obtenus sont conservés à 4°C à l'abri de la lumière et serviront par la suite à effectuer des tests d'activités biologiques (**figure 21**).

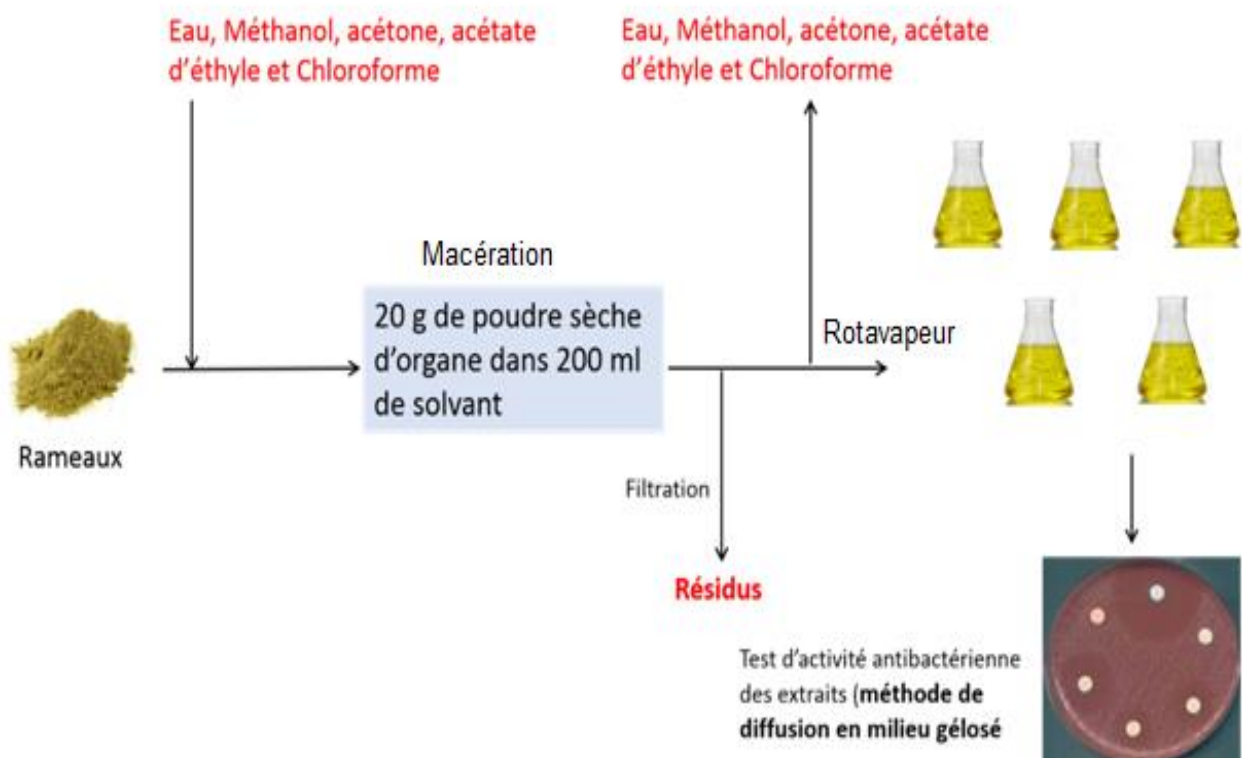


Figure 21: schéma général représente les étapes d'extraction des extraits d'*E.alata*

4.2. Détermination du rendement d'extraction :

Le rendement est le rapport entre le poids d'extraits brut et le poids sec de la plante à traiter. Le rendement est présenté par pourcentage et exprimer par la formule suivante (**Okou et al., 2018**) :

$$R (\%) = (Pe / Psp) \cdot 100$$

R (%) : rendement d'extraction en pourcentage

Pe : poids de l'extrait brut en gramme

Psp : poids sec de la plante en gramme.

5. Aalyse qualitative :

5.1. Screening phytochimique :

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée.

La partie aérienne (rameaux) de l'*Ephedra alata* réduite en poudre a subi différents tests chimiques afin de mettre en évidence la présence ou l'absence des principales familles de métabolites secondaires.

Le principe est soit basé sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réaction de précipitations, soit sur la formation de complexes colorés en utilisant des réactions de coloration.

Les tests de détection des grands groupes des composés chimiques ont porté sur la poudre végétale. Nous nous sommes servis des techniques analytiques décrites dans les travaux de **Bruneton (1993)** ; **Sofowora (1993)** ; **Longanga et al.(2000)** et de **Trease et Evans (2002)**.

1. Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été mis en évidence avec les réactifs de Dragendorff , de Mayer, de Wagner et de Burchardat (réactifs de précipitation) : 1 g de matière végétale est repris dans 5 ml de H₂SO₄ à 10%, le mélange obtenu est mis sous l'agitation pendant 24h à température ambiante puis ce mélange est filtré et le volume est complété avec l'eau distillée à 5ml. Ensuite 1ml de

filtrat est reparti dans 5 tubes à essai différents. Dans chaque tube, 5 gouttes de réactif de Dragendorff, de Mayer, de Wagner et de Burchard sont ajoutés (**Beddou, 2015**).

Un test positif est indiqué par l'apparition d'un précipité :

- De couleur blanc-jaunâtre pour la réaction de Mayer
- Brun pour la réaction de Wagner
- Orangé avec le réactif de Dragendorff
- Rougeâtre avec le test de Bouchardat

2. Détection des stérols et triterpènes :

2.1. Solution à analyser : 1g de poudre végétale est mise en agitation avec 20ml d'éther éthylique pendant 24h. Le mélange est ensuite filtré et ajusté à 20ml.

La mise en évidence des substances stérolique est effectuée par la réaction de Libermann Buchard. 10ml de l'extrait étheré sont évaporées à sec et le résidu est repris par un 1ml de chloroforme, la solution est transféré dans 2 tubes à essai.

A l'un des tubes, 1ml de l'anhydride acétique est ajouté à avec agitation et 1 à 2 ml d'acide sulfurique est ajouté au fond de chaque tube avec précaution et sans agitation puis les deux tubes sont laissés reposer 30min.

La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageante révèlent la présence de stérols et triterpènes (**Cheick Traoré, 2006**).

3. Détection des composés poly phénoliques :

3.1. Solution à analyser : Une infusion de 5% à été réalisé à partir de 5g de poudre végétale et 100ml d'eau distillée pendant 15min puis filtré et rincé à l'eau chaude de manière à obtenir 100ml de filtrat(**Cheick Traoré, 2006**).

3.2.Détection des tannins

Dans un tube à essai 5 ml d'infusé à 5% sont introduits , 1 ml d'une solution aqueuse diluée de chlorure de fer (FeCl₃) à 1% est ajouté. La présence de tanins est caractérisée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre (**Cheick Traoré, 2006**).

3.2.1. tanins catéchiques : ont été mis en évidence par 30 ml d'infusé à 5% et 15 ml de réactif de Stiasny . Le mélange est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 min environ. L'obtention d'un précipité rose quantitativement important indique la présence de tanins catéchiques (**Cheick Traoré, 2006**).

3.2.2. tanins galliques : ont été mis en évidence par 30 ml d'infusé à 5%, 15 ml de réactif de Stiasny sont ajoutés. Le mélange est filtré et saturé par 5 g d'acétate de sodium (CH₃COONa), ensuite 1 ml d'une solution de chlorure de fer(FeCl₃) à 1% est ajouté. L'obtention d'une teinte bleu-noire témoigne de la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (**Cheick Traoré, 2006**).

3.3. Détection des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine. À un mélange à volume égale 5ml d'infusé et d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95° alcoolique + eau distillée + HCl concentré (v/v /v), 1ml d'alcool isoamylique et quelques copeaux de magnésium sont additionnés. L'apparition au niveau de la couche surnageante d'alcool iso amylique d'une coloration :

- rose orangée indique la présence de flavones ;
- rose violacée caractérise les flavanones et
- rouge indique la présence de flavonols et de flavanonols (**Beddou, 2015**).

- **Les leuco anthocyanes** : ont été mises en évidence par la réaction à la cyanidine sans l'ajout de magnésium puis le mélange est chauffé pendant 15 minutes au bain-marie. Une réaction positive se caractérise par une teinte rouge cerise ou violacée.
- **Les anthocyanes** : A 5ml d'infusé à 5% un volume de 5ml d'H₂SO₄ à 10% et de NH₄OH dilué au demi ont été ajouté. En présence d'anthocyanes la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacée en milieu basique (**Cheick Traoré, 2006**).

4. Détection des saponines

Les saponines ont été mises en évidence par le test de mousse. Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire respectivement 1, 2,3,...,10ml de la solution analyser préparé par décoction en milieu aqueux,hydroalcoolique ou par infusion. Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes. Laisser reposer 15 min et mesurer l'hauteur de la mousse produite dans chaque tube (**Cheick Traoré, 2006 ; Beddou, 2015**).

L'indice de mousse (I) est calculée par la formule suivante :

$$I = 1000 / N$$

N : est le numéro du tube à partir duquel la hauteur de mousse est égale à 1 cm

5. Détection des sucres réducteurs et mucilages :

5.1.Solution à analyser : C'est un décocté à 10% en introduisant 10g de poudre végétale dans 100ml d'eau distillée. Le mélange est porté à l'ébullition pendant 15min.

5.2.Les sucres réducteurs ont été mis en évidence par le réactif deFehling (**Beddou, 2015**).

A 5 ml du décocté à 10%, 5 ml de liqueur de Fehling sont additionnés. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive.

5.3.Mucilages : Dans un tube à essai , 1ml de décocté aqueux à 10% et 5ml d'éthanol absolu sont introduits.

L'obtention d'un précipité floconneux par mélange après 10min, indique la présence de mucilages (**Cheick Traoré, 2006**).

6. Détection dérivés anthracéniques :

6.1.Solution à analyser :

-Préparation de l'extrait chloroformique : 1g de poudre et 10ml de chloroforme sont chauffés prudemment pendant 3 minutes au Bain marie puis filtrés et le filtrat complété à 10ml si nécessaire.

-Préparation de l' hydrolysats : Sur le résidu épuisé par le chloroforme, 10ml d'eau et 1ml de HCl concentré sont ajoutés. Le tout est chauffé au Bain marie bouillant pendant 15 minutes, refroidi sous courant d'eau et filtré.

6.2.Dérivés anthracéniques libres : sont détectés par formation d'une coloration rouge du mélange à volume égal d'extrait chloroformique et d'ammoniaque après agitation qui révèle la présence d'anthraquinones libres(**Cheick Traoré, 2006**).

6.3.Dérivés anthracéniques combinés :

-O-hétérosides: Ont été mise en évidence par 5ml de l'hydrolysats qui sont prélevé et agités avec 5ml de chloroforme, la phase organique est ensuite soutirée et introduite dans un tube à essai auquel 1ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) dilué à 25% est ajouté, le tout est agité. La phase aqueuse est conservée. Une réaction positive est révélée par une coloration rouge.

En cas d'une réaction négative ou faiblement positive une recherche est continue pour les O-hétérosides à génine réduite.

-O-Hétérosides à génine réduite : dans un tube à essai, 5ml de l'hydrolysate et 2 à 3 gouttes de FeCl₃ à 10% sont introduit, le tout est porté au bain marie à 90°C pendant 15 min, puis refroidi sous courant d'eau. Le mélange a été agité avec 5ml de chloroforme et la phase chloroformique avec 1ml de NH₄OH dilué au demi. L'apparition d'une coloration rouge plus intense qu'au départ indique la présence des anthranols ou anthrones.

-C-Hétérosides :

La phase aqueuse qui a été conservée a été repris par 10ml d'eau 1ml de chlorure ferrique à 10% et chauffés au Bain-Marie pendant 30mn, le mélange a été agité avec 5ml de chloroforme et additionné à 1ml d'ammoniaque.

La présence de génine de C-Hétérosides se traduit par une coloration rouge. (**Cheick Traoré, 2006 ; Beddou, 2015**)

6. Test d'activité antibacterienne

6.1. Matériel

Le test d'évaluation des activités antibacterienne a été réalisé sur une bactérie pathogène à Gram négatifourni par l'institut du pasteur d'Algérie (*Escherichia coli* ATCC 25922).

6.2. Activation de souche :

L'étude concerne la souche pure de référence (*E.coli* ATCC 25922) qui a été fourni par l'institut du pasteur (Algérie) connue comme étant la plus responsable des infections nosocomiales. L'espèce bactérienne a été tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une colonie de la souche de référence conservée au froid à 4 °C est au préalableensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C pendant 24h.

0,1 ml de cette dernière solution constituant l'inoculum a été pris pour êtreensemencée en surface dans des boites de Pétri contenant un milieu gélosé (GN) et milieu Hektoene et dans des tubes de gélose inclinée pour conserver la souche puis le tous est incubéà 37°C pendant 24 heures.

