

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



**Réf :.....**

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

## **MASTER**

### ***Thème***

**Etude de l'activité anti-inflammatoire et  
antibactérienne d'extrait alcaloïde**

Présenté par :

**Guenfis soraya & Guermoudj latifa**

Soutenu le : **23Juin 2018 à 11h**

Devant le jury composé de :

Mr. Bensaïd.K	(MAA)	Président
Melle. Yanat.B	(MCB)	Encadreur
Mme Tetili. F	(MAA)	Examineur
Mr. Bribi. N	(MCA)	Invité

**Année universitaire : 2017 / 2018**

# **Remerciements**

*Au terme de ce travail, nous tenons en premier lieu à remercier Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et le courage qu'il nous a donné pour suivre mes études.*

*Nous adressent sincères remerciements à notre encadreur Madame Yanat, pour honoré en acceptant de diriger et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire, pour aussi ses conseils, ses commentaires, sa bienveillance.*

*Pour monsieur Bribi pour sa gentillesse, ses conseils particulièrement avisés mais surtout pour la grande confiance .*

*Pour la même occasion, nous tenons à remercier Monsieur Bensaid le président et Madame Titteli pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*A tous le personnel de la bibliothèque et du département de Microbiologie*

*étudiants de Microbiologie .*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents*

*Ma sœur Assia; mes frères Massi ,*

*Et Locif*

*A mon futur mari Foudil*

*Toute ma famille*

*Mes amies avec qui j'ai vécu les bons*

*et pires moment de ma vie :*

*Samia, Ihanina et Razika .*

*Ma copine avant qu'elle soit binôme Latifa*

*Ceux qui m'ont aidée de prêt ou de loin du*

*mieux qu'ils pouvaient*

*Tous ceux qui ont une place dans mon cœur.*

*Soraya*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents*

*Ma sœur Soukhila; mes frères Youcef,*

*Et Abderraouf*

*Mon beau frère ;Yacine*

*Ma chères nièces Rimel*

*Toute ma famille*

*Mes cousins et cousines*

*Mes amies avec qui j'ai vécu les bons*

*et pires moment de ma vie :Cylia,*

*Samia,Thanina et Razika .*

*Ma copine avant qu'elle soit binôme Soraya*

*Ceux qui m'ont aidée de prêt ou de loin du*

*mieux qu'ils pouvaient*

*Tous ceux qui ont une place dans mon cœur.*

*Latifa*



# Sommaire

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Glossaire**

**Introduction générale** ..... 1

## **Chapitre I: Synthèse bibliographique**

**Partie I :Microbiote intestinal et maladies inflammatoires chroniques intestinales**

I. La barrière intestinale ..... 3

I.1. Présentation général de l'appareil digestif ..... 3

I.2. Le microbiote intestinal..... 3

I.3. Répartition de la flore intestinale au niveau du tube digestif .....4

I.4. Les principaux facteurs influençant la composition et la fonction du microbiote intestinal ..... 5

I.5. Fonction de microbiote intestinal ..... 5

I.5.1. Digestion, absorption et métabolisme ..... 5

I.5.2. Fonction immunitaire ..... 6

I.5.3. Fonction physiologique..... 6

I.5.4. Fonction de protection ..... 6

II. Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) ..... 6

II. 1. Généralité sur les MICI ..... 6

II.1.1. La Maladie du crohn (MC) ..... 6

II.1.2. La rectocolite hémorragique (RCH) ..... 7

II.1.3. La colite ulcéreuse ..... 7

II.2. La physiopathologie des MICI ..... 8

II.2.1. La réponse immunitaire ..... 8

II.2.2. Facteurs génétiques .....	8
II.2.3. facteurs Environnementaux .....	8
II.3. La dysbiose.....	9
III. Traitement des MICI .....	11
III.1. Les prébiotiques .....	11
III.2. Les probiotiques .....	11
III.4. Les immunosuppresseurs.....	11
III. 5. Immunorégulateurs : anticorps monoclonaux anti-TNF $\alpha$ .....	12
III.6. Corticoïdes .....	12
III.6. Antibiothérapies .....	12
III.7. Transplantation de microbiote fécal (TMF) .....	12

## **Partie II: Fumaria capreolata**

I. Définition,description et classification botanique de Fumaria capreolata .....	13
II. La composition chimique de Fumaria capreolata .....	14
III. III. Utilisation médicinale de Fumaria capreolata .....	14
IV. Les alcaloides .....	14
IV.1. Définition.....	14
VIII.2. Propriétés physico-chimiques .....	15
VIII. 3. Activité biologique et pharmacologiques .....	15

## **Chapitre II: Matériel et méthodes**

### **Partie I: Matériel et méthodes**

<b>I .Matériels</b> .....	16
I.1. Model animal .....	16
I.2. Model végétal ( <i>Fumaria capriolata</i> ).....	16
<b>II. Méthodes</b> .....	17

II.1. Extraction des alcaloïdes totaux de <i>Fumaria</i> .....	17
II.2. Etude de l'activité biologique de <i>Fumaria</i> .....	17
II.2.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire .....	17
II.2.1.1. Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique .....	17
II.2.1.2. Évaluation des dommages causés par la colite .....	18
II.2.1.3. Analyse microbiologique de la flore fécale (Bernard et Reynaud, 2003) .....	19
II.2.2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits alcaloïdiques.....	20
II.2.2. 1. Préparation des dilutions des extraits alcaloïdiques .....	20
II.2.2.2. Test des disques (Essawi et Srour, 2000) .....	20
II.2.2.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par méthode de micro-dilution sur milieu liquide.....	21

**Partie II : Résultats et discussion**..... 23

**I. Résultats** ..... 23

I.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale ..... 23

I.1.1. Résultats du DAI et du P/L ..... 23

I.1.2. Etude de la flore bactérienne fécale ..... 24

I.2. Résultat de l'activité antibactérienne ..... 25

**II. Discussion**..... 27

**Conclusion et perspective** ..... 29

**Références bibliographiques.**

**Annexes**

**Résumé**

**Liste des tableaux**

**Tableau I** : Souches cibles utilisées .....21

**Liste des figures**

**Figure 1 :** Répartition schématique de la flore microbienne dans les divers compartiments du tube digestif chez l’homme et le rat .....4

**Figure 2 :** Comparaison entre la MC et CU .....7

**Figure 3 :** Etapes du mécanisme des atteintes induites par *Escherichia coli* adhérente et invasive (ECAI).....10

**Figure 4 :** Espèce *Fumaria capreolata* avec ces différentes parties de droite à gauche: feuillet, fleurs et fruits.....13

**Figure 5 :** Photographie de *Fumaria* .....16

**Figure 6 :** Présentation d’administration d’acide acétique et l’extrait alcaloïdiques .....17

**Figure 7 :** Protocole expérimental d’induction d’AA et du traitement par les alcaloïdes appliqué sur les souris .....18

**Figure 8 :** protocole expérimental de dénombrement et d’identification d’E.coli.....20

**Figure 9 :** Photographies des colons récupérés des trois lots .....23

**Figure 10 :** Effet anti-inflammatoire des alcaloïdes totaux de *Fumaria* (100mg/kg) sur la variation du rapport P/L dans le modèle de colite induite par l’acide acétique (5%).24

**Figure 11 :** Exemple des résultats du dénombrement pour chaque lot sur EMB.....24

**Figure 12 :** Résultats des tests de confirmation de l’acidification des *E. coli*.....25

**Figure 13 :** Résultats de l’activité antibactérienne par méthode des disques.....26

**Figure 14 :** Résultats des CMI sur microplaque .....26

### Liste des abréviations

**AA** : Acide Acétique.

**AGCC**: Acide Gras Chaîne Courte

**ATG16L1**: Autophagy Related protein 16-like 1

**CEACAM6** : Carcino Embryonic Entigen Cellular Adhesion Molecule -6.

**CF** : Calprotectine fécale

**CMI** : Concentration Minimal Inhibitrice

**CU** : Colite Ulcéreuse

**DMSO** : Dimethylsulfoxyde

**DO** : Densité optique

**ECAI** : *Escherichia coli* adhérente et invasive

**EMB** : Eosine Méthyle Bilié

**FA** : fraction Alcaloïdiques

**FC** : *Fumaria capreolata*

**IFN $\gamma$**  : Interferon

**IL** : Interleukine

**LNKT** : lymphocytes *Natural Killers* T

**LPS**: Lipopolysaccharide

**LT** : Lymphocyte T

**LTh**: Lymphocyte T Helper

**LTreg**: Lymphocyte T regulator

**MAP**: *Mycobacterium avium paratuberculosis*

**MC** : Maladie du crohn

**MH** : Muller Hinton

**MICI** : Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales

**NOD2**: Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2

## Liste des abréviations

---

**PCR** : Polymerasation chaine réaction

**PRR** : Patterns Recognition Receptor

**RCH** : Rectocolite hémorragique

**RCUH** : Rectocolite Ulcéreuse hémorragique

**SM** : Solution Mère

**TLR**: Toll Like Receptor

**TMF** : Transplantation de microbiote fécal

**TNF $\alpha$**  : Tumor Necrosis Factor alpha

### Glossaire

**Antalgique** : sont des substances qui calment les douleurs.

**Antihypertensif** : Les antihypertenseurs sont un groupe de médicaments utilisés pour normaliser une tension artérielle trop élevée.

**Antioxydant** : sont des substances qui luttent contre le stress oxydatif, protègent la cellule d'une oxydation par les radicaux libres et empêchent l'altération des composés organiques.

**Antispasmodique** : sont des substances qui font baisser la tension et soulagent les spasmes musculaires.

**Antitussif** : Un antitussif ou médicament antitussif est un médicament censé arrêter la toux.

**Appendicectomie** est une intervention chirurgicale qui consiste à enlever l'appendice. Il s'agit du traitement ordinaire en cas d'appendicite- inflammation et infection de l'appendice.

**Conjonctivite** : Une inflammation de la conjonctive provoquée par un virus.

**Dépurative** : Qui purifie l'organisme, en favorisant l'élimination des toxines, des déchets organiques.

**Diurétique** : Un diurétique est une substance qui augmente la production d'urine.

**Hormones stéroïdiennes** : sont des hormones de croissance sécrétées par les organes génitaux sur ordre du cerveau.

**Immunomodulateurs** : sont des substances modifiant les réactions immunitaires (produit modifiant les réactions immunitaires).

**Inulines** : sont des polysaccharides (sucres simples de type fructose liés entre eux) produits naturellement par de nombreux types de plantes. Elles appartiennent à une classe de fibres alimentaires appelées fructanes.

**Pancolite** : est une inflammation généralisée du côlon. Elle survient généralement dans le cadre d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI). Elle peut aussi être la complication d'une colite, une inflammation localisée du côlon.

**Pochite** : est une inflammation de la poche constituée après une anastomose iléo-anale.

**Prodrogue** : Substance dont la transformation dans l'organisme aboutit à un produit actif.

**Pennatiséquées** : Se dit d'une feuille dont le limbe est penné en segments séparés par des sinus qui atteignent presque la nervure médiane.

**Sépales** : Le sépale est l'un des éléments foliacés généralement verts, observés à la base de la corolle, sous les pétales.

**Grimpante** : Plante dont la tige s'élève en s'accrochant aux corps voisins (arbre, mur, échelas...).

# **INTRODUCTION**

## Introduction

L'Homme et les animaux hébergent dans leur tractus digestifs d'importantes populations microbiennes que l'on désigne actuellement « microbiote intestinal» (Corthier, 2006). Ce dernier constitue un écosystème complexe dont l'impact sur la santé de l'Homme est aujourd'hui reconnu. Il contribue à la fermentation des sucres et des protéines et au métabolisme de nombreuses molécules telles que les acides biliaires et les xénobiotiques. Le microbiote participe également à la maturation du système immunitaire et joue un véritable rôle de barrière protectrice de l'épithélium intestinal contre l'infection par des micro-organismes pathogènes. Les nouvelles méthodes d'étude du microbiote permettent de mieux mettre en évidence les relations entre les modifications de cet écosystème complexe et certaines affections digestives. En effet, l'équilibre de cet écosystème peut être altéré dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (Quévrain et al., 2011).

Les MICI regroupent deux principales entités : la maladie de Crohn (MC) ainsi que la rectocolite ulcéro-hémorragique (RCUH). Leur prévalence est en nette progression dans les pays industrialisés (Pittet et al., 2009). Ils se caractérisent par des périodes de rémission et de récurrence. Actuellement, il existe tout un arsenal thérapeutique destiné aux MICI comprenant des anti-inflammatoires, d'immunomodulateurs et des anticorps anti-TNF. En raison du rôle établi du microbiote intestinal et d'agents pathogènes entériques dans les MICI, la manipulation de la microflore, principalement par une supplémentation en probiotiques, et l'antibiothérapie ont fait l'objet d'études intensives tant dans la RCUH que dans la MC (Chermesh et Shamir, 2009).

Cependant, toutes ces options thérapeutiques peuvent présenter d'éventuels effets indésirables ou même une efficacité relativement significative. Ainsi, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs via le screening de sources naturelles permettant la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (Gurib-Fakim, 2006).

Les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature. L'Algérie abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne, de ce fait, d'une richesse floristique incontestable (Aouadhi, 2010). Les espèces de plantes *Fumaria* sont utilisées en médecine traditionnelle algérienne, en cas de dysfonctionnement hépatobiliaire et dans le traitement des troubles gastro-intestinaux vue son activité anti-inflammatoire (Bribi et al., 2016).

Malgré le fait est que de nombreux travaux ont été publiés en ce qui concerne l'activité anti-inflammatoire d'une grande variété de plantes médicinales, la recherche bibliographique sur la base de données PubMed n'a identifié que très peu d'articles sur la plante *Fumaria capreolata*. Ainsi, ce travail a pour objectif principal l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* d'extraits alcaloïdiques de cette plante et en second lieu l'étude de l'activité antibactérienne *in vitro*. A cet effet, nous avons suivi la méthodologie suivante:

- Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique et étude microbiologique de l'activité anti-inflammatoire intestinale d'un extrait alcaloïdique sur un modèle murin.
- Etudier l'activité antibactérienne de ces alcaloïdes vis-à-vis d'espèces bactériennes de référence (Gram positives et Gram négatives) en milieu gélosé (test des disques) et en milieu liquide (détermination des CMI).

# **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

## Partie I: Microbiote intestinal et maladies inflammatoires chroniques intestinales

### I. La barrière intestinale

#### I.1. Présentation générale de l'appareil digestif

L'appareil digestif est composé du tube digestif proprement dit et des organes digestifs annexes. Le tube digestif est divisé en plusieurs sections allant de la bouche à l'anus en passant, dans l'ordre, par l'œsophage, l'estomac, le duodénum, jéjunum, l'iléon, le colon et le rectum. Les organes digestifs accessoires sont les glandes salivaires, le pancréas, le foie, et la vésicule biliaire (Sherwood, 2006).

#### I.2. Le microbiote intestinal

Le microbiote définit l'ensemble des espèces bactériennes chez l'Homme qui colonisent toutes les surfaces du corps humain exposées à l'environnement extérieur. L'organe le plus colonisé est le tractus intestinal où le côlon à lui seul contient plus de 70% de tous les micro-organismes du corps humain (Ley et al., 2006). Ainsi,  $10^{13}$  à  $10^{14}$  microorganismes cohabitent pacifiquement dans notre tractus gastro-intestinal avec la muqueuse, l'épithélium intestinal mais aussi le système immunitaire mucosal (Whitman et al., 1998).

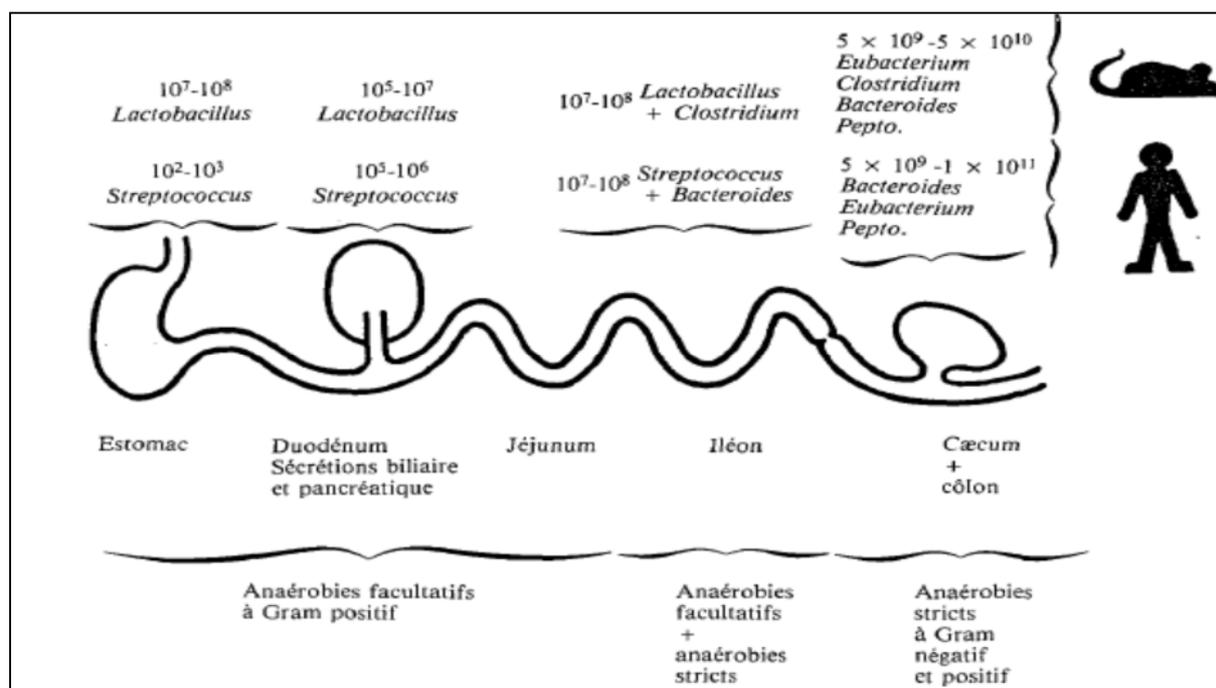
Avant les années 2000, la composition de la microflore adulte (Annexe 1) était évaluée uniquement sur environ 30% des bactéries totales de l'intestin correspondant aux bactéries cultivables. Cependant, depuis une dizaine d'années, l'évolution des techniques des bactéries peuplant le tractus digestif telles que les méthodes de PCR et de séquençage de l'ARN 16S, le développement de la métagénomique et l'apparition du pyroséquençage a permis de caractériser l'ensemble des espèces bactériennes, les archées, les champignons et de requalifier la microflore intestinale en microbiote intestinal, un terme plus en adéquation pour signifier la richesse et la forte diversité interindividuelle (Eckburg et al., 2005). Ainsi, ces nouvelles techniques basées sur l'analyse de la diversité des génomes montrent que le microbiote se divise en grands phyla (environ 50) mais deux prédominent: les Firmicutes (comprenant deux grands groupes: *Clostridium leptum* et *Clostridium coccoïdes*) et les *Bacteroidetes* (Mahowald et al., 2009).

Le microbiote intestinal est dominé par la flore dite "dominante" comprenant entre  $10^9$  et  $10^{11}$  UFC/gramme de fèces et composée principalement de bactéries anaérobies strictes comme les bacteroidetes, les bifidobactéries, les firmicutes...ect. La flore dite "sous-

dominante” représente entre  $10^6$  et  $10^8$  UFC/gramme de fèces et est composée de bactéries aérobies/anaérobies facultatives comme les entérobactéries, les streptocoques et les entérocoques. Enfin, la flore dite “transitoire” ne s’implante pas durablement dans le tractus intestinal et est composée d’espèces bactériennes de passage comme *Citrobacter*, *Klebsiella* ou encore *Enterobacter*....(Mahowald et al., 2009).

### I.3. Répartition de la flore intestinale au niveau du tube digestif

La répartition de la flore varie selon les segments du tube digestif. Elle dépend de la teneur du milieu en oxygène, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments disponibles et de la vitesse du transit (Bourlioux, 1998) (figure 1).



**Figure 1:** Répartition schématique de la flore microbienne dans les divers compartiments du tube digestif chez l’homme et le rat (Ducluzeau et Raibaud, 1989).

#### **I.4. Les principaux facteurs influençant la composition et la fonction du microbiote intestinal**

La composition et les facteurs du microbiote du tractus gastro-intestinal sont influencés par divers facteurs:

- Le mode d'accouchement. En effet, les enfants nés par voie vaginale présente un microbiote proche du microbiote vaginal et fécal de leur mère, tandis que, ceux nés par césarienne sont exposés à l'environnement hospitalier et au microbiote cutané de la mère ( Biasucci et al., 2010).
- Le changement des conditions physiologiques de l'hôte (âge, état de santé,...).
- La composition du régime alimentaire (Den Besten et al., 2013).
- Des paramètres physico-chimiques (le pH intestinal, la motricité...).
- Des circonstances environnementales (contamination par les pathogènes, antibiothérapie, chimiothérapie, climat, stress, hygiène ...) ( Mitsuoka, 1989 ; Hopkins et al., 2002).

#### **I.5. Fonction du microbiote intestinal**

Le microbiote intestinal exerce de nombreuses fonctions physiologiques dont les répercussions sur l'hôte sont pour la plupart bénéfiques (Gérard et Donadille, 2007).

##### **I.5.1. Digestion, absorption et métabolisme**

Des matériaux alimentaires non digestibles (fibres de polysaccharides végétaux) sont dégradés par le microbiote via la fermentation et on observe des bioconversions de substance en micronutriments assimilables bénéfiques pour la santé. La conséquence la plus spectaculaire est la production de gaz (flatulence) (Corthier, 2008).

Le microbiote peut participer au métabolisme de médicaments qui vont subir des processus de modifications proches de ceux des hormones stéroïdiennes. On peut citer notamment l'exemple de la sulfazalazine, pro-drogue transformée en produit actif par les bactéries coliques (Gérard et Bernalier-Donadille, 2007; Louis et Marteau, 2010; Rajilic-Stojanovic, 2013).

La production d'acides aminés tels que la lysine ou la thréonine par le microbiote intestinal va faire de lui une importante source de vitamine K et B pour l'organisme (Stephani et al., 2011).

### **I.5.2. Fonction immunitaire**

L'acquisition du microbiote permet la maturation du système immunitaire avec une tolérance vis-à-vis de notre propre microflore qui joue un rôle adjuvant pour la tolérance des protéines alimentaires (Bigard, 2007) et les interactions avec les cellules épithéliales ont des rôles essentiels pour le maintien de la santé de l'hôte (Gérard et Donadille, 2007).

### **I.5.3. Fonction physiologique**

En absence du microbiote, le tube digestif n'atteint pas sa maturité et reste atrophié : l'épaisseur de la muqueuse, la taille des villosités et des bordures en brosse sont réduites ainsi que l'angiogénèse (développement du réseau sanguin) (Corthier, 2006).