6.3. Confirmation de souche :

La souche bactérienne utilisée est déjà identifiée et référencée. Nous avons tenu à vérifier leur pureté par un examen macroscopique et microscopique.

6.3.1. Etude macroscopique :

La souche testée a été isolée sur le milieu sélectif (Mac conkey et Hektoen) afin de garantir leur pureté. L'examen à l'œil nu révèle la forme, l'aspect et la couleur des colonies bactériennes après 24 heures de culture et à une température de 37 °C d'incubation.

6.3.2. Etude microscopique :

L'observation microscopique, permet d'étudier l'aspect morphologique des cellules d'une espèce microbienne. Un examen à l'état frais a été fait pour examiner la mobilité, la forme des bactéries, et l'arrangement des cellules suivi d'une coloration de Gram le plus souvent sur frottis séchés et fixés. (voir annexes)

6.3.3. Test de catalase :

Ce test sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme de catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène.

Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte est diluée dans une goutte d'eau oxygénée H₂O₂ à 10 volumes sur une lame stérile.

Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée (**Guiraud, 2003**)

6.4. Antibiogramme :

Nous avons réalisé le test d'antibiogramme pour comparer l'effet des antibiotiques avec l'effet des extraits d'*Ephédra alata* sur la souche étudiée.

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne estensemencée à la surface de gélose Muller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont disposés à la surface de la gélose.

Les caractères de la sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits par la détermination du diamètre de la zone d'inhibition (**Standardisation De L'antibiogramme à L'échelle Nationale, 2011**)

6.4.1. Préparation d'inoculum :

La souche est repiquée par la méthode des stries sur gélose nutritive (GN) ou le milieu Mac conkey précoulé dans les boites de pétri puis incubé à 37°C / 18 à 24h afin d'obtenir une culture jeune.

Pour préparer l'inoculum, 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse puis déchargé dans l'eau physiologie stérile à 0.9%.

La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée d'un vortex et sa turbidité est ajusté à 0,5 Mc Farland soit une D.O égale (0,08 à 0,1), lue à une longueur d'onde de 620 nm correspondant à 10^8 UFC / ml (**Gachkar et al., 2007**)(**CA-SFM / EUCAST 2018**).

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologie stérile s'il est trop fort.

L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de la suspension.

6.4.2. Ensemencement et dépôt des disques :

La suspension bactérienne préparée a été coulée à l'aide d'un coton-tige stérile sur la totalité de la surface de gélose Muller-Hinton (MH) par des stries serrées, de haut en bas

L'opération a été répéter deux fois, en tournant la boîte de 60° environ à chaque fois en vue d'assurer une distribution homogène de l'inoculum sans oublier de faire pivoter le coton-tige sur lui-même.

L'ensemencement est fini en passant le coton-tige sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche, il faut recharger le coton-tige à chaque fois.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques sont disposés sur les boîtes précédemment préparé.

La liste des antibiotiques testés est représentée dans le (tableau 02). Les disques d'ATB sont bien répartis dans le milieu (séparés de 30mm de centre à centre) puis les boîtes sont incubées à 37°C/24h (**CA-SFM / EUCAST 2018**).

La lecture se fait après 24h en mesurant avec précision les diamètres des zones d'inhibition.

Tableau 02 : liste des antibiotiques utilisés

Les antibiotiques	Signe	La charge	Diamètre critique (mm) (IDEXX. 2018)		
			Résistant	Intermédiaire	Sensible
Amikacine	AK	30µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
Amoxiline	AML	30 µg	≤13	14-17	≥ 18
Cefazoline	CZ10	30µg	≤14	15 - 17	≥ 18
Cephalothine	KF	30µg	≤12		≥12
Gentamicine	CN	30µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Acide nalidixique	NA	30µg	≤13	14-18	≥19
Neomycine	NEO	30µg	<25		≥25
Norfloxacin	NOR	10 µg	<28		35
Piperacilline	PIP	30µg	17		18
Tobramycine	TOB	10 µg	12	13-14	15

6.5. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits d'*E.alata* par la méthode de diffusion en milieu gélosé :

La méthode utilisée est celle de diffusion des disques sur milieu gélosé ou l'aromatogramme dont le principe est inspiré de l'antibiogramme visant à tester la sensibilité des souches bactériennes par diffusion de l'extrait sur le milieu solide (**figure 22**), telle que décrite par **Danciu et al., 2019** avec une légère modification a été employé.

Des gammes de concentrations des différents extraits de la plante ont été effectuées a partir d'une série de dilutions selon une progression semi-logarithmiques de raison 2 avec des concentrations allant de 50,00 mg/ml à 1,56mg/ml. Le mélange DMSO-Eau (7 :3) a été utilisé comme diluant pour les extraits obtenus avec les solvants organique.

Des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) sont chargés avec 10µl de chaque dilution de l'extrait, et appliqués, à l'aide d'une pince, sur la surface du milieu GMH préalablement ensemencées par écouvillonnage de suspension bactérienne préparée précédemment (10⁸ UFC/ml).

Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 45 min, ensuite dans une étuve à 37 °C /24 h. Les tests sont réalisés en triplicata pour chaque extrait.

La lecture des résultats se fait par la mesure des \varnothing d'inhibition à l'aide d'une règle, qui sont représentés par une auréole claire formé auteurs des disques dont le diamètre est mesuré en millimètre (**figure 22**).

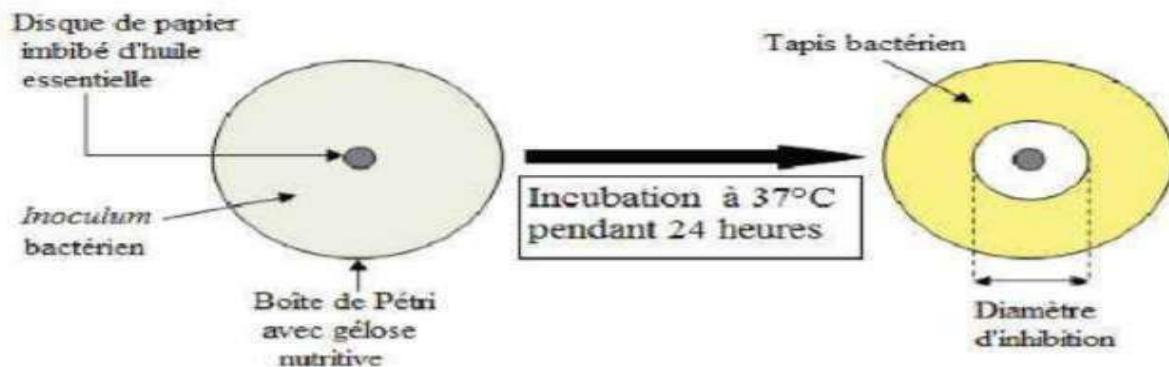


Figure22: principe de l'aromatogramme

Les résultats sont exprimés en moyenne selon quatre niveaux d'activité d'après (**Ponce *et al.*, 2003**) et (**Bouharb et al.,2014**) (**tableau 03**).

Tableau 03 : Catégorie de souche selon le diamètre d'inhibition selon la méthode d'aromatogramme (**Ponce *et al.*, 2003**)(**Bouharb et al., 2014**)

Catégorie de souche	Diamètre d'inhibition
Résistante(-)	< 8 mm
Sensible (+)	9mm ≤ D ≤ 14mm
Très Sensible (+ +)	15mm ≤ D ≤ 19 mm
Extrêmement sensible (+ + +)	D >20 mm

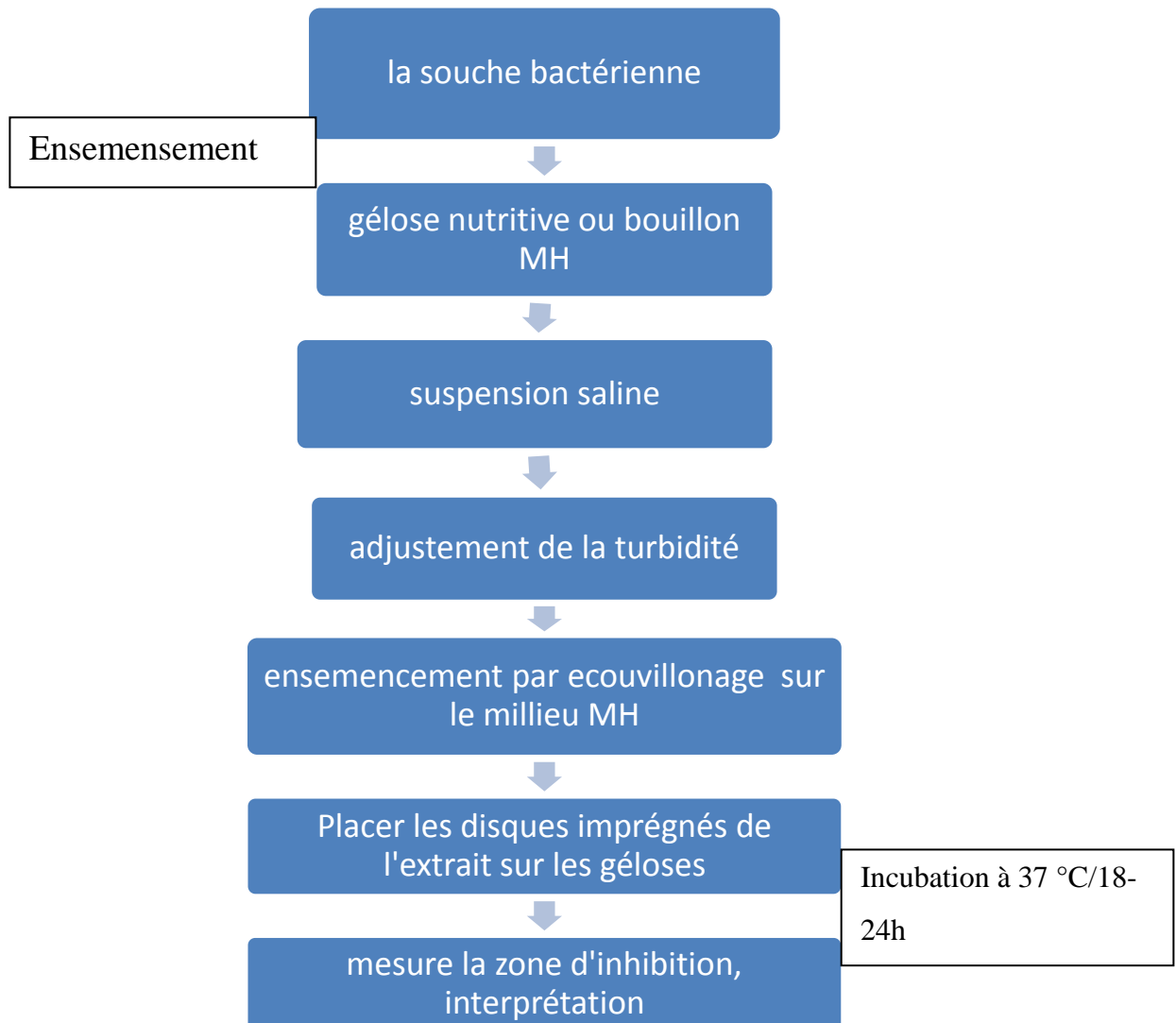


Figure 23 : Procédure du test de la sensibilité aux antimicrobiens par la méthode des disques

6.6.Méthode de micro-dilution en milieu liquide :

Ce test en milieu liquide a pour objectif de déterminer les deux paramètres antimicrobiens dont la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

La CMI est réalisée uniquement pour les extraits les plus actifs constatés lors des tests de sensibilité et ayant induit un diamètre de la zone d'inhibition supérieur ou égal à 9 mm choisi arbitrairement. Elle est définie comme la plus petite concentration de l'extrait à laquelle le micro-organisme ne montre pas une croissance visible. La croissance des microorganismes a été indiquée par la turbidité (**Fertout Mouri et al.,2016**). Elle représente la concentration du 1^{er} tube de la série dans lequel il y a absence du trouble dû à la croissance, comparativement au témoin.

La CMI est déterminée par la méthode de micro-dilution en milieu liquide rapporté par **Ranarivelo et al., 2016** et **Palici et al., 2016** avec modification.

Pour cela, une série de dilutions (25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3.125 ; 1.56 ; 0.8 ; 0.4 ; 0.2 ; 0.1 et 0.05) à partir des solutions mères (50mg/ml) sont réalisées pour les extraits :acétone, méthanol, et acétate d'éthyle préparé dans le DMSO-Eau (7 :3) (v /v)

20µl de chaque dilution de l'extrait testé sont introduit dans les puits de microplaque puis 80µl de BMH et 100µl de l'inoculum standardisé entre 0,5 et 1 MacFarlandsont ajoutés dans chaque puitun témoin négatif et un témoin positif sont utilisés :

- Témoin négatif : 200µl du BMH
- Témoin positif : 100 µl du BMH additionnés de 100µl d'inoculum

Les plaques sont ensuite recouvertes de para film et papier aluminium stérile, puis incubées à 37°C pendant 24h

Pour déterminer la CMB, , sur une gélose MH neuve sans antimicrobien, coulée dans des boîtes de pétri, on a ensemencé en stries parallèles de 5 cm de long 2 µl à l'aide d'une anse des contenus des cupules ayant une concentration \geq CMI dans la série de dilution précédente. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C par comparaison le nombre des colonies sur les stries à celles de la boîte témoin ensemencée avec des stries des dilutions de l'inoculum bactérien (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4})(boîte A). La plus faible concentration pour laquelle on n'observe aucune colonie microbienne (99,99% de destruction) correspond à concentration minimale bactéricide (CMB).

L'effet antibactérien a été jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport : CMB/CMI En effet, si $CMB/CMI \leq 4$, l'effet est bactéricide et si $CMB/CMI > 4$, l'effet est bactériostatique (**Berche et al., 1991 ; Bouharb et al.,2014**)

Résultat et discussion :

1. Taux d'humidité

La détermination de l'humidité des rameaux d'*Ephedra alata* a révélé un taux de 42.65% (figure 24). Cela signifie que plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée d'eau.

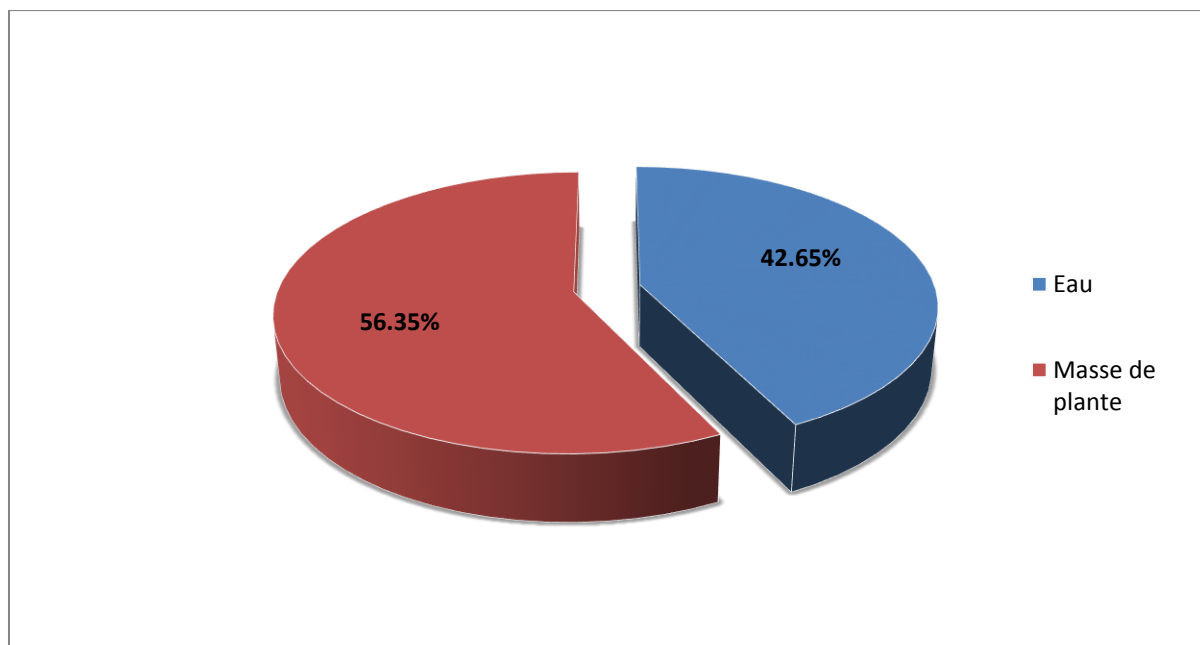


Figure 24: Teneur en humidité d'*Ephedra alata*

2. L'enquête ethnobotanique :

2.1. Les données sociodémographiques des enquêtés :

la présente étude a enrôlé 92 personnes de la région Mostaganem dont 51 de sexe masculin et 41 de sexe féminin, âgées de <20 à plus de 60 ans, mariées et célibataires et à des niveaux intellectuels différents (figure 25). Le temps consacré à chaque entrevue était d'environ 15 minutes. L'interrogatoire a été réalisé en langue arabe.

a. Répartition selon l'âge :

Les résultats obtenus montrent effectivement que les personnes enquêtées sont réparties dans toutes les tranches d'âge (figure 25a). Cependant, pour les personnes âgées de 20 à 29 ans, on observe une fréquence de 27.17% et pour les personnes âgées de 50 à 59 ans, le pourcentage est de 23.91%.

Les tranches d'âge [30-39], [40-49] viennent ensuite avec un pourcentage respectivement de 18.48% et 17.39%.

Les personnes plus âgées et très jeunes représentent un taux faible de 8.70% et 4.35%.

Résultats et discussion

b. Répartition selon le sexe :

Dans la zone d'étude, les hommes interrogés représentent un taux 55.43% alors que les femmes ont un taux 54.57 %(**figure 25b**)

c. Niveau d'instruction des enquêtés :

Concernant le niveau d'instruction des enquêtés, les résultats obtenus montrent que 35.87% sont des universitaires, alors que 21.74% ont un niveau secondaire et 19.57% ont un niveau moyen.

Les analphabètes représentent un pourcentage 16.30% par contre les personnes qu'ont un niveau primaire sont très peu représentés 6.52%(**figure 25c**)

d. Situation familiale :

Les personnes mariées représentent un taux 73.91% alors que les célibataires représentent 26.09 %(**figure 25d**)

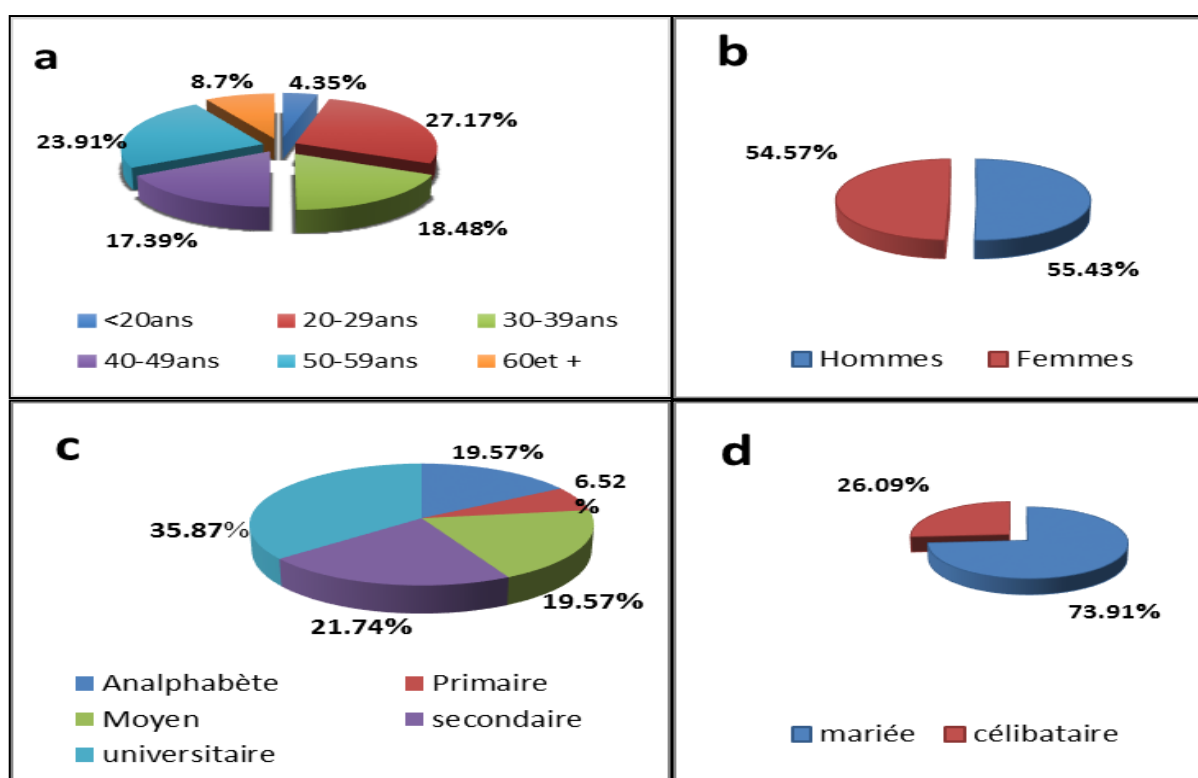


Figure 25: profils des enquêtés selon : **a** : l'âge, **b** : le sexe, **c** : niveau d'instruction, **d** : situation familiale

Résultats et discussion

2.2. Le taux et l'âge des enquêtés selon la connaissance de plante et de ses utilisations :

Selon les résultats obtenus lors de l'enquête ethnobotanique (**figure 26**), plus la moitié de populations interrogées ignorent totalement la plante (69,57%), cet ignorance (**figure 27**) est répandue chez tous les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 50-59 (19.57%) et ainsi chez la tranche 20-29 avec un pourcentage (17.37 %)

et environ 8,7% ignorent leur utilisation ils connaissent peu d'information sur la plante(le nom vernaculaire (nom commun), les organes utilisées et la période de récolte) ces personnes ayant un age compris entre 20-29ans avec un pourcentage faible (4.35%) et les autres classes d'age représente une fréquence très base entre 2% et 0%

Le taux des personnes qui connaissent l'utilisation de cette plante compris 21.74% ils utilisent d'une façon très fréquente dans la guérison de certains maladiés

les personnes qui connaissent l'utilisation d' *E.alata* appartiennent à la classe d'age 30-39ans qui représente un taux un peu élevé par rapport les autres classes (8.70%) en tant que les classes d'age 20-29ans,40-49ans, 50-59ans représentent les pourcentages suivants : 5,43%, 3,26%, 4,35%

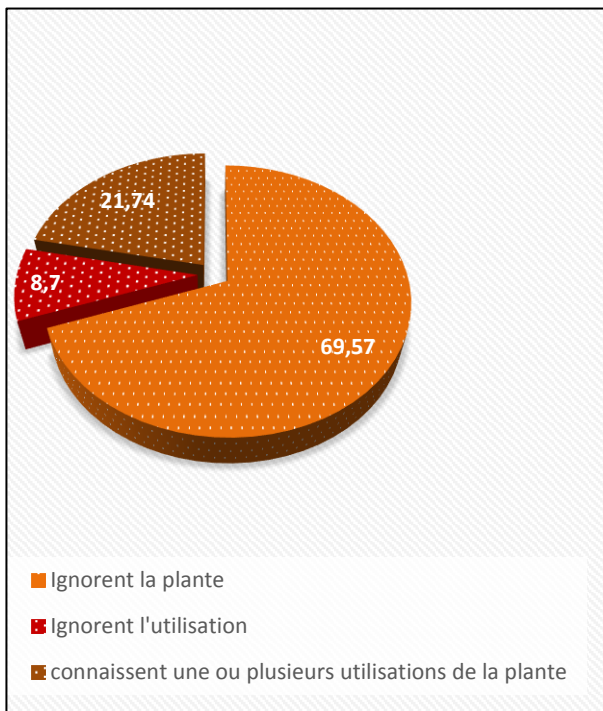


Figure 26: le taux des enquêtés selon la connaissance de la plante et de ses utilisation

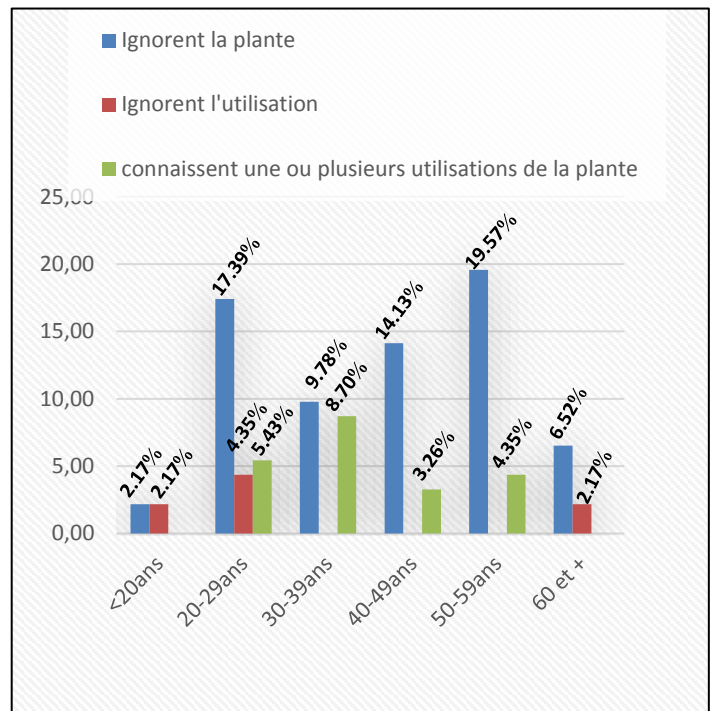


Figure 27 : répartition de l'âge des enquêtés selon la connaissance de la plante et de ses utilisations

Résultats et discussion

2.3. Utilisation thérapeutique de la plante *Ephédra alata* :

- Selon les parties utilisés :

Divers organes de la plante sont utilisés par les enquêtés qui connaissent l'utilisation d'*E.alata* lors de traitement de certaines maladies (**figure 28**) ; il s'agit de la tige, des racines, de la feuille et du fleur. Dans la zone d'étude, les tiges sont les organes les plus utilisés avec un taux (68.75%) suivies par les fleurs avec 15.63% .