### **I.5.4. Fonction de protection**

Le microbiote résident exerce un fort antagonisme vis-à-vis des bactéries en transit avec le bol alimentaire (Corthier, 2006) en s'opposant à la colonisation de l'intestin par des micro-organismes pathogènes comme *Clostridium difficile*. Cette capacité de protéger le tube digestif par la production de facteurs antibactériens est appelée "effet de barrière" ou "résistance à la colonisation" (Lu et Walker, 2001).

## **II. Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)**

### **II. 1. Généralité sur les MICI**

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) sont très anciennes. La première explication de cette maladie a été exprimée par le médecin italien Giovanni Battista Morgagni (1682-1771) en 1769, alors qu'il a diagnostiqué cliniquement un jeune homme ayant une diarrhée chronique et une maladie invalidante. Les MICI sont une entité regroupant la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique et les colites indéterminées (10 % à 20 %) (Rostaing-Rigattieri, 2010).

#### **II.1.1. La Maladie du crohn (MC)**

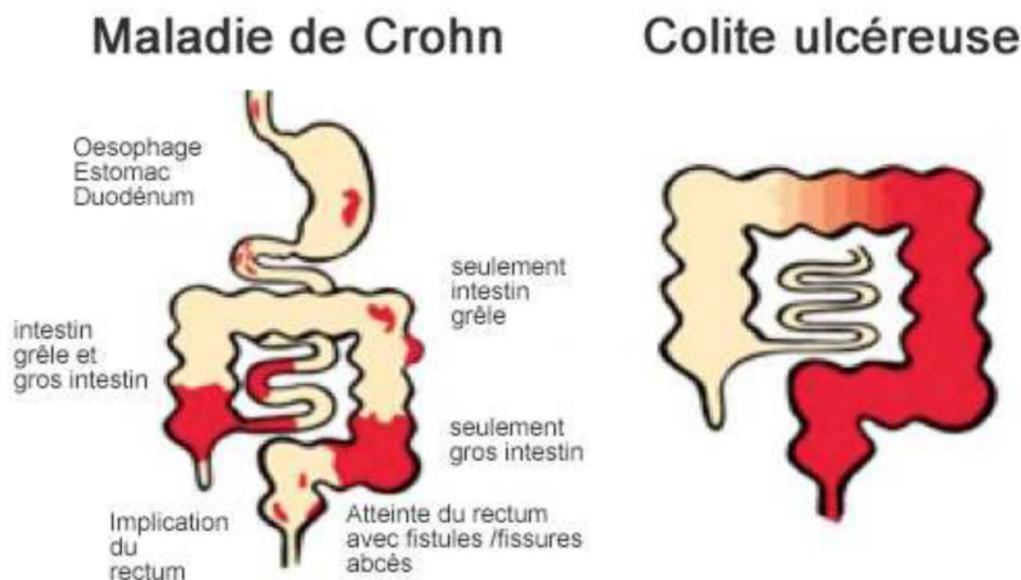
La MC a été décrite la première fois en 1932 par le docteur Crohn. Elle est définie comme une maladie chronique inflammatoire de l'intestin, elle peut atteindre toutes les parties des voies digestives de la bouche à l'anus de façon discontinue avec des altérations inflammatoires atteignant toutes les couches de la paroi intestinale (figure 2). La zone la plus fréquemment atteinte est l'iléon terminal, bien qu'une atteinte du colon soit la plus fréquente chez l'enfant. (Chermesh et Shamir, 2009)

### II.1.2. La rectocolite hémorragique (RCH)

La RCH se caractérise par une inflammation limitée au recto-côlon permettant de définir trois types de RCH en fonction de l'extension : la pancolite qui correspond à une atteinte de la muqueuse de la totalité du côlon, la rectocolite gauche où l'inflammation ne dépasse pas L'angle colique gauche et la recto-sigmoïdite qui atteint le rectum et le côlon sigmoïde (Baumgart et al., 2007).

### II.1.3. La colite ulcéreuse

La colite est une inflammation de la muqueuse ou paroi interne du côlon. , elle se présente de façon typique ;avec des douleurs abdominales, un saignement rectal et de la diarrhée , dans les cas sévères, peut inclure de la fièvre, une perte de poids, et l'anémie .La CU ne touche habituellement que le gros intestin, généralement sur une région partant du rectum, juste au-dessus de l'anus, et s'étendant en proximal sur une distance variable selon l'étendue de la maladie (Gregor et al.,2012) (figure 2).



**Figure 2:** Comparaison entre les deux MICI: MC et CU (anonyme 2016).

## II.2. La physiopathologie des MICI

### II.2.1. La réponse immunitaire

Lors des MICI, la balance entre les Lymphocyte T (LT) effecteurs (LTh1, LTh2, LTh17) et les LT régulateurs (LTreg) est déséquilibrée au profit des effecteurs. En effet, la MC est associée à un profil de LT de type 1 (Th1) favorisé par des cytokines telles que l'IL-12 et le TNF $\alpha$  produite suite à la stimulation des PRR à la surface des macrophages et cellules dendritiques. Les effecteurs Th1 contribuent normalement à l'élimination des pathogènes intracellulaires bactériens, viraux et fongiques par la sécrétion de cytokines telles que l'IFN $\gamma$  et l'IL-2. De plus, il est admis qu'une réponse immune aberrante de type Th1 mène souvent à des maladies auto-immunes (Baumgart et Sandborn, 2012; Zenewicz et al., 2009).

Par opposition, la RCH est associée à un profil de LT de type 2 (Th2) favorisé par la production cytokinique des lymphocytes *Natural Killers* T (LNKT) : IL-5 et IL-13. Il en résulte une production cytokinique par les LTh2 qui se rapproche de celle observée dans l'allergie et l'asthme : IL-13, IL-5, IL-4, IL-9, IL-25, IL-10 (Zenewicz et al., 2009). En outre, IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire. Elle limite notamment la sécrétion de TNF $\alpha$  et d'IL-12. IL-13 est, quant à elle, la cytokine majoritaire de la muqueuse des patients RCH et est largement impliquée dans les lésions de l'épithélium intestinal (Heller et al., 2005).

### II.2.2. Facteurs génétiques

La plupart des gènes actuellement reconnus comme impliqués dans la pathogénie des MICI (NOD2, IL-23R et ATG16L1 et IRGM) sont liés aux interactions entre les bactéries et le système immunitaire. L'association génétique la plus clairement établie est celle du gène NOD2 avec la MC iléale (Hugot et al., 2001)

### II.2.3. Facteurs environnementaux

De nombreux facteurs de risque environnementaux ont été évoqués dans les MICI mais les seuls clairement établis sont le tabac et l'appendicectomie. Le tabac a des effets opposés au cours des MICI : il "protège" de la RCH mais "favorise" la survenue d'une MC) (Calkin, 1989; Cosnes, 2004).

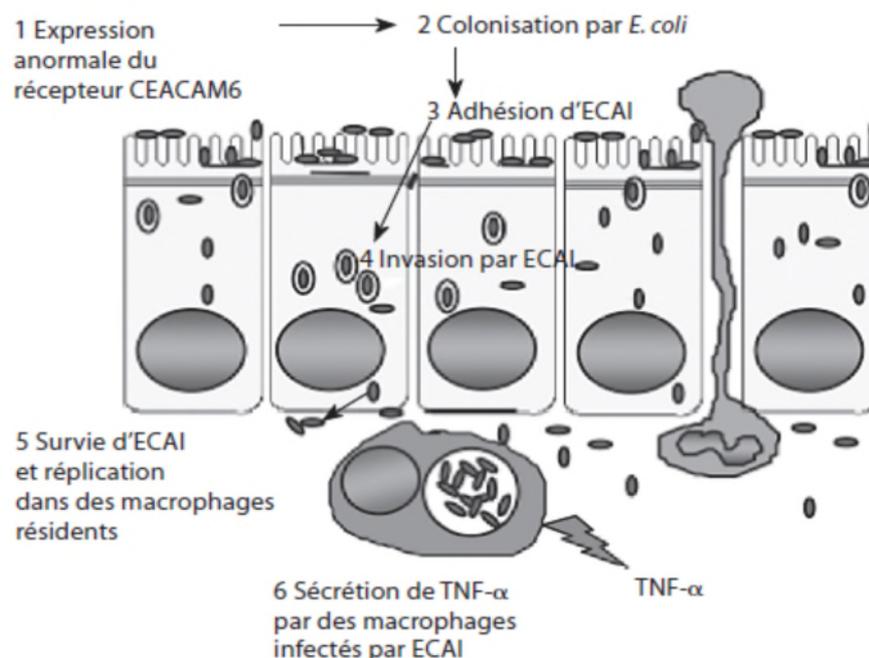
### II.3. La dysbiose

La dysbiose lors de MICI est caractérisée par l'augmentation de bactéries Gram négatives au niveau de la muqueuse intestinale qui est un marqueur de la diminution de la sécrétion d'IgA, immunoglobuline responsable de défense de l'hôte contre les agents pathogènes. Malgré cette augmentation quantitative, la biodiversité de la flore est réduite chez les patients atteints de MICI (Sokol et al., 2008) avec une diminution des espèces bactériennes potentiellement bénéfiques (*Bifidobacteria*, *Lactobacilli*) et une augmentation des bactéries pathogènes associées à la muqueuse intestinale (*Bacteroides*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*) (Seksik et al., 2003; Tamboli et al., 2004). Plus précisément, deux bactéries, *Escherichia coli* adhérent-invasif (AIEC) et *Mycobacterium avium* paratuberculosis (MAP) qui font l'objet de recherche intensive concernant essentiellement la maladie de Crohn (Seksik, 2010). Les *E. coli* associées au mucus intestinal (AIEC) chez les porteurs de Crohn sont fortement adhérents aux cellules épithéliales intestinales et possèdent des propriétés invasives. Dans la MC, les zones enflammées sont celles présentant la plus forte concentration en bactéries (figure 3) (Swidsinski et al., 2002).

Le microbiote fécal et le microbiote associé à la muqueuse des patients RCH est caractérisé par une diminution des *Firmicutes* du groupe *Clostridium coccoïdes* et une augmentation des entérobactéries *E. coli* (Seksik, 2010). En effet, un certain nombre de bactéries productrices de butyrate (*Faecalobacterium prausnitzii*, *Roseburia spp*, groupe des *Clostridium leptum*) sont diminuées au cours de la RCH, et d'autant plus dans le microbiote des patients en rechute. La production d'acétate induit une diminution du pH de l'intestin. Il est généré par *Bifidobacterium longum*. Mais, la diminution de la concentration intestinale d'acétate ne semble pas corrélée à leur nombre. La production de phénols associée à la RCH implique l'intervention de nombreuses bactéries des genres *Clostridium* et *Bacteroides*. L'augmentation de *Clostridium* dans le microbiote intestinal de patients RCH pourrait être impliquée dans la toxicité intestinale des phénols (Machiels et al., 2013; Vigsnaes et al., 2013).

De plus, dans la MC, l'augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale pourrait promouvoir la translocation de bactéries à travers la muqueuse intestinale. L'altération des fonctions des défensines, peptides antimicrobiens, peut expliquer aussi l'augmentation de la flore au niveau de la muqueuse intestinale. En effet, la MC localisée au niveau iléale est associée à une décroissance d'expression de  $\alpha$ -défensines alors que la MC localisée au niveau

colique est associée à la décroissance d'expression de  $\beta$ -défensines (Aldhous et al., 2009; Nuding et al., 2007; Wehkamp et al., 2005).