Les racines et les feuilles sont les parties moins utilisés selon les personnes enquêtés avec un pourcentage de 9.38%, 6.25% (**figure 28**).

- Selon les maladies traités :

L'enquête a révélé que la majorité des personnes enquêtés utilise *E.alata* pour traiter le cancer avec un pourcentage de 64% suivis de l'asthme 12% (**figure 29**).

Ainsi l'*E.alata* est indiqué dans le traitement de diabète, de grippe et d'allergie avec un pourcentage de 8%

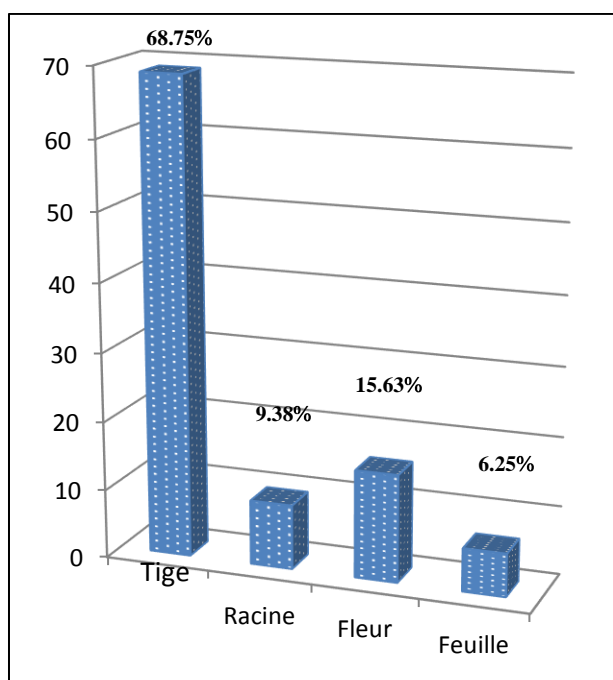


Figure 28:proportion de différents parties utilisées de la plante

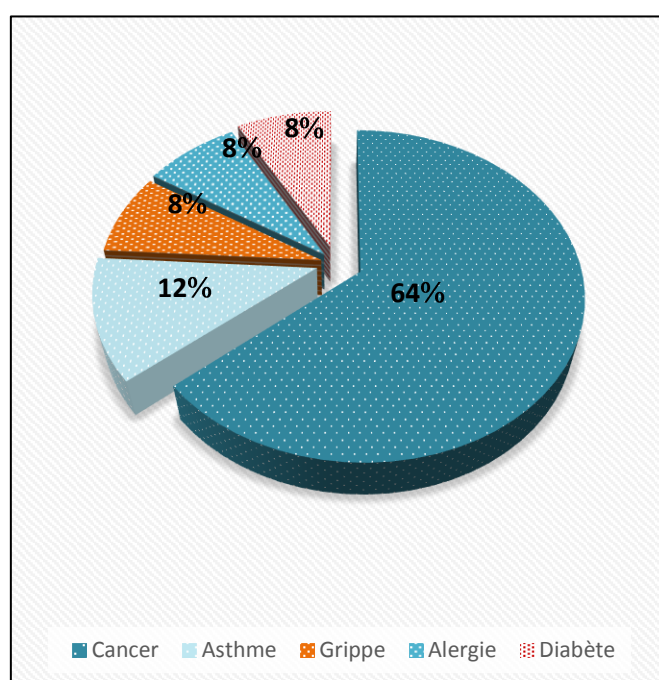


Figure 29 :proportion des pathologies traitées par la plante

Résultats et discussion

2. Les rendements des extraits bruts :

Les rendements de leurs extraits bruts sont mentionnés dans le **tableau 04** et la **figure 30**

Tableau 04 : Rendement et l'aspect de différents extraits bruts de l'*Ephédra alata*

L'extraction	Partie aérienne (rameau)		
	Rendement (%)	L'aspect	Couleur
Extrait méthanoïque	22.5%	Pâteux	Brune
Extrait d'acétate d'éthyle	4.35%	Poudreux	Verte
Extrait acétonique	3.9%	Visqueux	Verte
Extrait chloroformée	1.40 %	Visqueux	Verte
Extrait aqueux	19%	Cristallisé	Brune

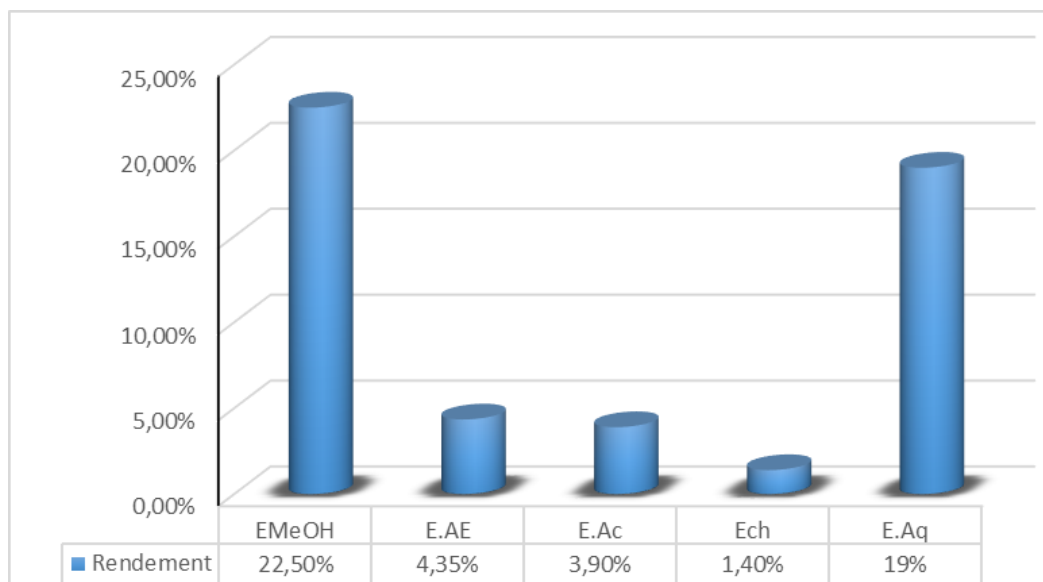


Figure 30: Pourcentage des extraits brutes de *L'Ephédra alata*

Résultats et discussion

Nous constatons que les rendements ont des valeurs différents en fonction des solvants appliqués dans la macération de la poudre de la plante *Ephédra alata*. Cette différence est due à leurs polarités croissantes (méthanol, acétate d'éthyle, acétone, chloroforme et l'eau distillée).

Le rendement d'extraction méthanolique est le plus élevé 22.5% suivi par le rendement L'extrait aqueux 19% qui plus élevé que l'extrait d'acétate d'éthyle 4.35% suivi par l'extrait acétonique 3.9% qui est élevé que l'extrait chloroformée 1.4%.

Le rendement d'extraction est dépendant de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et la taille des particules.

3. Analyse qualitative :

4.1. screening phytochimique :

L'analyse qualitative de la poudre de la plante *Ephédra alata* a pour but de la caractérisation de certains types de métabolites secondaires et d'autres composés phytochimiques ; Par des réactions de caractérisation qualitatives, des réactions qui sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques présentés dans le **tableau 05** et l'annexe.

Résultats et discussion

Tableau 05: Résultats de screening phytochimiques de *Ephédra alata*

Les composés phytochimiques recherchés		La partie aérienne (rameau) de l' <i>Ephédra alata</i>
Les alcaloïdes	Réactif de Mayer	-
	Réactif de Wigner	+
	Réactif de Dragendorff	+
	Réactif de Bouchardât	+
Les tanins	Réaction avec FeCl ₃	++
	Tanins catéchiques	+++
	Tanins galliques	+
Les flavonoïdes	Les anthocyanes	-
	Les leuco anthocyanes	+++
Les stérols		-
Les triterpènes		+
Les saponosides		-
Mucilages		+
Les composés réducteurs		+++
Les dérivés anthracéniques libres		-
Les dérivés anthracéniques combinés	O-hétérosides	-
	O-Hétérosides à génine réduite	+
	C-Hétérosides	++

(-) : Absent ; (+) : Présent ; (++) : Abondant ; (+++) : Très abondant

Les tests phytochimiques dont la précision reste quand même limitée ne nous renseignent pas sur la structure d'une molécule bien déterminée, ils permettent de détecter seulement l'absence ou la présence de telle ou telle famille chimique. Le rendement d'extraction est dépendant de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et la taille des particules.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus montrent que la plante étudiée est plus ou moins riche en métabolites secondaires

Les travaux antérieurs sur la partie aérienne de la plante *Ephédra alata* renferme des alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les tri terpènes, mucilages, les composés réducteurs et les dérivés anthracéniques combinés. Cependant, elle est dépourvue de stérols ,les saponosides et les dérivés anthracéniques libres

Les résultats trouvé par **Bourmita et al., 2013 et kebilli, 2016** montrent que L'*Ephédra alata* contient des alcaloïdes

Les résultats trouvées par Al-Snafi, 2017 montrent que l'*Ephédra alata* contient les composées phénoliques(les flavonoïdes et les tanins) et des composées réducteurs.

L'abondance en ces principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques importantes par la présence des alcaloïdes (**Al-Snafi, 2017**), (**Bruneton, 2009**), qui sont bien connus par leur effet toxique **Bourmita et al, 2013** et même les composées phénoliques qui ont un rôle biologique accés important .

4. Etude des effets antimicrobiens des extraits d'E.alata :

3.1. Confirmation de la souche :

3.1.1.Aspect macroscopique :

L'Observation macroscopique a montré que l'aspect de la bactérie *E.coli* donne des colonies de taille moyenne, lisses, rondes de couleur saumon sur le milieu Hektoen et des colonies de couleur rose sur le milieu Mac conkey (**figure 31**).

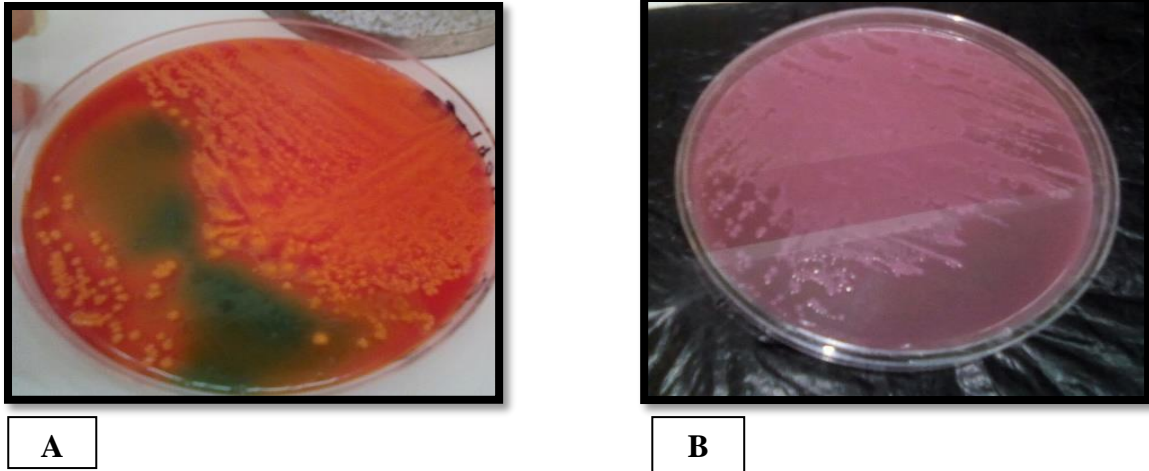


Figure 31: Aspect macroscopique d'*Escherichia coli* sur milieu Hektoen (A) et Mac conckey (B)

3.1.2. Aspect microscopique :

L'observation microscopique d'*Escherichia coli* à l'état frais montre la présence des bacilles, mobiles et l'examen après la coloration a révélé la présence des coccobacilles colorés en rose, cela indique que la bactérie d'*E.coli* c'est une bacille à Gram négatif (**Figure 32**)