**Figure 3** : Etapes du mécanisme des atteintes induites par *Escherichia coli* adhérente et invasive (ECAI) dans la maladie de Crohn.

une expression anormale de CEACAM6 dans la muqueuse ileale (1) induit une colonisation par ECAI (2), l'adhésion de cette bactérie (3) et une invasion (4) par celle-ci, ce qui lui permet de traverser la barrière muqueuse. ECAI peut survivre et se répliquer dans des macrophages infectés dans la lamina propria (5) et induire la sécrétion de TNF- $\alpha$  (6). (Barnich et Darfeuille-Michaud, 2007)

La calprotectine fécale (CF) est une protéine, dérivée des neutrophiles, et dans une moindre mesure aussi des monocytes, que l'on dose dans les selles. C'est un biomarqueur qui permet de discriminer avec une bonne sensibilité et spécificité la présence de lésions muqueuses du tube digestif (par exemple ulcérations dans le contexte d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin – MICI) d'un syndrome fonctionnel (par exemple intestin irritable) (Fraga et al., 2012).

En résumé, tous ces mécanismes entraînent une dysbiose quantitative et qualitative responsable de l'inflammation locale impliquée dans la survenue des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

### **III. Traitement des MICI**

Les options thérapeutiques varient en fonction de la nature, la localisation, la sévérité et l'évolution de la MICI, il s'agit de :

#### **III.1. Les prébiotiques**

Les prébiotiques ont été définis par Gibson et Roberfroid comme des composants alimentaires non digestibles influençant bénéfiquement l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou quelques bactéries dans le colon et améliorante ainsi la santé de l'hôte (Szajewska et Shamir ,2008). Des données expérimentales plaident en faveur de l'hypothèse selon laquelle des périodiques tels l'inuline et l'oligofructose jouent un rôle en modifiant et même en prévenant l'inflammation dans la maladie de Crohn, la RCUH et la pochite (Guarner, 2007).

#### **III.2. Les probiotiques**

Un probiotique est un « micro-organisme vivant qui ,lorsqu'il est consommé en quantité adéquates, produit un bénéfice pour la santé de l'hôte » selon FAO/OMS ,2001.les principaux micro-organisme classé comme pro-biotique sont des lactobacilles des bifidobactérie, Escherichia coli .Ils exercent généralement une activité anti-inflammatoire démontrée tant in vivo qu'in vitro. Actuellement, des probiotiques se sont avères efficaces dans le traitement de pochâtes, dans l'entretien de remissions et dans le traitement d'exacerbations dans la RCUH. A l'heure actuelle, malgré une justification théorique confortant l'utilisation de probiotiques dans la maladie de Crohn, ce traitement ne s'est pas avère efficace pour le maintien d'une rémission ni sur des poussées aiguës ou en période postopératoire (Guslandi et al ., 2000; Rolfe et al ., 2006).

#### **III.3. Les immunosuppresseurs**

Leur utilisation est parfaitement justifiée dans la MC qui est associée à une activation excessive du système immunitaire. Cependant, leur action étant longue à se mettre en place (2 à 3 mois), ils ne sont pas indiqués pour le traitement des poussées mais seulement pour un traitement de fond et le maintien des rémissions. Ils sont couramment utilisés en cas de corticorésistance ou de résistance aux salicylés (Rowe et Lichtenstein, 2012).

### **III. 4. Immunorégulateurs: Anticorps monoclonaux anti-TNF $\alpha$**

L'inflammation intestinale dans la MC est associée à une production locale accrue de TNF- $\alpha$ . Les anticorps monoclonaux anti TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha), se lient à cette cytokine Pro inflammatoire pour en limiter l'action (Engel et Neurath, 2010). Ces médicaments sont des anticorps monoclonaux complètement humanisés, ou des protéines chimériques se comportant comme des récepteurs solubles du TNF par fixation. Ce bio-médicament diminue le TNF-alpha sérique, ce qui va permettre de contrôler l'inflammation régionale et l'évolution de la pathologie. (Marko et Prka , 2013).

### **III.5. Corticoïdes**

Les corticoïdes sont des molécules très efficaces dans le traitement des poussées de MICI , ils constituent le traitement de base des poussées d'intensité moyenne ou sévères. Ils sont utilisés sur de courtes périodes, afin de limiter les effets secondaires. Les corticoïdes ne sont pas efficaces pour prévenir le risque de récurrence. Ils ne doivent pas être utilisés en traitement d'entretien (Klotz et al., 2015).

### **III.6. Antibiothérapies**

Les antibiotiques peuvent être complémentaires aux thérapies précédemment citées. Ils sont prescrits dans le cadre des complications infectieuses (infection des ulcères, fistules) et post-opératoires (pochite) des MICI. Ils ont pour effet de diminuer la translocation bactérienne dans des différentes complications tel que la colite fulminante. Néanmoins, l'utilisation d'antibiotiques comme adjuvants des traitements de la MC et de la RCH actives reste encore très controversée (Sartor, 2004; Triantafillidis , 2008).

### **III.7. Transplantation de microbiote fécal (TMF)**

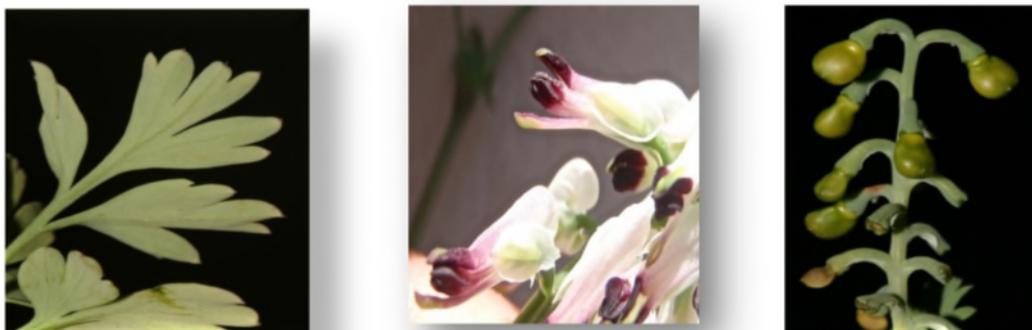
Elle consiste en l'administration par sonde nasogastrique (voie supérieure) ou par lavement (voie inférieure) d'une suspension fécale préparée grâce aux selles d'un donneur sain. Elle repose sur l'hypothèse de l'existence d'un déséquilibre du microbiote, appelé dysbiose, dans certaines maladies. Cette dysbiose pourrait être corrigée par la TMF à partir d'un donneur sain (Barbut et al, 2014). Son utilité dans la MC n'est pas encore démontrée et reste pour l'heure anecdotique, mais de nombreuses études mettent en avant une efficacité potentielle de ce type d'intervention (Anderson et al., 2012).

## Partie II: *Fumaria capreolata*

### I. Définition, description et classification botanique de *Fumaria capreolata*

La fumeterre vient du mot latin : (Fumus) qui signifie « fumée de terre » et serait du au fait que le jus de la plante fait pleurer les yeux comme la fumée (Coste, 1937 ; Debelmas et al., 1978). Concernent le nom vernaculaire, Le nom *Fumaria* signifie fumeterre; en anglais elle est appelé fumitory ou earthsmoke; en arabe c'est hashishet as sabyen et en kabyle zalamit (Ait youcef, 2006; Orhan ., 2012).

*Fumaria capreolata* (FC) est une plante annuelle de couleur verte claire ou un peu glauque, grimpante, avec une longueur de 30 cm à 1m, feuilles bipennatiséquées, à segments obovales en coin, incisés-lobes, plans ,bractées lancéolées linéaires, égalant presque les pédicelles avec des fleurs blanchâtres ou rougeâtres, grandes (8-12 mm de long), en grappes (5-20 fleurs) lâches sépales ovales-aigus, un peu plus larges que la corolle et dépassant la moitié de sa longueur, pédicelles fructifères recourbés en arc, silicule moyenne, lisse, sphérique, obtuse, non apiculée (figure 4) (Julve, 2016).



**Figure 4 :** Espèce *Fumaria capreolata* avec ces différentes parties de droite à gauche: feuillet, fleurs et fruits (Genevieve, 2017).

- **Règne:** Plante.
- **Classe:** Dicotyledone.
- **Famille:** Fumariaceae.
- **Genre:** *Fumaria*.

## II. La composition chimique de *Fumaria capreolata*

FC comporte principalement des alcaloïdes isoquinoléique, des acides organiques et des sels minéraux. De plus, les espèces Fumeterre sont composées de métabolites primaires voire des acides aminés, des polysaccharides hétérogènes ainsi des sels potassiques (Bruneton, 1999, Souseck et al., 1999).

## III. Utilisation médicinale de *Fumaria capreolata*

*Fumaria capreolata* était reconnue pour "faire vivre 100 ans", et présente des propriétés toniques et dépuratives. Elle a été très utilisée comme un hépato protecteur (Suau et al., 2002), anti-hypertensif (Goetz et al., 2008) et anti-dermatite (psoriasis), et bien d'autres. La chimie moderne démontre la présence de flavonoïdes provoquant des effets amphocholérétiques et spasmodiques liés au tractus digestif. Enfin, la protopine a des propriétés bactéricides et antihistaminiques (remède de l'asthme), et les extraits totaux sont antiarytmiques (Souseck et al., 1999).

## IV. Les alcaloïdes

### IV.1. Définition

Le terme d'alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du 19<sup>ème</sup> siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, ce terme est dérivé de l'arabe alkaly qui signifie la soude et de grec eidos qui signifie l'aspect (Bruneton., 1999).

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques et douées à faible dose de propriétés physiologiques marquées (Zenk et Juenger., 2007). Ils portent tous la terminaison « ine » (Paris et Hurabielle., 1981). A l'état normale, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates...) ou combinés à des tanins (Guignard *et al.*, 1985).

Ils existent plusieurs types d'alcaloïdes, certains ont de structures très simples, d'autres de structures beaucoup plus complexes (Mekkiou et benayache, 2005).

Bien que beaucoup d'entre eux soient toxiques, les alcaloïdes représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales (Omulokoli et al., 2000) et jouent à faible doses, le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'analgésiques (morphine), d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'anti-tumoraux... (Bruneton, 2009).

## VIII.2. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont des corps de masses moléculaires faible et de fonction basique (Facchini et pierre., 2005), sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène (Bruneton., 1999). Insolubles ou fort peu solubles dans l'eau. Ils sont solubles dans l'alcool plus à chaud qu'à froid, l'éther, les acides et dans l'ammoniaque (Cowan, 1999). Ils se combinent avec les acides et forment des sels, généralement solubles dans l'eau (Badiaga , 2012).

## VIII. 3. Activité biologique et pharmacologiques

Les alcaloïdes exercent généralement leur activités pharmacologiques sur les mammifères comme l'Homme leurs propriétés biologique, aussi variées que leurs structures, continuent à être bénéfiques dans les différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain (Hartmann et witte, 1995).

Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons ou encore comme psychotropes (Hess, 2002).

Les alcaloïdes présentent en fréquemment des propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuse subtilisation thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du Système cardiovasculaire (Gazengel et Orecchioni, 2013).

On notera Aussi l'existence d'anti tumoraux, d'antiparasitaires, de curarisants, les alcaloïdes sont utilisées comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) (Iserin et al., 2007).

Les alcaloïdes jouent plusieurs activités pharmacologiques: Analgésique (cocaïne), anti cholinergique (atropine, scopolamine, galanthamine),antimalaria (quinin), anti hypertensive (réserpine), antitussive (codéine), dépéissant cardiaque, stimulant centrale(caféine),diurétique, anesthésiant local (cocaïne ;morphine),anti tumeur, sympathomimétique (éphédrine),plusieurs alcaloïdes servent de model pour la synthèse d'analogues avec des propriétés pharmacologique et thérapeutique meilleures (Bhat et al.,2005).



# **Chapitre II :Partie pratique**

# **Partiel: Materiel et méthode**

## Partie I: Matériel et méthodes

L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire biotechnologie végétale et ethnobotanique ainsi qu'au niveau du laboratoire de microbiologie I de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia durant la période de Mars à Mai 2018. L'objectif de ce travail était d'étudier l'effet anti inflammatoire et antibactérien d'un extrait alcaloïdique d'une plante locale de *Fumaria capreolata*.

### I. Matériels

#### I.1. Model animal

L'étude a été menée sur des souris males albinos âgées de 4 à 6 semaines d'un poids de 26-32g (souche NMRI pour Naval Médical Research Institute) (Figure 10) ont été utilisées pour l'étude de l'activité anti inflammatoire *in vivo* de *Fumaria*, Les conditions d'élevage de ces souris se font à une température ambiante de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  avec un cycle lumière /obscurité de 12 h et un accès libre à l'eau et à la nourriture (grains ONAB).

#### I.2. Matériel végétal (*Fumaria capreolata*)

L'objet de notre étude était la plante médicinale du genre *Fumaria* plus précisément les parties aériennes de cette plante (fleurs, feuilles et tiges). Cette dernière a été récoltée le matin dans la région rurale d'Imakhlef à El-kseur (wilaya de Bejaia), durant la période de fructification et de floraison (Avril, 2016) (figure 5). Son identification a été effectuée au niveau du laboratoire de Biologie Végétale et ethnobotanique, de la Faculté SNV, de l'université A. Mira de Bejaia.



Figure 5 : Photographie de *Fumaria*

## II. Méthodes

### II.1. Extraction des alcaloïdes totaux de *Fumaria*

L'extraction des alcaloïdes a été effectuée selon le protocole de (Soušek et al., 1999) en utilisant l'appareil de Soxhlet. Il s'agit d'une extraction solide-liquide. L'extrait a été récupéré sous forme lyophilisée.

### II.2. Etude de l'activité biologique de *Fumaria*

#### II.2.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire

##### II.2.1.1. Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire intestinale des alcaloïdes a été réalisée selon la méthode de Wang et ses collaborateurs (2008), qui consiste à provoquer une Colite *via* l'administration de 100  $\mu$ l d'acide acétique (AA) à 5% par voie rectale.

Les souris ont été privées de nourriture pendant 12h avec un accès libre à l'eau, et ont été subdivisées en 3 lots, un lot témoin et 2 lots colitiques dont 1 lot acide acétique (malade) et 1 lot traité (extrait alcaloïde). Chaque lot contenant six souris.

Les souris anesthésiées avaient reçu 100 $\mu$ L de l'acide acétique à 5% par voie rectale (figure 6a). Les animaux ont été ensuite maintenus dans une position de tête vers le bas pendant 20s pour limiter l'expulsion de la solution d'acide acétique. Après 2h de l'injection de ce dernier, une dose d'alcaloïdes de *Fumaria* (100 mg/kg) a été administrée quotidiennement pendant 2 jours par voie orale (figure 6b) chez les 2 groupes colitiques, en vue de tester l'effet anti inflammatoire de cette fraction alcaloïdique. Il faut savoir que la toxicité des extraits alcaloïdiques a été préalablement testée avant de traiter les souris.



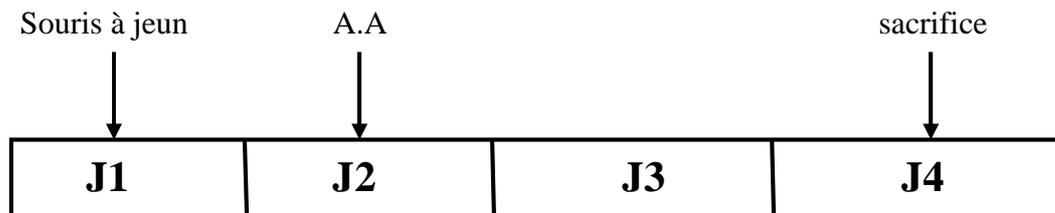
(A)

(B)

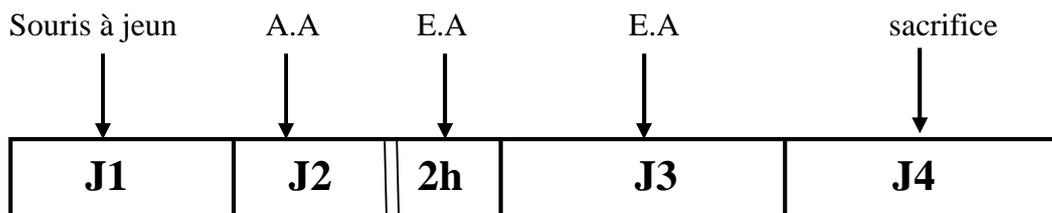
**Figure 6 :** Présentation d'administration d'AA(A) et extrait d'acaloïde (B) (Animalerie de l'université de Bejaia, 2018).

Le protocole expérimental d'induction d'AA et du traitement par les alcaloïdes appliqué sur les souris est résumé sur la figure 7.

- **Lot malade**



- **Lot traité**



A.A : acide acétique; E.A : l'extrait alcaloïdique

**Figure 7 :** Protocole expérimental d'induction d'AA et du traitement par les alcaloïdes appliqué sur les souris

### II.2.1.2. Évaluation des dommages causés par la colite

L'indice d'activité de la maladie (DAI) a été enregistré quotidiennement en observant le changement du poids corporel, la consistance des selles et les saignements. Chaque score a été déterminé selon la méthode de Cooper *et al.*, (1993). Après 2 jours de traitement, les souris ont été sacrifiées par décapitation après les avoir anesthésiés.

Les côlons ont été récupérés, rincés doucement avec de l'eau physiologique, pesés et la longueur du côlon a été mesurée en cm entre la jonction iléo-caecale et le rectum proximal et son poids a été mesuré en mg/cm.

### ❖ Etude statistique

Les données sont présentées par graph pad comme moyenne  $\pm$  SEM. Les analyses ont été faites grâce au test ANOVA, suivant le teste de Dunnett, utilisé afin de comparer les valeurs des groupes traité aux valeurs du groupes contrôle, avec des significations statistique de \*  $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , ns (non significatif).

### II.2.1.3. Analyse microbiologique de la flore fécale (Bernard et Reynaud, 2003)

L'objectif de ce test était de dénombrer les *E. coli* retrouvées dans la flore fécale des souris de chaque lot.

### ❖ Prélèvement

Les selles de chaque souris appartenant aux différents lots ont été récupérés sous la haute bactériologique avec des oses stériles et mis en suspension dans 9 ml d'eau physiologique (solution mère).

### ❖ Préparation des dilutions

A partir de la solution mère (SM), des dilutions décimales (1/10) ont été préparées (de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ ).

### ❖ Ensemencement

Pour chaque dilution, trois boites contenant le milieu EMB ont été ensemencées en surface à l'aide d'un râteau étaler. Les boites ont ensuite été incubées à 44°C pendant 24 heures.

### ❖ Dénombrement

Les colonies obtenues sur les boites d'EMB à 44°C ayant l'aspect caractéristique d'une *E. coli* (colonies bombées, de couleur violet avec reflet vert métallique) ont été dénombrées. Le nombre d'UFC/ml a été calculé selon la formule suivante:

$$\text{UFC} = \text{N}/(\text{V} * \text{F}).$$

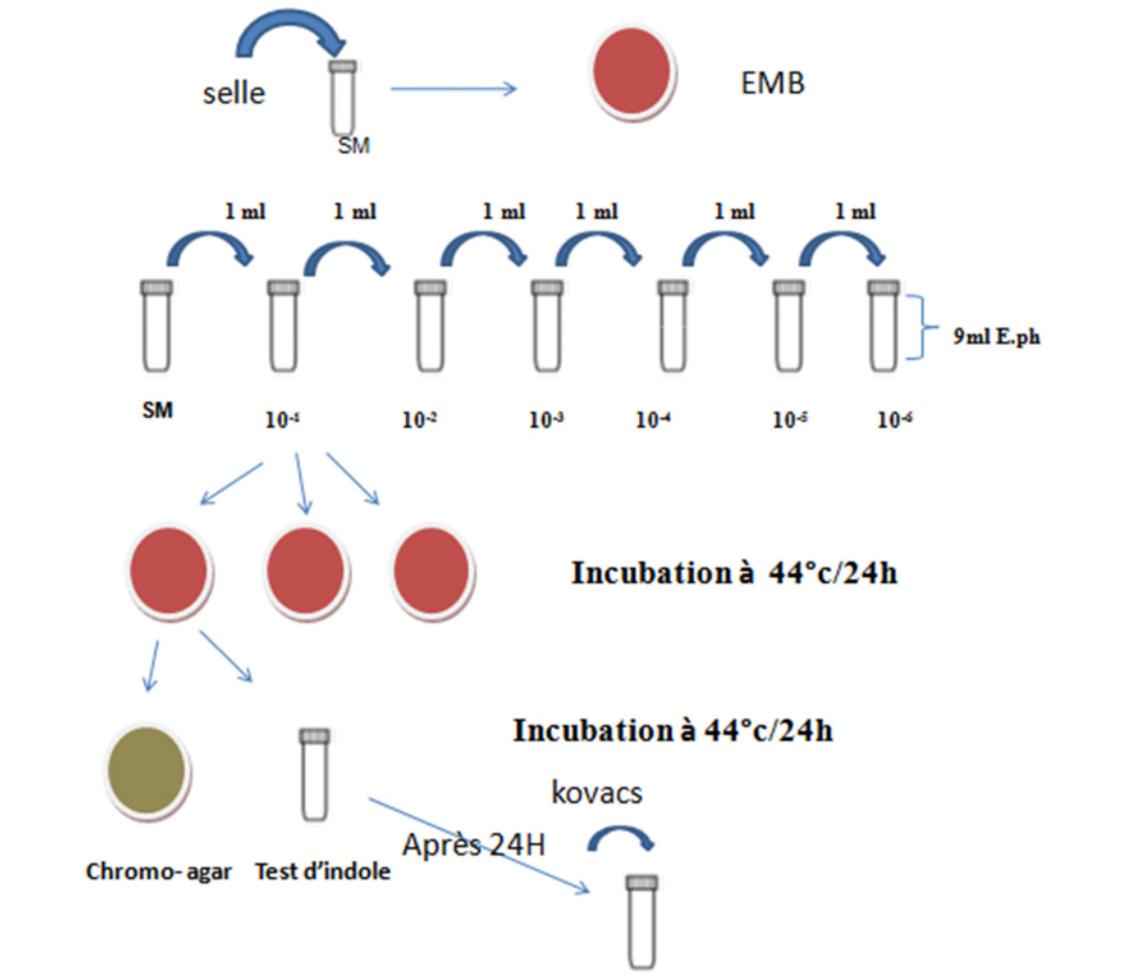
(Avec : N =nombre de colonie ;V : volume de dilution ;F: facteur de dilution)

### ❖ Confirmation de l'identification des *E. coli*

Deux tests clés permettant l'identification des *E. coli* ont été réalisés. Il s'agit de:

- Repiquage sur le milieu chromogène Chromagar®.

- Ensemencement sur milieu eau peptonée exempt d'indole à 44°C et ajout du réactif kovacs après incubation (figure 8).