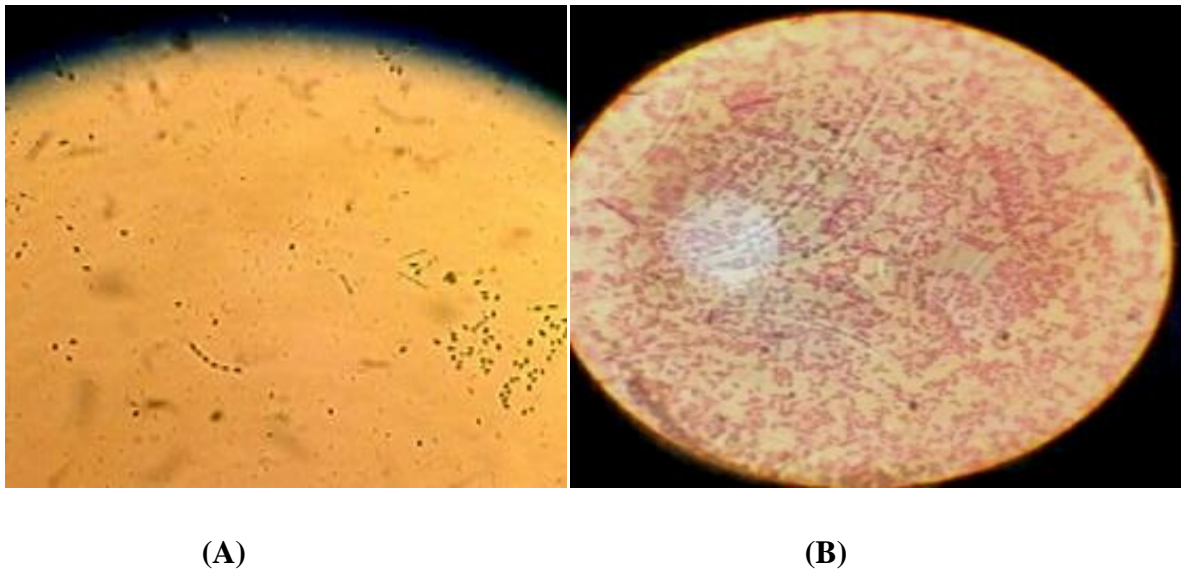


Figure 32: observation microscopique des colonies d'*Escherichia coli* à l'état frais X40 (A) et après la coloration de Gram X100 (B).

Résultats et discussion

3.1.3. Test de catalase :

Un dégagement des bulles de gaz a été observé lors de l'addition de H_2O_2 sur les colonies de *Escherichia coli* cela indique que cette bactérie possède l'enzyme de catalase (**figure 33**)



Figure 33: résultat de test catalase positif d'*Escherichia coli*

3.1.4 Antibiogramme :

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* est résumé dans le **tableau 6** et dans la **figure 34**.

10 antibiotiques standards sont testés sur la souche *Escherichia coli*, on observe que la souche réagit différemment aux antibiotiques étudiés.

Les zones d'inhibition varient de 00 à 30mm. *E.coli* ATCC 25922 est sensible aux 07 antibiotiques et résistante aux 03 antibiotiques (**tableau 06 ; figure 34**).

Résultats et discussion

Tableau 06: L'antibiogramme d'*E. coli*.

L'antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)	Catégorie de la souche
Amikacine AK 30	25	S
Amoxiline AML30	00	R
Cefazoline KZ30	00	R
Cephalothine KF30	00	R
Gentamicine CN30	30	S
Acide nalidixique NA30	20	S
Neomycine N30	20	S
Norfloxacine NOR10	25	S
Piperacilline PRL30	15	S
Tobramycine TOB10	20	S

S : sensible ; R : résistante .

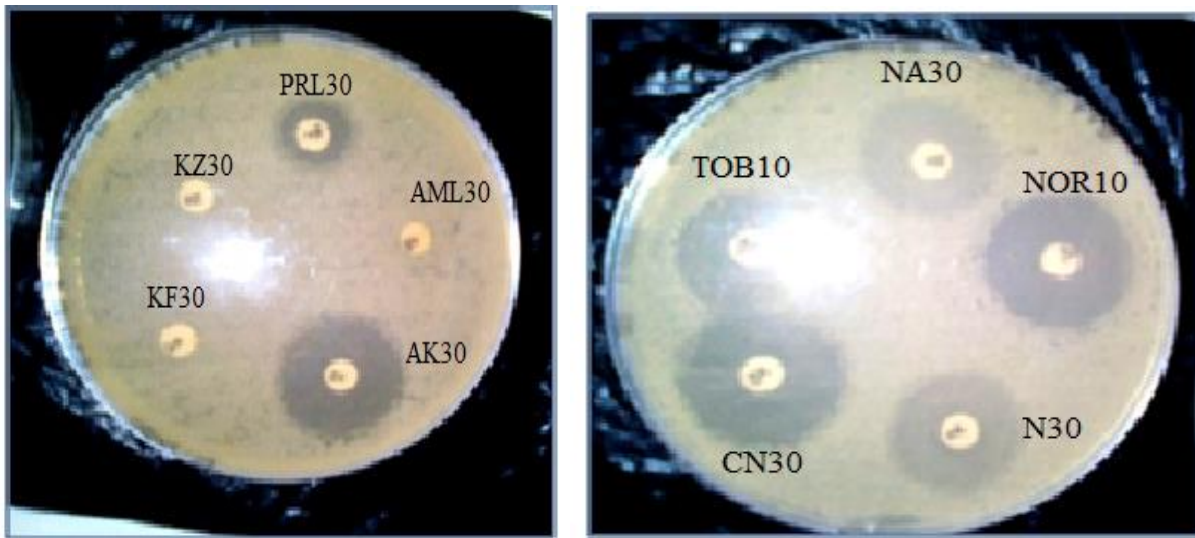


Figure 34: Effet des antibiotiques sur la croissance d'*Escherichia coli* sur le milieu Muller Hinton

Résultats et discussion

1.2.Méthode de diffusion en milieu solide:

Les résultats obtenus pour le test antibactérien des extraits de rameaux d'*Ephédra alata* sont représentés dans le **tableau 07** et dans la **figure 35**

D'une manière générale, On observe que les différents types des extraits d'*Ephédra alata* réagissent différemment sur la souche *E.coli*. Le diamètre d'inhibition diffère d'un extrait à un autre

La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques

Les extraits de méthanol, d'acétone et d'acétate d'éthyle possèdent une activité antimicrobienne relativement intermédiaire tandis que les autres extraits aqueux et chloroforme ont montré une activité antimicrobienne très faible

Cependant, Toutes les activités antibactériennes enregistrées des extraits sont moins marquées que le contrôle positif utilisé (gentamicine).

tableau 06 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition obtenus avec les extraits de rameau d'*E.alata* sur la souches *E.coli*.

Les extraits	Concentration 50mg /ml	Contrôle négatif DMSO-Eau	Contrôle positif CN30
E.de méthanol	12	0	20
E.d'acétone	10		
E.de chloroforme	0		
E.d'acétate d'ethyle	12		
E.aqueux	8		

0 : signifie l'absence de la zone d'inhibition claire autour des disques
diamètre de la zone = la moyenne de 3 estimation

Résultats et discussion

Les résultats obtenus montrent que les zones d'inhibitions varient du 0 à 12mm. Les extraits de méthanol, d'acétate d'éthyle, d'acétone et d'aqueux ont montré une activité sur la croissance d'*E. coli*.

Les extraits de méthanol, d'acétate d'éthyle, et d'acétone ont un effet inhibiteur sur la croissance d'*E. coli* par rapport aux antibiotiques suivants : Amoxiciline, cefazoline et cephalotine.

Cette activité est principalement due à la composition chimique de ces extraits tels que les alcaloïdes, les tanins, les triterpènes et autres

L'ampleur des diamètres formés peut être expliquée par la forte teneur en molécules actives, qui composent l'extrait, qui a conduit au blocage de la multiplication et prolifération de cette souche.

L'extrait chloroforme s'est révélé inactif sur la souche *E.coli* tandis que l'extrait aqueux a une activité faible donc ces extraits ont montré la résistance de la souche *E.coli*

Résultats et discussion

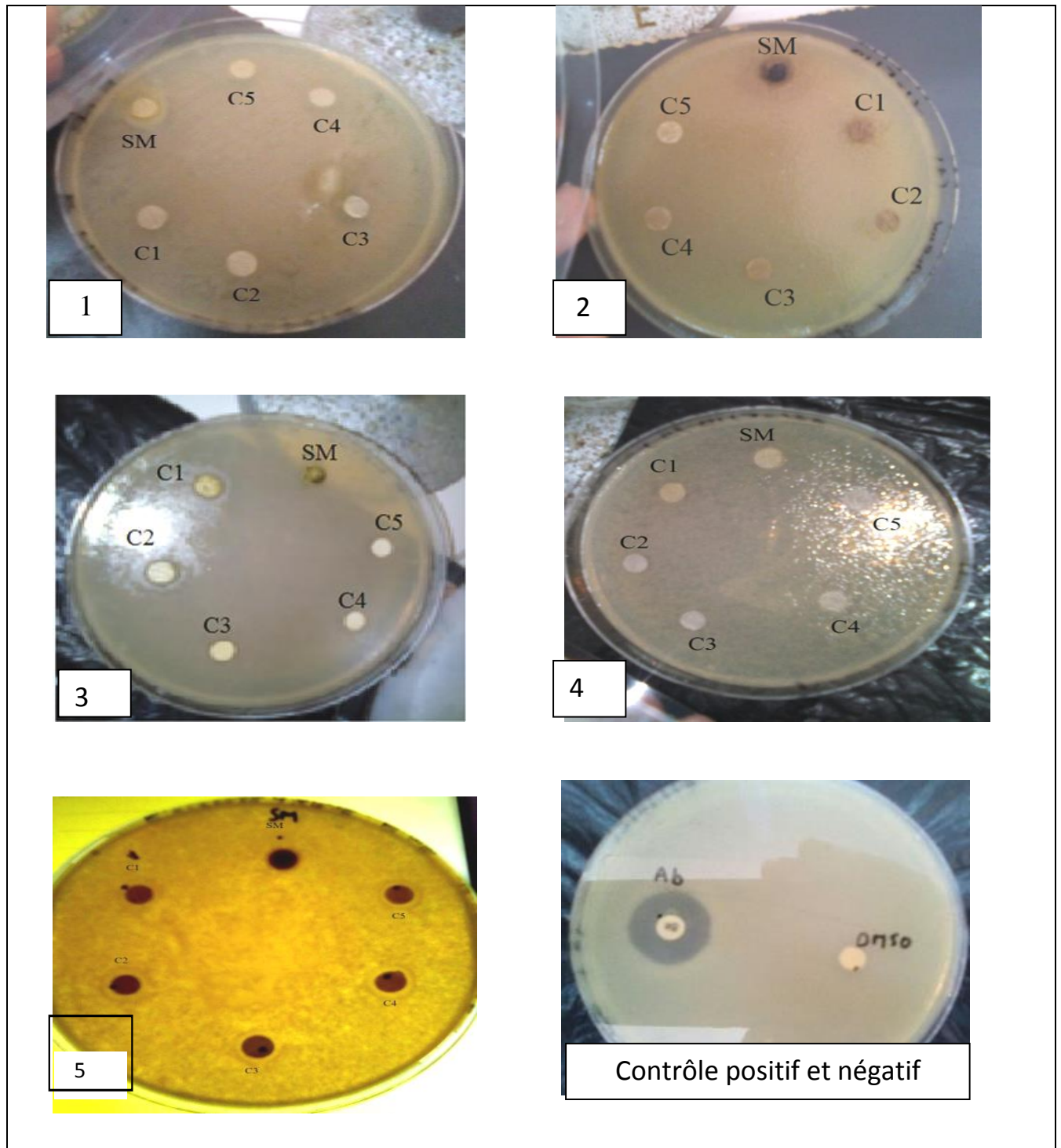


Figure 35: effet des différents extraits sur *E.coli* (La méthode de diffusion des disques)
1 : méthanol ; 2 : aqueux ; 3 : acétone ; 4 : chloroforme ; 5 : acétate d'éthyle Ab : antibiotique
CN30 : contrôle positif ; DMSO : contrôle négatif

Résultats et discussion

un travail précédent indiquait que l'espèce *Ephédra alata* possède des propriétés antimicrobiennes

les résultats obtenus sont comparables à ceux trouvés par le groupe de **Noureddine Gherraf** et ses collaborateurs, 2014, qui a prouvé que l'extrait d'acétate d'éthyle des fleurs d'*E.alata* a une activité faible contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et une activité moyenne contre *Staphylococcus aureus* et ceci est en accord avec les résultats rapportés par **Al-Qarawi et al., 2011**.

Cependant, l'étude menée par **Danciu** et ses collaborateurs (2019) indique que tous les bacilles à Gram négative sont résistants à l'extrait aqueux d'*E.alata* cela est compatible avec nos résultats et présente une activité moyenne contre *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*

Aussi l'activité antimicrobienne de différents types des extraits d'*Ephédra alata* tels que : acétonitrile, méthanol et eau a été évaluée contre les bactéries à Gram négatif et positif et aussi sur les champignons, les résultats obtenus ont été décrits par **Ghanem et El-Magly** qui ont montré que le seul extrait le plus actif c'est l'acétonitrile, de plus l'extrait méthanolique agit seulement sur les champignons par contre l'extrait aqueux qui montre aucune activité antimicrobienne.

d'autre étude réalisée par Palici et al., 2015 sur l'extrait éthanolique de la plante entière d'*E.alata* a montré des zones d'inhibition de 9.5mm contre *Bacillus subtilis* et *Moraxella catarrhalis*

1.3.Méthode de micro-dilution en milieu liquide :

Les résultats sur le **tableau 08** indiquent les valeurs des CMI et CMB de nos extraits les plus actifs qui ont montré une certaine sensibilité (09-14 mm) constatés lors de l'étude en milieu solide.

Les CMI et CMB sont déterminées après observation des cultures ; La CMB (99,99% de destruction microbienne), a été déterminée par comparaison à une boîte témoin (boîte A) ensemencée avec différentes dilutions de l'inoculum bactérien (**figure 36** et **figure 37**)

Résultats et discussion

Tableau 08: Paramètres antibactériens des extraits méthanol, acétate d'éthyle, acétone d'*Ephedra alata* sur la souche de référence *E.coli*

L' extrait	CMI (mg/ml)	CMB (mg/ml)	CMB/CMI	Pouvoir
Méthanol	20	78	3.9	Bactéricide
Acétate d'éthyl	78	ND	-	-
Acétone	156.25	156.25	1	Bactéricide

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice en milieu liquide, CMB : Concentration Minimale Bactéricide , ND : non déterminé

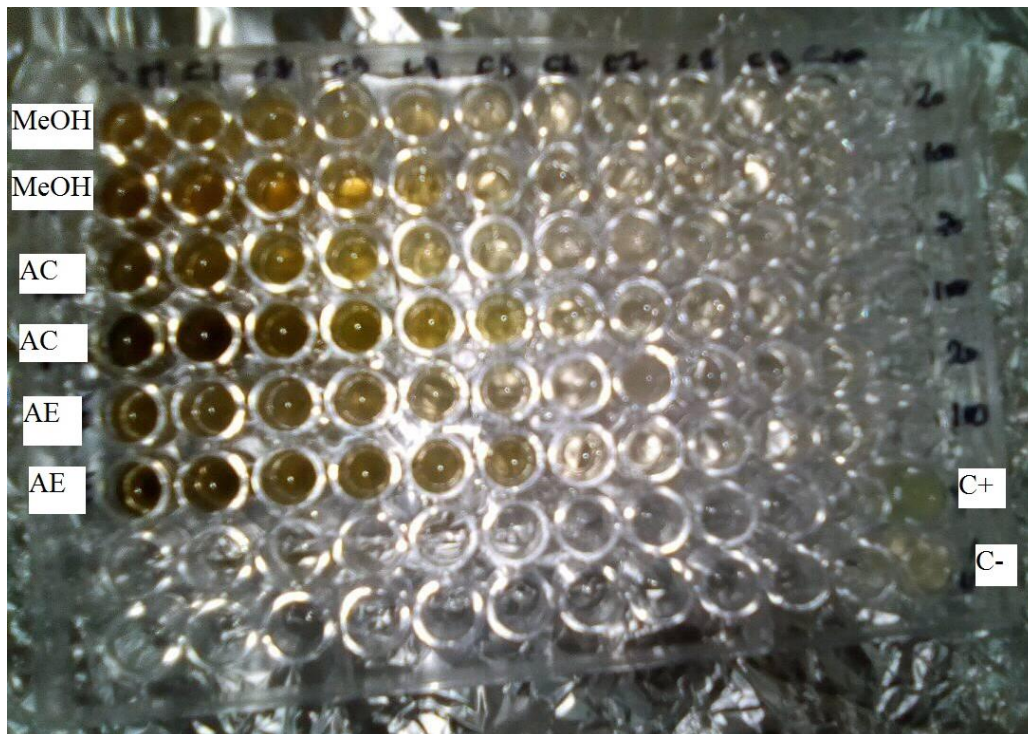
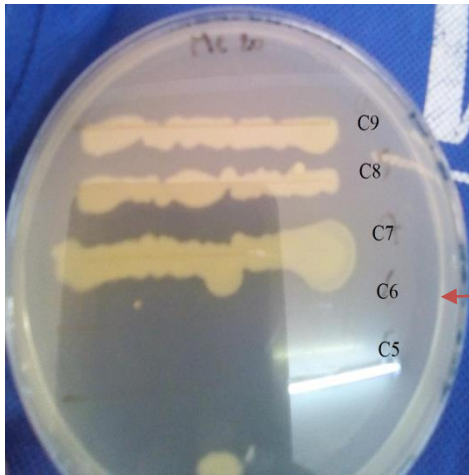
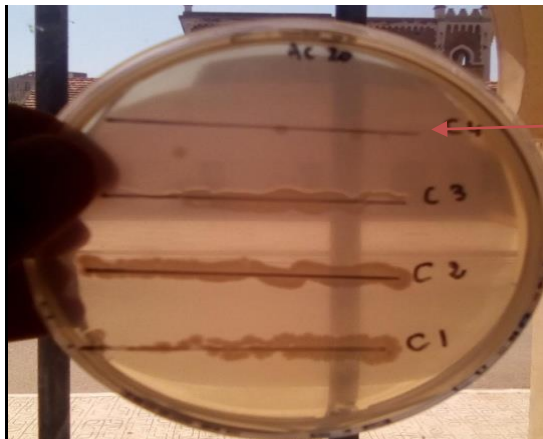


Figure 36: Résultats de la CMI sur la microplaque (MeOH :méthanol ; AC :acétone ; AE :acétate d'éthyle ; C+ :milieu MH+inoculum ; C- :milieu MH)

Résultats et discussion



(1)



(2)



(3)



Boite A

Figure 37: concentration minimale bactéricide les extraits d'Ephédra alata chez E.coli
(1) : extrait de méthanol (2) : extrait d'acétone (3) : extrait d'acétate d'éthyle

Résultats et discussion

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 4.5 à 2500 mg/ml. L'analyse de la CMI et CMB montre que l'extrait de méthanol d'*E.alata* a une concentration minimale inhibitrice (20 mg/ml) et un effet bactéricide alors que l'extrait d'acétone a montré une valeur de CMI égale 156.25 mg/ml et un effet bactéricide par contre l'extrait d'acétate d'éthyle qui présente que la concentration minimale inhibitrice de valeur égale 78 mg/ml

Les données de la littérature sur la CMI et CMB des extraits d'*Ephédra alata* sont rares ; Cependant, Palici et *al.*, 2016 ont déterminé la CMI chez les staphylocoques résistants à méthicilline supérieure de 5 mg/ml tandis que les autres bactéries à Gram négatif, leurs CMI ne sont pas déterminés.

Conclusion

Conclusion :

De nos jours, Les plantes médicinales constituent une composante fondamentale pour l'avenir du système de santé dans le monde ; elles demeurent d'une part une source inépuisable de substances biologiquement actives et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Le présent travail est consacré à l'enquête ethnobotanique, détermination du rendement, quelques propriétés phytochimiques et des propriétés antibactériennes des extraits des rameaux d'*Ephédra alata* récolté dans la région de Bechar.

Selon l'enquête ethnobotanique, un peu de population interrogée connaît cette plante, dont 69.57 % ignorent totalement la plante et environ 21.74 % connaissent la plante mais ignorent ses utilisations et seulement 8.70 % connaissent au moins l'une de ses utilisations la majorité des personnes utilise *E.alata* pour traiter le cancer , l'asthme, diabète, de grippe et d'allergie avec un fréquence d'utilisation de 64%,12% et 8%respectivement

L'extraction de la partie aérienne de la plante (les rameaux) a permis d'obtenir des rendements et des aspects qui diffèrent en fonction des solvants utilisés, l'extrait de méthanol représente un meilleur rendement par rapport les autres extraits avec un pourcentage 22.5%

Le screening phytochimique a mis en évidence diverses classes de métabolites secondaires dans les rameaux de la plante : alcaloïdes,tanins (cathéchiques et galliques),flavonoïdes(leuco anthocyanes), composés réducteurs,triterpènes, dérivés anthracéniques combinés (O-Hétérosides à génine réduite et C-Hétérosides) et mucilage .

L'activité antibactérienne des extraits méthanolique, aqueux, acétate d'éthyle, acétone et chloroforme à partir des rameaux d'*Ephédra alata* est testée sur la souche *Escherichia coli* ATCC 25922

Les résultats obtenus ont montré que les extraits d'acétate d'éthyle, d'acétone et de méthanol sont les seuls qu'ont présentés une activité contre la souche *E.coli* tandis que les deux autres extraits aqueux et chloroforme ne montrent aucune activité sur cette souche.

L'extrait de méthanol et l'acétone ont dévoilé un effet de type bactéricide vis-à-vis de l'espèce microbienne *E.coli*.

Conclusion

Parmi les perspectives immédiates de cette étude est d'évaluer la cytotoxicité des extraits sur les modèles animaux, de faire des tests complémentaires sur d'autres souche bactériennes, des champignons et des levures, d'évaluer l'activité antioxydante et caractériser des composés responsables de cette activité.

Références bibliographiques

- **Abderrazak M., Joël R., 2007**, La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris, 177p.
- **Abourashed EA., El-Alfy AT., Khan IA. et Walker L., 2003**. *Ephedra* in perspective—a current review. *Phytother. Res.*17:703-712p.
- **Al-AwaidaW., Al-Houran BJ., Akash M., Talib W.H., Zein S., Falah R.R., 2018**. In vitro anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant potentials of *Ephedra aphylla*..*J. Cancer Res. Ther.*14 (6):1350-1354p .
- **Al-Qarawi AA., Abdallah EF., Abeer H., 2011**. *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxigenic seed borne mold. *African Journal of Microbiology Research*, 16(5):2297-2303p.
- **Al-Rimawi F., Abu-Lafi S., Abbadi J., Alamarneh A., Sawahreh RA., Odeh I., 2017**. Analysis Of Phenolic And Flavonoids Of Wild *Ephedra Alata*. Plant Extracts By Lc/Pda And Lc/Ms And Their Antioxidant Activity. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 14(2), 130–141p.
- **Al-Sanafi AE., 2017**. Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra folita*-A review. *Indo Am. J. P. Sci*; 4(02), 399-406p.
- **Al-Taisan W., Al-Qarawi A., Alsubiee M., 2010** . Effect of water stress by Polyethylene Glycol 8000 and Sodium Chloride on germination of *Ephedra alata* Decne seeds. *Saudi journal of biological sciences*, 17(3):253-257p.
- **Aline oliveira da conceição, 2010** - Effet d'extraits de plantes médicinales sur la différenciation cellulaire et le transport du calcium par les cellules syncytiotrophoblaste-like humaines. Thèse de doctorat de l'université du Québec à Montréal 186p.
- **Amlan K., Patra JS., 2010**. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71:1198–1222p .
- **Andrade JR., Da Veiga VF., De Santa Rosa MR. et Suassuna I., 1989**. An endocytic process in HEP-2 cells induced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Med Microbiol*, 28:49-57p.
- **Aniszewski T., 2007**. Alkaloids – secrets of life alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role, *In: Definition, Typology and Occurrence of Alkaloids*, 1st Edition, Elsevier. Amsterdam, 1-57p

Références bibliographiques

- **Arbenz A., Avérous L., 2015** .Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. *Green Chem*, 17:2626–2646p.
- **Azimi AA., Hashemloian BD., 2015**. In vitro shoot and callus induction and alkaloid contents of *Ephedra intermedia* (Schrenket) of Iran, *Journal of Plant Sciences* 3(1): 1-8p.
- **Badiaga M., 2011**- Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de doctorat, université de Bamako. 100 p.
- **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: 249-255p.
- **Beaulieu H., Bolduc D., Bouchard S., Michelle Boulanger M., Anne Fortin A., Caroline Fraser C., Giguère D., Hains S., Jenkin H., Maranda C., Marcil C., Saint-Louis D., Saucier C., Chantal Soucy., St-Gelais E., St-Pierre M., Tremblay M., 2011**. Prévention et contrôle des infections nosocomiales, 2010-2015, 71p.
- **Beddou F., 2015** .Etude phytochimique et l'activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss & Dur, Thèse de doctorat. Université de Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 144p
- **Bell A., Bachman S, 2011**-*Ephedra alata*. The IUCN Red List of Threatened Species. T201688A9165505, The IUCN Red List Partnership. 7p.
- **Berche P., Simonet M., Gaillard J.L, 1988** .Bactériologie, 1^{ère} édition Flammarion Médecine-Sciences, Paris. France , 660p.
- **Berregioua A., 2016** . Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*, Thèse de doctorat, Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen, 231p.
- **Bertholom C., 2009** - Facteurs de virulence d'*Escherichia coli* : de l'urosepsis à la méningite chez le nouveau-né. *Option Bio*, 20 : 11p.
- **Blumenthal M., King P., 1995** . Ma huang: ancient herb, modern medicine, regulatory dilemma; a review of the botany, chemistry, medicinal uses, safety concerns, and legal status of ephedra and its alkaloids. *American botanical council* , 34 : 22–27p.