**Figure 8** : protocole expérimental de dénombrement et d'identification d' *E.coli* après sacrifice

## II.2.2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits alcaloïdiques

### II.2.2. 1. Préparation des dilutions des extraits alcaloïdiques

A partir de l'extrait alcaloïdique lyophilisé, une solution mère a été préparée en pesant 40 mg dissous dans 1ml du mélange DMSO+eau distillé. Par la suite, des dilutions ont été réalisées en utilisant le même mélange DMSO+eau distillé pour obtenir des concentrations finales de: C1=400µg/ml, C2=200µg/ml, C3=100µg/ml et de C4=50µg/ml.

#### II.2.2.2. Test des disques (Essawi et Srour, 2000)

- **Préparation des dilutions des extraits alcaloïdiques**

La solution mère a été préparée en pesant 40 mg d'extrait alcaloïdique de *Fumaria* diluée dans 1ml du mélange eau/DMSO (V/V). Par la suite, différentes dilutions ont été effectuées pour des concentrations finales de: 400µg/ml (C1); 200µg/ml (C2) ; 100µg/ml (C3) ; 50µg/ml (C4).

- **Ensemencement des boites**

Des boites de Mueller Hinton de 4mm d'épaisseur ont été ensemencées par écouvillonnage à partir de suspensions bactériennes (tableau N° I) de  $10^8$  UFC/ml (DO entre 0.08 et 0.1 à 625nm).

- **Dépôt des disques**

Des disques de papier Whatman N°01 stérile de 6 mm de diamètre ont été déposés sur les boites de Mueller Hinton préalablement ensemencées. Ces disques ont été imprégnés par 10 µl de chaque concentration de FA. Un disque contenant le mélange eau/DMSO (V/V) est utilisé comme témoin. Afin de permettre la diffusion des FA, les boites ont été incubées à 4°C pendant 2h.

- **Incubation**

Les boites ont été incubées à 37 °C pendant 24h.

- **Lecture**

La lecture a été faite par la mesure des zones d'inhibitions autour du disque à l'aide d'une règle, en millimètre (mm).

**Tableau I :** Souches cibles utilisées

Souches testées	Code
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC ® 25923™
SARM	LGA 251
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATTC ® 25853™
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212™
<i>Escherichia coli</i>	ATCC ® 25922™

### II.2.2.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par méthode de micro-dilution sur milieu liquide

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des extraits alcaloïdiques sont déterminées par la technique de micro-dilution sur milieu liquide (bouillon Muller Hinton) en utilisant des microplaques à fonds incurvés de 96 puits. Cette méthode est basée sur les étapes suivantes :

- **Standardisation de l'inoculum**

A partir d'une culture fraîche, quelques colonies ont été prélevées et mises en suspension dans de l'eau physiologique. La suspension bactérienne a été standardisée à l'aide d'un spectrophotomètre (VIS-723G) pour une DO de 0,08 à 0,1 à 625 nm correspondant à  $10^8$  UFC/ml. Par la suite, une dilution 1/10 a été réalisée.

- **Préparation de la microplaque**

Un volume de 50  $\mu$ l de bouillon de Mueller-Hinton (MHB) ont été distribués dans les 96 puits que contient la microplaque.

- **Dilution**

A partir d'une solution de l'extrait alcaloïdique d'une concentration de 400 $\mu$ g/ml, 50  $\mu$ l ont été prélevés puis mélangés aux 50  $\mu$ l de MHB contenu déjà dans la première cupule. Par la suite, 50  $\mu$ l du contenu de la première cupule ont été prélevés puis déposés dans la cupule adjacente et ainsi de suite. Ces dilutions permettent d'obtenir des concentrations décroissantes de l'extrait alcaloïdique à raison de 2.

Une rangée de puits ne contenant que du MHB est utilisée comme contrôle négatif afin de vérifier que le bouillon ne soit pas contaminé. Des puits contenant du DMSO+eau sont utilisés comme témoins.

- **Ensemencement**

A partir de la suspension bactérienne standardisée à  $10^7$ UFC/ml, 50  $\mu$ l ont été déposés dans tous les puits de la microplaque qui est ensuite incubée à 37°C pendant 18 h.

Une rangée de puits ne contenant que du MHB est ensemencée et est utilisée comme témoin à fin de vérifier l'inoculum.

- **Lecture**

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

## **Partie II : Résultat et discussion**

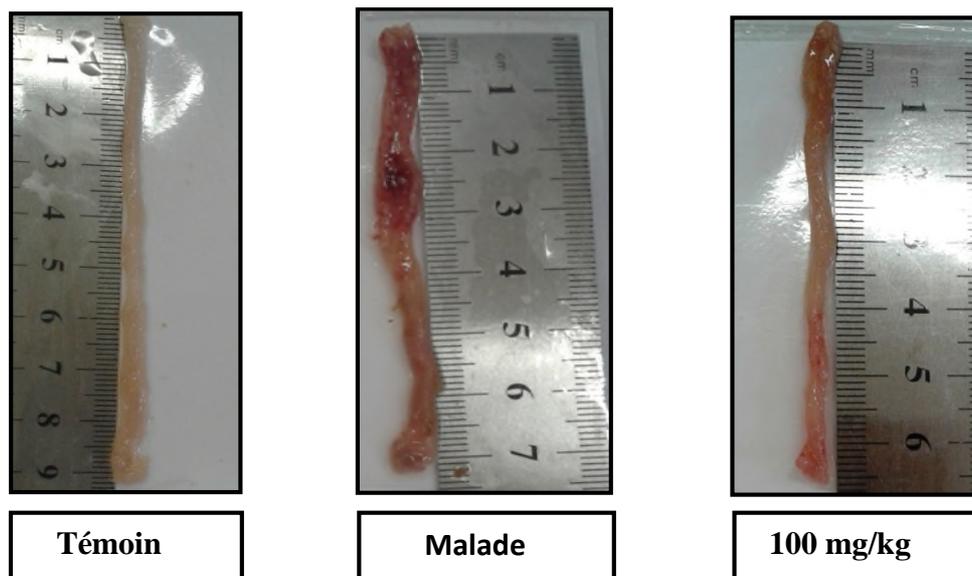
## Partie II. Résultats et discussion

### I. Résultats

#### I.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale

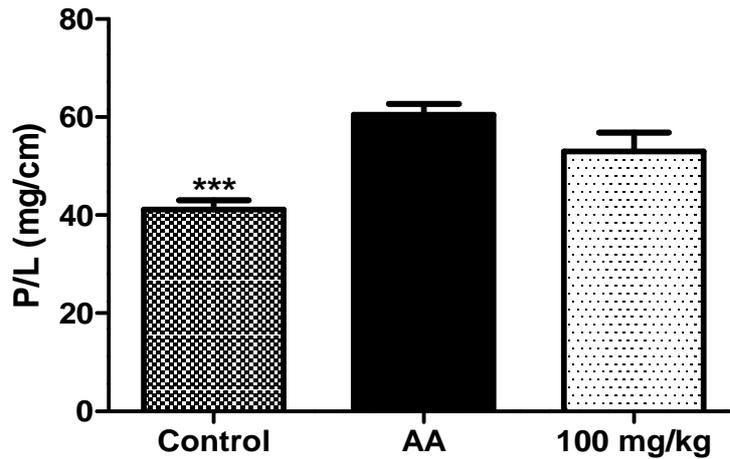
##### I.1.1. Résultats du DAI et du P/L

Les résultats ont révélé que l'acide acétique a provoqué une augmentation importante du DAI, avec des signes cliniques typiques, notamment: la diarrhée sanglante, diminution de la consommation de l'eau et de la nourriture et la perte du poids corporel. Un cas de mortalité a été signalé au sein du lot malade. D'autre part, le traitement avec la dose de FA (100mg/kg) a montré une réduction significative de DAI; le poids du côlon et dans l'amélioration de la longueur de ce dernier et tout simplement une amélioration générale de l'état clinique des souris traitées (figure 9).



**Figure 9 :** Photographies des colons récupérés des trois lots

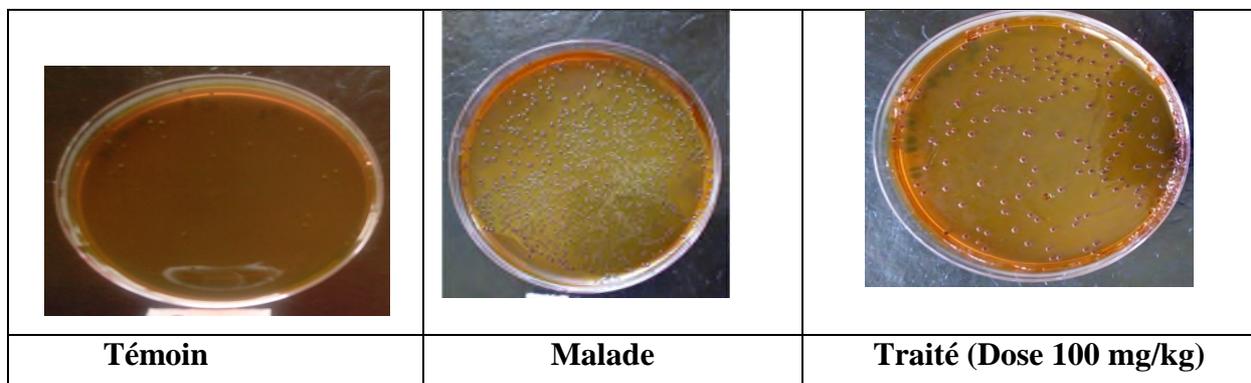
Le rapport P/L du colon est considéré comme un indicateur direct de la gravité et l'étendue de l'inflammation intestinale (Sotnikova *et al.*, 2013). Une augmentation significative du rapport P/L par rapport au lot témoin a été rapportée chez le lot malade. Chez le lot traité, l'administration d'une FA a permis de réduire le rapport P/L, mais pas de manière significative (figure 10).



**Figure 10 :** Effet anti-inflammatoire des alcaloïdes totaux de *Fumaria* (100mg/kg) sur la variation du rapport P/L dans le modèle de colite induite par l'acide acétique (5%). Les données sont exprimées en moyen  $\pm$  SEM (n = 6). Les groupes avec différentes lettres AA (groupe acide acétique); contrôle (témoin) ; groupe traitée (100mg/kg), statistiquement (\*P <0,05. \*\* P<0.01;\*\*\* p<0.001).

### I.1.2. Etude de la flore bactérienne fécale

Le dénombrement des *E. coli* à partir des selles des souris (5eme jours ) de chaque lot était en moyenne de 500 UFC/ml pour le lot "témoin"  $2,65 \cdot 10^7$  UFC/ml pour le lot "malade" et de  $1,5 \cdot 10^3$  UFC/ml pour le lot "traité". On constate alors, une diminution du nombre d' *E. coli* après traitement à FA à une concentration de 100mg/kg. Ce qui signifie qu'il y a une diminution de l'inflammation par le traitement (figure11). Le résultat des tests de confirmation de l'identification des *E. coli* sont représentés dans la figure 12.



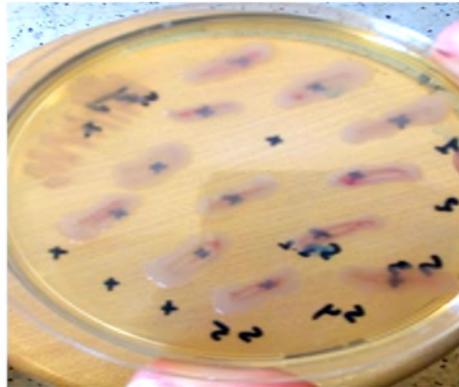
**Figure 11 :** Résultats du dénombrement pour chaque lot sur EMB à partir de la dilution  $10^{-2}$

- **Test d'identification :**

Les résultats obtenus pour les tests de confirmation d'*E. coli* sont présentés dans la (figure12).



Résultat positif pour la production d'indole (halo rouge)



Aspect des colonies sur Chromagar (rose)

**Figure 12:** Résultats des tests de confirmation de l'identification des *E. coli*

### I.2. Résultat de l'activité antibactérienne

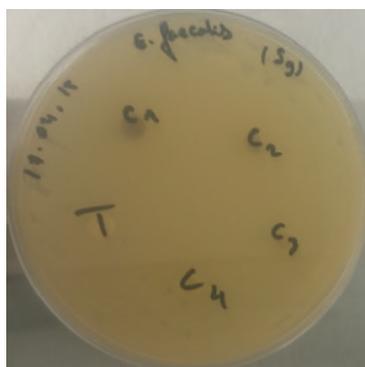
Les résultats du test des disques ont révélé aucune zone d'inhibition que ce soit pour les différentes concentrations de FA (400, 200, 100 et 50  $\mu\text{g/ml}$ ) que pour le témoin (DMSO + eau) (figure 13). De même pour le test de la détermination des CMI par microdilution, les CMI pour toutes les souches cibles testées étaient de  $>200 \mu\text{g/ml}$  (figure 14). Ce qui veut dire qu'il y a eu aucun effet antibactérien pour les concentrations testées.



*E. coli*

*P. aeruginosa*

*S. aureus*

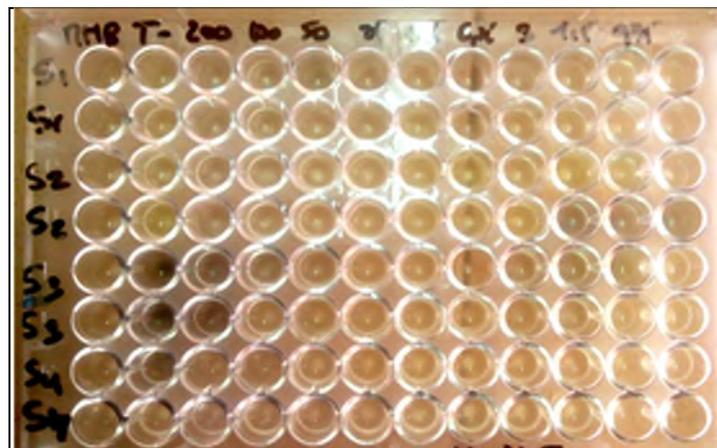


*E. faecalis*



SARM

**Figure 13:** Résultats de l'activité antibactérienne par méthode des disques.



**Figure 14 :** Résultats des CMI sur microplaque

## II. Discussion

*Fumaria capreolata* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Fumariaceae* et utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses divers effets thérapeutiques. Cependant, peu de travaux ont été cités dans la littérature concernant l'effet anti-inflammatoire des molécules qui l'a composent.

Dans notre expérimentation, l'observation macroscopique de la forme des colons a montré que l'administration d'acide acétique à 5% provoque une réponse inflammatoire induisant des dommages graves aux muqueuses, grâce à sa forme protonée libérée dans l'espace intracellulaire entraînant une lésion des cellules épithéliales et une infiltration cellulaire, provoquant une réponse inflammatoire aiguë. Cette dernière est responsable des hémorragies et la libération des médiateurs pro-inflammatoires qui participent à l'augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale intestinale au cours des MICI (Otari et al., 2012). Plusieurs événements se manifeste par l'augmentation de la perméabilité capillaire et la migration des macrophages au site infecté à travers la paroi endothéliale, par le phénomène de diapédèse, afin de stimuler la production des médiateurs pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, et TNF $\alpha$ ). Ce qui explique les observations des dégâts macroscopiques engendrés par l'acide acétique sur les colons des souris traitées et l'augmentation du rapport P/L.

Dans notre étude, l'administration de FA à 100 mg/kg à des souris colitique a produit un léger effet anti-inflammatoire traduit par une légère diminution du rapport P/L comparé au lot malade. Des travaux réalisés par Bribi et al., (2016) suggère que la FA de *Fumaria capreolata*, contenant 1,3% de stylopine et 0,9% de protopine, a significativement exercé des effets anti-inflammatoires intestinaux dans un modèle expérimental de colite de souris du fait de la modulation de la réponse immunitaire intestinale et à une restauration de la fonction épithéliale intestinale. En effet, l'administration orale de FA à des souris a produit une inhibition significative de la libération de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$  dans le tissu colique. La FA a également supprimé la transcription d'autres médiateurs pro-inflammatoires tels que IL-1  $\beta$ , iNOS, IL-12 et IL-17 impliqués dans l'inhibition de l'expression de l'ARNm de IL-6 et TNF- $\alpha$ , ainsi que la molécule d'adhésion ICAM-1 exprimée sur différentes cellules immunitaires, qui peut être considérée comme une cible intéressante dans la thérapie des MICI (Lobaton et al., 2014). L'effet anti-inflammatoire de FA chez les souris coliques pourrait également être associé à la normalisation de l'expression de MUC-2 et ZO-1, qui sont importantes pour l'intégrité de l'épithélium intestinale.

Les résultats de l'analyse microbiologique de la flore fécale des souris ont montré clairement une augmentation des *E. coli* chez le lot malade par rapport au lot témoin (non malade). En effet, des études montrent bien que lors d'une inflammation digestive, il y a une dysbiose qui provoque un déséquilibre de la flore se traduisant par l'augmentation de nombre des bactéries à Gram négatif et la diminution de nombre des bactéries à Gram positif. Ainsi, plusieurs études ont rapporté une concentration fécale significativement augmentée d'Entérobactéries, en particulier *E. coli*, chez les sujets atteints de MICI par rapport aux sujets contrôle ainsi qu'une réduction significative de la biodiversité dans le groupe des Firmicutes, plus particulièrement une diminution des *F. prausnitzii*. Ces derniers produisent le butyrate ayant un effet anti-inflammatoire (Seirafi et al., 2011).

Dans notre étude, après traitement par la FA à 100mg/ml, nous avons pu observer une diminution d'*E. coli* dans la flore fécale en comparaison avec celle du lot malade, permettant ainsi de suggérer qu'il y a un certain effet anti-inflammatoire associé au traitement par la FA de *Fumaria capreolata* ce qui est en accord avec les résultats obtenus précédemment. Une étude récente réalisée sur des patients atteints de MC a rapporté une abondance de bactéries du genre *Escherichia / Shigella* chez les sujets malades. Alors que, pour les patients traités par anti-TNF- $\alpha$ , *Faecalibacterium* était plus fréquemment rencontré, ce qui est un signe de l'efficacité du traitement (Doherty et al., 2018). Ces résultats suggèrent que le microbiote fécal pourrait être un biomarqueur non invasif utile pour diriger ou surveiller le traitement des maladies gastro-intestinales.

Les résultats du test d'antagonisme sur milieu liquide (microdilution) comme sur milieu solide (test des disques) ont révélé une absence d'activité antibactérienne pour la FA probablement due aux faibles concentrations testées (400  $\mu$ g/ml, 200  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml et 50  $\mu$ g/ml). Une autre étude menée sur l'effet antibactérien d'extraits alcaloïdiques d'autres plantes médicinales *Bidens pilosa L. (Asteraceae)* a révélé de grandes zones d'inhibition jusqu'à 36 mm de diamètre vis-à-vis de souches bactériennes Gram positives et Gram négatives (Njume et al., 2016). Ce qui démontre que les alcaloïdes sont efficaces comme antimicrobien en interaction avec d'autres métabolites secondaires.

# **Conclusion**

Au terme de ce travail, qui porte sur l'étude de l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire d'un extrait alcaloïdique de la plante médicinale: *Fumaria capreolata*, nous pouvons tirer un certain nombre de conclusions :

- L'extrait alcaloïdique étudié n'a aucune activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes testées et ce pour des concentrations <400µg/ml.
- Un effet thérapeutique (légère diminution du rapport P/L) de l'extrait alcaloïdique à 100mg/kg a été rapporté associé à une diminution relative du nombre d *E. coli* chez le lot traité par rapport au lot malade.

A la lumière de ces résultats préliminaires obtenus, nous pouvons dire que l'extrait alcaloïdique de *Fumaria capreolata* peut être considéré comme une stratégie thérapeutique potentielle dans le traitement des MICI. D'autant plus que cette plante aromatique est largement répandue en Algérie et abrite de nombreux autres effets bénéfiques.

Cette étude suggère également que la caractérisation du microbiote fécal peut fournir un outil supplémentaire dans l'évaluation des réponses thérapeutiques justifiant des études plus approfondies

En perspective, il serait donc important d'approfondir les recherches sur cette plante intéressantes et ce par :

- L'augmentation de la dose de l'extrait alcaloïdique à tester aussi bien pour les études *in vivo* que *in vitro*.
- L'augmentation du nombre de souris pour chaque lot afin de pouvoir appliquer des tests statistiques et obtenir des résultats plus significatifs.
- La réalisation de coupes histologiques de l'ulcération colite afin de confirmer les résultats de l'effet anti-inflammatoire.
- L'application des techniques moléculaires telles que la PCR de l'ARN16S et le séquençage pour l'étude du microbiote fécal.

# Référence

## A

- **Ait youcef, M. (2006).** Plantes médicinales de kabylie. *Edition: lbis press.* Paris, 149-150.
- **Aldhous, Marian C, Colin L Noble, et Jack Satsangi (2012).** « Dysregulation of human beta-defensin-2 protein in inflammatory bowel disease ». *PloS One* 4, no. 7 (2009): e6285.
- **Anderson J.L., Edenev R.J., Whelan K. (2012).** Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, **36**: 503-516.
- **Anonyme (2016):** ( Willkommen am UniversitätsSpital Zürich [Internet]. [cité 28  
.http://www.gastroenterologie.usz.ch/fachwissen/morbus-crohn-colititsulcerosa/ Seiten/default.aspx?DeviceChannel=Mobile.
- **Aouadhi. S. (2010).** Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mémoire de master en toxicologie. Faculté de Médecine de Tunis.
- **Avril J.L., Denis F., Dabernat H., Monteil H. (2000).** Bacteriologie clinique. 2<sup>ème</sup> édition Marketing, paris. Pages 148-280.

## B

- **Badiaga M. (2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de docteur d'université, Mali.
- **Baumgart, D.C.,and Sandborn, W.J. (2012).** Crohn's disease. *Lancet* 380, 1590-1605.
- **Baumgart, D. C. and Sandborn, W. J. (2007).** Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 369(9573): 1641-57.

- **Barbut F., Collignon A., Butel M.-J., Bourlioux P. (2014).** Le transfert de flore digestive : une revue de la littérature. *Ann Pharm Fr*, 358: 1-9.
- **Barnich N, Darfeuille-Michaud A (2007):** Role of bacteria in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*; 13: 5571–5576.
- **Begard M.A(2007)** microflore intestinal mieux comprendre son rôle dans a survenue des MICI. Service de gastro- entérologie et nutrition,.
- **BERNARD J. et REYNAUD A., (2003).** Les Entérobactéries, systématiques et méthodes de diagnostic. Ed : Techniques et Documentations. Lavoisier ; paris: 349 p.
- **Biasucci, Giacomo, Monica Rubini, Sara Riboni, Lorenzo Morelli, Elena Bessi, et Cristiana Retetangos (juillet 2010).** « Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut ». *Early Human Development* 86 Suppl 1: 13-15.
- **Boirivant M., Cossu A. (2012).** Inflammatory Bowel Diseases. *Oral Dis*, 18: 1-15. **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition, lavoisier. Paris.
- **Bourlioux P(1998).** composition et role de la flore intestinal. Instit danone,
- **Bourreille, M. Flamant(2004).** Thérapie biologique des maladies inflammatoires chroniques intestinales: Biologic therapies in inflammatory bowel diseases. *La Lettre du Pharmacologue - Volume 18 - n° 4 .*
- **Bribi, N ; Algeri, F ; Rodriguez-Nogales, A ; Vezza, T ; Garrido-Mesa, J ; Pilar Utrilla, M ; Contreras, M ; Maiza, F ; Segura-Carretero, A ; Rodriguez-Cabezas, E ; Gálvez, J.(2016).** Intestinal anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *Fumaria capreolata* in the DNBS model of mice colitis and intestinal epithelial CMT93 cells. *phycomedicine*. 23: 901-913.
- **Bruneton J.( 1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition. Edition tec & doc, Paris, pp783-823.