Références bibliographiques

- **Boizot N., Charpentier JP., 2006** -Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro Spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. 79-82p.
- **Boozer CN., Nasser JA., Heymsfield SB., Wang V., Chen G., Solomon JL., 2001.** An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. *Int J Obes Relat Metab Disord.* **25**(3):316-24p.
- **Bouamoud F., 2014** . Etude des paramètres biochimiques et corrélation avec la lithiase urinaire. thèse de doctorat ,Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem 159p.
- **Boudjouref M., 2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L*, Mémoire de magister, Université Ferhat Abbes-Sétif, 99p .
- **Bouguenoun W., 2017** . Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées des infections nosocomiales et leur disséminations dans les environnements hospitalier dans la région de GUELMA ,Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba ,176p.
- **Bouharb H., El Badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S., Alaoui T., 2014.** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* , *Journal of Applied Biosciences*, **78**:6685 – 6693p.
- **Bruneton J., 1993** .Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 915p.
- **Bruneton J., 2009** .Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, 4^eédition , TEC & DIC ,Paris 1269p.
- **Caveney S., David A., Charlet, Freitag H., Maier-Stolte M., Andstarratt A., 2001.**New Observations On the Secondary Chemistry of World *Ephedra* (*Ephedraceae*), *American Journal of Botany*, **88**(7): 1199–1208p.
- **Cheick Traoré M., 2006** . Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali, Thèse de doctorat, Université de Bamako, 175p

Références bibliographiques

- **Chen WL., Tsai TH., Yang CCH., Kuo TBJ., 2010.** Effects of *Ephedra* on autonomic nervous modulation in healthy young adults. *Journal of ethnopharmacology*, **130**, 563–568p.
- **Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2018,** Société française de microbiologie ,133p.
- **Dali Ali A.,2015** - Infection nosocomiales à bactéries multi résistantes (BMR) en réanimation adulte à l'EHUO profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques, thèse de doctorat, Université d'Oran 1 Ahmed Benbella, 161p.
- **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- A. 2019** - 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**(13): 1-15p.
- **Del Rio D., Rodriguez-Mateos A., Spencer JP., Tognolini, M., Borges, G., Crozier A, 2013** - Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, **18**(14):1818-1892p.
- **Derbel S., Touzard B., Triki MA et Chaieb M,2010-** Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alata* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*, **205**, 471–474p.
- **Derbel S., Touzard B., Triki MA et Chaieb M,2010** - Seed germination responses of the Saharan plant species *Ephedra alata* ssp. *alata* to fungicide seed treatments in the laboratory and the field. *Flora*, **205**:471–474p.
- **Djermane N ,2014** - Extraction des métabolites secondaires des plantes médicinales : *Pulicaria arabica* (L.) Cass et *Rhanterium adpressum* Coss & Durieu et évaluation de leurs propriétés bioactives. Mémoire de Magister Université Larbi Ben M'hidi - Oum El Bouaghi, 103p.
- **Dobignard A., Chatelain C, 2010** - Index synonymique, Flore d'Afrique du Nord. vol. 1, Genève, 455 p.
- **Doymaz, I., Gorel, O., Akgun, A, 2004** - Drying characteristics of the solid by product of olive oil extraction. *Biosystems engineering*, **88**: 213-219.

Références bibliographiques

- **Dridi E., Chetoui A., Zaoui A, 2006** - Prévalence de l'infection nosocomiale dans un hôpital régional tunisien, *Santé Publique* , **2**(18) :187-194p.
- **Ducel G., Fabry J., Nicolle L, 2002**-Epidimologie des infections nosocomiales In *Prévention des infection nosocomiales 2eme édition* de 5à 10 p .
- **Epelboin L., Macey J, 2008** -Maladies infectieuses et transmissibles en France ,467p.
- **Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M, 2007** - Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry* **68** (7):939-953p.
- **Fertout-Mouri N., Latrèche A., Mehdadi Z., Toumi-Bénali F., Khaled M.B, 2016**-Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium L.* du mont de Tessala (Algérie occidentale), **15**(6) :346-353p.
- **Gachkar L.,Yadegari D., Razaee MB , 2007** -Chemical and biological characteristics of Cumiumcyminum and Rosmarinus officinalis essential oils . *Food chemical*,**102**(2) :898-904p.
- **Ganem S., et El-Magly U, 2008** -Antimicrobial activity and tentative identification of active compounds from the medicinal *Ephedra alata* male plant.*ITU Med SC*.**3**(1),7-15p.
- **Gherraf N., Chebouat E., Dadamoussa B., Garabli S., Allaoui M., Cheriti A., et Zellagui A, 2014** -Assessment of antimicrobial activity of flavonoids extracts from *Ephedra alata*. *Der pharmacia lettre*. **6**(3) ,27-30p.
- **Ghourri M., Zidane L., Douira A, 2013** -Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan-Tan). *Journal of Animal &Plant Sciences*, **17**, 2388-2411p.
- **Guiraud J.P, 2003** -Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod. Paris. 615p
- **Hamadache N, Janvier 2011** - Criblage des extraits phénoliques d'origine végétal douées d activités antibactérienne, recherche des inhibiteurs naturels de ²-lactamases, mémoire de magister, Université A/MIRA de Bejaia (UAMB) 63p .
- **Harborne J.B., 1998** -Phytochemical Method A guide to modern techniques of plants analysis. 3rd edition, Springer Netherlands editor,302p.
- **Hartmann T, 2007** -Fromwasteproducts to ecochemicals: fifty yearsre search of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. **68**:2831–2846p.

Références bibliographiques

- **Herbert RB, 1989** -The biosynthesis of secondary metabolites. 2nd edition Chapman and Halle, 11- 115p.
- **Herzi N, 2013** -Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. Institut National Polytechnique de Toulouse,177p
- **Hikino H., Konno C., Takata H., Tamada M, 1980** -Antiinflammatory principle of *Ephedra* Herbs . *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **28**(10):2900-2904p.
- **Hmid I, 2013** -Contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica Granatum L.*) : caracterisation physicochimique, biochimique et stabilite de leur jus frais. Alimentation et Nutrition.thèse de doctorat. Université d'Angers, France .177p.
- **Huang J., Price R.A, 2003** -Estimation of the Age of Extant *Ephedra* Using Chloroplast rbcL Sequence Data. *Mol. Biol. Evol* , **20**(3),435–440p.
- **Hurtado-Fernandez E., Gomez-Romero M., Carrasco-Pancorbo A.Fernandez Gutierrez A, 2010** -Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*,53: 1130–1160p.
- **Ibragic, S., Sofic E, 2015** -Chemical composition of various *Ephedra* species. *Bosnian journal of basic medical sciences*,**15**(3):21-27p.
- **Ickert-Bond S., Wojciechowski M, 2004** - Phylogenetic relationships in *Ephedra* (Gnetales): Evidence from nuclear and chloroplast DNA sequence data. *Systematic Botany*, **29**(4):834-849p.
- **Palici I.F, 2016**-Valorisation des Activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes Nord-africaines, Thèse de doctorat, Université de Bordeaux,151p.
- **Jaradat N.A., Al-Ramahi R, Zaid A.N., Ayesh OI., Eid A.M, 2016** -Ethno pharmacological survey of herbal remedies used for treatment of various types of cancer and their methods of preparations in the West Bank-Palestine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*,**16**:1p.
- **Kahlouche-Riacht F, 2014** - Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie, Thèse de doctorat, Université de Constantine1,111p.

Références bibliographiques

- **Khanbabaee K., Ree T, 2001** - Tannins: Classification and Definition. *Nat. Prod. Rep*, **18**:641-649 p.
- **Kmail A., youssi B., Zaid H., Imtara H., Saad B, 2017** -In vitro evaluation of anti-inflammatory and antioxidant effects of *Asparagus aphyllus L.*, *Crataegus azarolus L.*, and *Ephedra alata Decne.* in monocultures and co-cultures of HepG2 and THP-1-derived macrophages. *Pharmacogn. Commn*, **7**(1):24-33p.
- **Krief S, 2003** -Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Life Sciences. Museum national d'histoire naturelle - MNHN Paris ,France,343p .
- **Langlois J, 2000**- Les infections nosocomiales et les infections a l'occasion des soins hors de l'hopital, 21p.
- **Lazureskii G.V., Terenteva I.V., Chamchurin A.A, 1966** - Pratiqueskii raboti po khimii soedinienii. Édition Vischaya Chkola, Moscou (Russie),334 p.
- **Levine M, 1987** - *Escherichia coli* that cause iarrhea : enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *Journal of infectious Diseases* **155**:377-389p.
- **Li W.C., Zhou J., Guo S.Y., Guo L.D, 2007** – Endophytic fungi associated with lichens in Baihuam ountain of Beijing, China. *Fungal Diversity*; **25**: 69 – 80p.
- **Limberger R.P., Jacques A.L.B., Schmitt GC.,Arbo M.D, 2013** - Pharmacological Effects of Ephedrine. *Natural Products*, pp. 1218- 123
- **Longaga A.O., Vercruysse A., Foriers A, 2000** - Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhoea in Lomolaarea, Democratic Republic of Congo (RDC). *J. Ethnopharmacol.* **71**: 411-423p.
- **Lymberopoulos M, 2004** -Identification, caractérisation et distribution phylogénétique de fimbriae IR chez *E.coli* mémoire présenté pour l'obtention de grade de maitre des sciences en microbiologie appliqué institut Armand-Frappier 109p.
- **Macheix J.J, 1996** - Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle, *Acta Botanica Gallica*, **143**(6), 473-479p.

Références bibliographiques

- **Mahmoudi Y, 2011** - La thérapeutique par les plantes en Algérie. Palais du livre Blida. *Ephedra alata*. Ecologie 468p.
- **Mainil J , 2003** - Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* (les adhésines et facteurs de colonisation), 105-126p
- **Mansour A, 2009** - Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espece *centaurea africana*.Mémoire de magister , Université Mentouri Constantine.102p
- **Malecky M, 2005** -Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins,Thèse de doctorat, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech) ,Paris 201p.
- **Mariani-Kurkdjian,P ,Bonacorsi,S.2014** - Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entéro-hémorragiques, Bactériologie EHEC/STEC ,317,41-47p).
- **Melenteva G.A. et Antonova L.A., 1993** – *Farmat sevlicheskaya khimia*. Édition Moskva Medicina, Moscou (Russie),574 p.
- **Meyer SE, 2008** - *Ephedra L.:ephedra* or Mormon-tea. In:Bonner, Franklin T.; Karrfalt, Robert P., eds. The Woody Plant SeedManual. Agric. Handbook No. 727. Washington, DC. U.S. Department of Agriculture, Forest Service,492-494 p.
- **Meziane Y., Mekaouche K, 2012** -Teneurs en composés phénoliques et activité antioxydante de quelques matières végétales locales. Thèse d'Ingénieur d'Etat. Université A. Mira de Bejaia ,90p.
- **Naucial C.,Vildé J-L, 2005** - Bactériologie médicale . 2^e édition ,MASSON Editeur,257p.
- **Niass O., Sarr S.O., Diop A., Diop Ab., Diop A.M, 2015** -Etude in vitro de l'activité antibactérienne de quelques plantes utilisées en médecine traditionnelle locale au Saloum (Sénégal) Science Lib Editions Mersenne,7 :1-10p .
- **Okou O.C., Yapo S.E.S., Kporou S.K.E ., Baibo G.L., Monthaut S ., Djaman A.J, 2018** - Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Solanum torvum* Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries , *N Journal of Applied Biosciences*122: 12287-12295p .
- **Ouis N, 2015** - Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fenouil, et de Persil ,Thèse de doctorat. université d'Oran1, 223p.
- **Ould El Hadj M., Didi Hadj-Mahammed M., Zabeirou H, 2003** - Place Des Plantes Spontanees Dans La Medicine Traditionnelle De La Region De Ouargla (Sahara Septentrional Est) Algérie,03 :47-51p.

Références bibliographiques

- **Ozenda P, 1991**, Flore et végétation du Sahara. Centre National De La Recherche Scientifique, 3^{ème} édition, Paris, 662 p.
- **Parsaeimehr A., Sargsyan E., Javidnia K, 2010**, Influence of plant growth regulators on callus induction, growth, chlorophyll, ephedrine and pseudoephedrine contents in *Ephedra procera*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(13):1308-1317p.
- **Pereira D.M., Valentão P., Pereira A.J., Andrade P.B, 2009** - Phénoliques: de la chimie à la biologie. *Molecules*.14 (6), 2202-2211p.
- **Persky AM., Berry NS., Pollack GM., Brouwer KL, 2004** - Modélisation des effets cardiovasculaires de l'éphédrine. *Journal britannique de pharmacologie clinique*, 57 (5) :552-562p.
- **Ponce AG., Fritz R., del Valle CE., Roura SI, 2003** - Antimicrobial activity of essential oils on the native microfora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36: 679-684p.
- **Psotova J, Lasovsky J., Vicar J, 2003** - Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. *Biomed.Papers*, 147(2):147-153 p.
- **Qassmi L, 2010** - Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation (Aprpos de 147 cas) thèse de doctorat, Université Sidi Mohammed Benabdellah, 148p.
- **Ramoul A., 2014** - Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses, thèse de doctorat, université Badji Mokhtar – Annaba, 115p.
- **Raven PH., Vert RF., Eichhorn.S.E, 2003** - Biologie végétale, 6^{ème} édition, De Boeck, Paris (France), 968p.
- **Rezine F. et Fedaouche MS, 2017**. Coumarines à intérêt thérapeutique : Synthèse et contrôle analytique. thèse de doctorat. université DR. B. Ben Zerdj Eb – Tlemcen, 133p.
- **Rustaiyan A., Javidnia K., Farjam M H., Aboee-Mehrizi F., Ezzatzadeh E. 2001**. Antimicrobial and antioxidant activity of the *Ephedra sarcocarpa* growing in Iran. *J.of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4251-4255p.

Références bibliographiques

- **Sarni-Manchado P., Veronique C, 2006.** Les polyphénols en agroalimentaires. agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France), 398p.
- **Savoie F., 2011.** Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments, Université de Bourgogne thèse Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Bourgogne 171p.
- **Senov PL., 1978.** Farmatsevticheskaya chimia. Édition Moskva Medicina, Moscou (Russie); 480 p.
- **Shabana MM., Mirhom YW., Genenah AA., Aboutabl EA., Amer HA., 1990.** Study into wild Egyptian plants of potential medicinal activity. Ninth communication: hypoglycaemic activity of some selected plants in normal fasting and alloxanised rats. *Arch Exp Veterinarmed*, 44(3):389-394p
- **Sofowora A., 1993.** Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Spectrum Books, Ibadan, 150p.
- **Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), 2011, 6^e édition, 192p.**
- **Wang TY., Li Q., Bi KS., 2018.** Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Journal asiatique des sciences pharmaceutiques*, 13 (1), 12-23p.
- **Tona L., Kambu K., Ngimbi N., Cimanga K. & Vlietinck A. J., 1998,** Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *J. Ethnopharm*, 61: 57-65p.
- **Touafek O, 2010,** Etude phytochimique de plante médicinale du nord et du sud algérien. Thèse de doctorat, université Mentouri Constantine. 258p.
- **Trease GE., Evans WC, 2002 .** Pharmacognosy, 15th edition, Saunders Publishers, London, 584p.
- **Tron I., Piquet O., Baert A., Mouton C., 2002.** Toxon Manuel de Toxicologie. Guide technique. ADEME, Angers; 128p.
- **Twidwell E.K., Wagner., JJ., Thiex NJ., 2002.** Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages". *Extension Extra*, 282p.
- **Verbois S, 2015.** La phytothérapie. Editions Eyrolles Editeur pratique. France. 192p

Références bibliographiques

- **Vermerris W., Nicholson, 2006** . Phenolic compound biochemistry. *Springer. Dordrecht, Pays-Bas, 267p.*
- **Worowounga X., Ernest L.Y, Namkona A.f, Boulala P.F., Saravolia M., Jean-Laurent SM., Boniface K, 2019** .Activite antibacterienne de l'extrait methanolique des ecorces de manilkara mabokeensis International., *Journal of Innovation and Applied Studies.*,**25** :785-791p.
- **Zhang BM., Wang ZB., Xin P., Wang QH., Bu H., Kuang HX. 2018.** Phytochemistry and Pharmacology of Genus *Ephedra*. *Chinese Journal of Natural Medicines.*,**16** (11) 811-822p.

Les sites électroniques:

- <http://decoupageadministratifalgerie.blogspot.com/2014/10/cartegeographiqueBEC HAR.html>
- <https://paramedicsworld.com/systematic-bacteriology/staphylococcus-aureus/medical-paramedical-studynotes#.XHvXYLpKjIU>
- https://www.bioutils.ch/ckeditor_assets/attachments/ec.jpg
- https://www.researchgate.net/figure/Pseudomonas-aeruginosa-C-Dennis-Kunkel-Microscopy-Inc_fig1_318258505
- <https://www.topsante.com/themes/escherichia-coli>

Annexes

- **Technique de la préparation de l'état frais :**

Déposer une petite goutte d'eau stérile sur la lame.

Prélever une fraction de colonies sur gélose, de préférence aux bords de celle-ci (ou prélever une petite goutte de bouillon).

Faire une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum et en remuant très délicatement (afin de ne pas casser les flagelles).

Recouvrir d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air. Le liquide ne doit pas déborder (sinon jeter la lame dans une solution désinfectante et recommencer).

Observer rapidement à l'objectif 40 en mettant la lumière au maximum mais en fermant le diaphragme (ou utiliser un système « fond noir » ou à « contraste de phase » .

Après observation, jeter l'état frais dans un bac contenant un désinfectant à large spectre car les bactéries sont vivantes

- **Coloration de Gram :**

-Réalisation d'un frottis

Avant toute coloration, il faut réaliser un frottis, c'est-à-dire un étalement, si possible monocouche, des bactéries sur une lame.

La technique du frottis est fort simple :

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile si la culture prélevée est solide, puis prélever à l'aide de l'anse de platine une parcelle de la culture. Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène. Il est également possible de déposer une goutte de milieu liquide incubé ou une goutte de suspension.

Réaliser le frottis en partant du centre de la lame, en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène sur au moins 2/3 de la lame.

Stériliser l'anse.

Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen sans trop le chauffer. La technique la plus sûre consiste à passer dans la flamme le frottis 3 ou 4 fois une demi seconde, face sans bactéries vers la flamme.

Le frottis étant fixé, la lame ne présente plus de danger de contamination.

-Technique :

Annexes

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Coloration : violet de gentiane phéniqué durant une minute. Toutes les bactéries prennent ce colorant et sont donc colorées en violet.
- Rincer à l'eau du robinet
- Mordantage : recouvrir la lame de réactif de Lugol 1 minute (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration).
- Rincer à l'eau
- Epreuve (alcool résistance) : Plonger 3 ou 4 fois une demi seconde dans un pot d'alcool puis rincer à l'eau du robinet immédiatement. Pendant cette étape, les lipides de la paroi des Gram moins sont dissous et l'alcool peut donc pénétrer dans le corps bactérien et expulser le violet de gentiane. Les bactéries Gram moins sont alcool-sensibles et sont donc décolorées. La paroi des Gram plus ne laisse pas passer l'alcool et sont dites alcool-résistantes et restent colorées en violet.
- Contre coloration : Fuschine diluée au 1/20^{ème} ou de safranine pendant une minute. Toutes les bactéries prennent le colorant mais le violet masque la fuschine. Les « Gram positives » apparaissent donc violettes, les « Gram négatives », recolorées par la fuschine, apparaissent roses.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observer à l'objectif 100 à immersion, à pleine lumière.

Les milieux de cultures :

Bouillon nutritif (= milieu BN) :

*Peptone	10g
* Extrait de viande	5g
* Chlorure de sodium (facultatif selon la formule)	5g

pH 7,2

Hektoen (gélose) :

* Protéose – peptone	12g
* Extrait de levure	3g
* Chlorure de sodium	5g
* Thiosulfate de sodium	5g
* Sels biliaires	9g

Annexes

* Citrate de fer ammoniacal	1,5g
* Salicine	2g
* Lactose	12g
* Saccharose	12g
* Fuschine acide	0,1g
* Bleu de bromotymol	0,065g
* Agar.....	13g
pH 7,6	

Mac Conkey :

* Peptone tryptique de gélatine	17g
* Peptone de viande et de caséine.....	3g
* Lactose.....	10g
* Sels biliaires.....	5g
* Chlorure de sodium.....	5g
* Rouge neutre.....	0,040 g
* Agar.....	13g
pH 7,4	

Mueller Hinton (gélose pour antibiogramme)

* Extrait de viande	2g
* Hydrolysate acide de caséine	17,5g
* Amidon	1,5g
* Agar.....	10g
pH 7,4.	

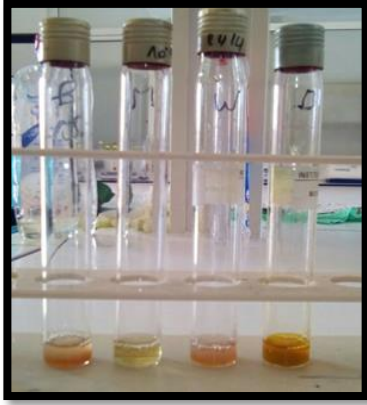
Eau physiologique :

Pour 1 litre de milieu :

Chlorure de Sodium.....9,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

Annexes



Les alcaloïdes



Les tanins (réaction avec FeCl_3)



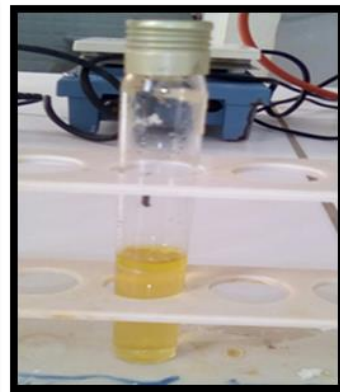
Les tanins galliques



Les tanins catéchiques



Les leuco anthocyanes



Les anthocyanes

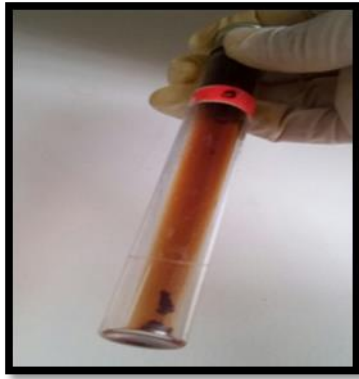


Stérols et tri terpènes

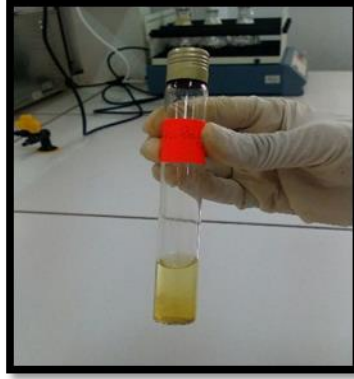


Les saponosides

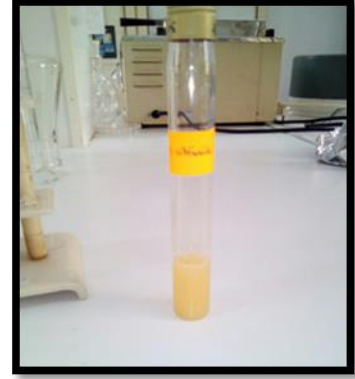
Annexes



Les composés réducteurs



Mucilages



O-Hétérosides



C-Hétérosides



**O-Hétérosides à génine
réduite**



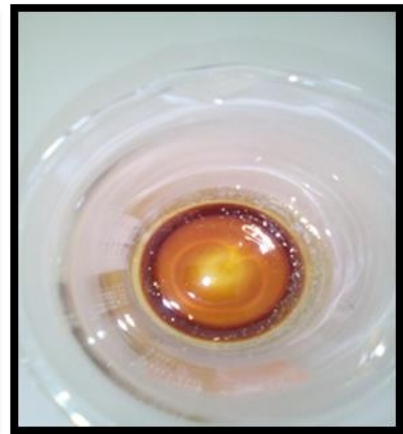
**les dérivés anthracéniques
libres**



Extraits méthanolique

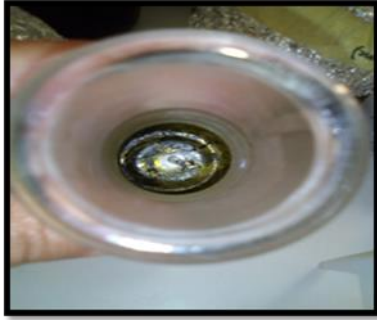


Extrait brut d'acétate d'éthyle



Extrait aqueux

Annexes



Extrait brut de chloroforme



Extrait brut de l'acétone

:

Les résultats de screening phytocimique sur la partie aérienne de la plante *Ephedra*

Matériel utilisée :

- Appareillage
 - ❖ Balance électronique
 - ❖ Agitateur magnétique
 - ❖ Bain marie
 - ❖ Haute
- Les verreries :
 - ❖ Erlenmeyer
 - ❖ Tubes à essai
 - ❖ Becher
 - ❖ Ballon
 - ❖ Pipette pasteur
 - ❖ Pipette graduée
 - ❖ Eprouvette graduée
 - ❖ Boîte de Pétri
 - ❖ Verre de montre