## C

- **Calkins BM (1989)**. A meta-analysis of the role of smoking in inflammatory bowel disease. *Digestive diseases and sciences*. Dec; 34(12):1841-54.
- **CA-SFM. 2013**. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
- **Cooper, H. S., Murthy, S. N., Shah, R. S., & Sedergran, D. J. (1993)**. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest*, 69(2), 238-249.
- **Corthier,G Sk H(2006)**. Alimentation et santé ; le rôle de a microflore de tube digestif INRA.
- **Corthier,G(2008).....**
- **Cosnes J. Tobacco (2004)**.a.qnd IBD: relevance in the understanding of disease mechanisms and clinical practice. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. Jun;18(3):481-96.
- **Coste H. (1937)**. Flore descriptive et illustrée de la France, de la corse et des contées limitrophes. Edition librairie des sciences et des arts, Paris. P 191.
- **COWAN N. M.,( 1999 )-** Plant products as anti microbial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4): 564-582.

## D

- **Debelmas A.M. et Ddelaveau P. (1978)**. Guide des plantes dangereuses .Edition Maloine, Paris. P 59.
- **Den Besten,G., Van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D.- J., Bakker, B. M. (2013)**. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54(9), 2325-2340.

- **Ducluzeau.R et. Raibaud p (1989).** Les interactions bactériennes dans le tube digestif Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. , **8** (2), 291-311.
- **Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., Knight, R., Gordon, J. I. (2010).** Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(26), 11971-11975.
- **Drs Mariam Seirafi , Sophie Cunningham ,Pr Antoine Hadengue.( 7 septembre 2011).** Le microbiote dans les maladies du foie et du tube digestif : la révolution annoncée , **Revue Médicale Suisse** – www.revmed.ch –.1696-1700.
- **Drs Montserrat Fraga, Sébastien Godat , Alain M. Schoepfer ,Pr Darius Moradpour et Dr Andreas Nydegger(5 septembre 2012) .** Calprotectine fécale : outil diagnostique dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin .Revue Médicale Suisse – www.revmed.ch.

## E

- **Eckburg, P.B., et al.(2005),** Diversity of the human intestinal microbial flora. Science,. **308**(5728): p. 1635-8.
- **Ed. S. W Pelletier. Edition: médicales Elsevier SAS . Georgia .USA, 9, 155.**  
**Hess M., (2002)-** Alkaloids, Nature's Curse or Blessing 1<sup>ère</sup> édition. Ed. Wiley-VCH, New York. USA. 297 p.
- **Élodie Quévrain , Philippe Seksik , Sylvie Rajca(2011) .** Rôle du microbiote au cours des maladies inflammatoires intestinales : connaissances actuelles et perspectives : Role of the microbiota in inflammatory bowel diseases:current knowledge and prospects Vol. XIV - n° 4 :148-153.
- **Engel M.A., Neurath M.F. (2010).**New pathophysiological insights and modern treatment of IBD. J Gastroenterol, **45**: 571-583.
- **Essawi T., Srouf M., (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J.Ethnopharmacol.* 70: 343-349.

## F

- **Facchini P.J., St-Pierre B. (2005).** Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:657–666.
- **Frédéric Barbut, Francisca Joly.** Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose The intestinal microbiota: equilibrium and dysbiosis. *HEPATO-GASTRO et Oncologie digestive novembre-décembre(2010).* vol. 17 no 6, p. 511-519.

## G

- **Gazengel JM., Orecchioni AM.,( 2013).** Le préparateur en pharmacie – Guide théorique et pratique. 2<sup>ème</sup> ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 1443 p.
- **Genevieve B. (2017).** Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste par le réseau Tela botanica. Marseille > l'Estaque
- **Gerard, P et Bernalier-Donadille, A(2007).** Les fonctions majeures du microbiote intestina l. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, 42, pp28-36.
- **Gérard p., Donadille A(2007).**les fonctions Majeurs du microbiote intestinale, *cahier de nutrition de diète* ; 42 (2) :28-36.
- **Gibson GR, Roberfroid MB (1995).** Dietary modulation of the human.
- **Goetz P., Wuyts D. (2008).** Phytothérapie et nutrithérapie de l'hypertension artérielle *phytothérapie* 6 :247 -252.
- **Guarner F (2007).**: Prebiotics in inflammatory bowel diseases. *Br J Nutr*; 98(suppl 1):S85– S89.
- **Guignard J. L., Cosson L., Henry M. (1985).** Abrégé de phyto-chimie. Masson, Paris, pp 175-191.
- **Gurib-Fakim A. 2006** Medicinal plants: Tradition of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine* 27: 1-93.

- **Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA (2000).**: *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci*; 45: 1462–1464.

## H

- **Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G(2003).** Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology.*;124 (7):1767-73.
- **Hai-Qin Ma, Ting-Ting Yu, Xiao-Jing Zhao, Yi Zhang, Hong-Jie Zhang(2018)** .Fecal microbial dysbiosis in Chinese patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 7; 24(13): 1464-1477.
- **Hartmann, T., & Witte, L. (1995).** Alkaloids : Chemical and biological perspectives.
- **Heller, F., Florian, P., Bojarski, C., Richter, J., Christ, M., Hillenbrand, B., Mankertz, J., Gitter, A.H., Burgel, N., Fromm, M., et al. (2005).** Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 129, 550-564.
- **Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, et al May (2001).** Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 31; 411(6837):599-603.
- **Hoffmann, U.,Schreiber, S., Dietel, M. and Lochs, H. (2002).** Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 122(1): 44-54.
- **Hopkins M. J., Sharp R. et Macfarlane G. T., (2002).** Variation in human intestinal microbiota with age. *Digestive and Liver Diseases*, 34: 12-18.

## I

- **Irit Chermesh , Raanan .Shamir (2009)** Rôle du microbiote dans les maladies inflammatoires de l'intestin .Ann Nestlé [Fr];67:27–38.
- **ISERIN P., MASSON M ., RESTELLINI J P.,( 2007)-** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse, Paris. France. 335 p.

## J

- **James Gregor, M.D(2012).** Le patient venant de recevoir un diagnostic de colite ulcéreuse : Prévoir les questions et personnaliser les réponses ; Journal of Current Clinical Care Supplément pédagogique, 6-14.

## K

- **Klotz C, Dhooge M, Oudjit A, Barret M, Beuvon F, Chaussade S, Coriat R, Abitbol V(2015).** Prise en charge de la maladie de Crohn. La Presse Médicale. ; 44 (4): 411-417.

## L

- **ley, r.e., d.a. peterson, and j.i. Gordon (2006),** ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine.cell,. 124(4): p. 837-48.
- **Lobaton, T., Vermeire, S., Assche, G., & Rutgeerts, P. (2014).** Review article: anti- adhesion therapies for inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 39(6), 579-594.

- **louis, e., and marteau, p. (2010).** maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, wolter kluwer france edn (r. zittoun).
- **Lu L et walker W.A (2001).** pathogen and physiologicinteraction of bacteria with the gastro- intestinal epithelium. Am J cin Nutr ;1124-1130.

## M

- **Machiels, K., Joossens, M., Sabino, J., De Preter, V., Arijs, I., Eeckhaut, V., Ballet, V., Claes, K., Van Immerseel, F., Verbeke, K., et al. (2013).** A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis.
- **Mahowald, M.A., et al (2009).** Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. Proc Natl Acad Sci U S A., 106(14): p. 5859-64.
- **Manichanh, C., et al (2010).**, Reshaping the gut microbiome with bacterial transplantation and antibiotic intake. Genome Res., 20(10): p. 1411-9.
- **Marko B, Prka (2013).L.** [Anti-TNF therapy in treatment of luminal Crohn's disease]. Acta Medica Croat Cas Hravatske Akad Med Znan. avr;67(2):179e89.
- **Matthew K. Doherty, Tao Ding, Charlie Koumpouras, Shannon E. Telesco, Calixte Monast, Anuk Das, Carrie Brodmerkel, Patrick D. Schloss.** March/April( 2018) . Fecal Microbiota Signatures Are Associated with Response to Ustekinumab Therapy among Crohn's Disease Patients Volume 9 Issue 2 e02120-17 .1-13.
- **Mekkiou R and benayache F.(2005).** Recherche et détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espées du Genre Genista ( Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse Doctorat, Université Mentouri- Constantine.
- **Mitsouka T., (1996).**Intestinal flora and human health Asia Pacific. International Journal of Dairy, 10.

## N

- **Njume ,C.,Gqaza, B.M., Rozani, C.etGoduka, N.I.(2016).**Studies on bioactivity and secondary metabolites of crude extracts of *Bidenspilosa* L. (Asteraceae): A medicinal plant used in the Transkei region of South Africa.*Pak J Pharm Sci*,29(3): 877-85.
- **Nuding, Sabine, Klaus Fellermann, Jan Wehkamp, et Eduard F Stange (septembre 2007):.** « Reduced mucosal antimicrobial activity in Crohn's disease of the colon ». *Gut* 56, no. 9 1240-1247.

## O

- **Omulokoli E, Khan B, Chhabra SC. (2000).** Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 56 :133-137.
- **Orhan, I. E., Şener, B., & Musharraf, S. G. (2012).** Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected *Fumaria* species and their total phenol and flavonoid quantities. *Experimental and toxicologic pathology*, 64(3), 205-209.
- **Otari, KV; Gaikwad, PS; Shete, RV; Upasani, CD. (2012).** Protective effect of aqueous extract of *Spinacia oleracea* leaves in experimental paradigms of inflammatory bowel disease. *Inflammopharmacology*. **20**: 277-287.

## P

- **Paris M., Hurabielle M. (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Tome 1. Masson, Paris, pp256-284.

- **Pittet V, Juillerat P, Mottet C, et al. Cohort profile(2009)** : The Swiss inflammatory bowel disease cohort study. *Int J Epidemiol*;38:922-31.

## Q

- **Quévrain ,Philippe,SeksikSylvie Rajca(2011)**. Rôle du microbiote au cours des maladies inflammatoires intestinales : connaissances actuelles et perspectives Role of the microbiota in inflammatory bowel diseases: current knowledge and prospects, Vol. XIV - n° 4 148-153.

## R

- **Rajilic-Stojanovic, M. (2013)**. Function of the microbiota. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 27, 5-16.
- **Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F(2006)**.: Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*; 4:CD004826.
- **ROWE W.A., LICHTENSTEIN G.R. (2012)**. Inflammatory bowel diseases. Voir webographie.

## S

- **Sartor, R.B. (2004)**. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 126, 1620-1633.
- **Schoepfer AM, Trummler M, Seeholzer P, Seibold- Schmid B, Seibold B. (2008)**. Discriminating IBD from IBS: Comparison of the test performance of

fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. *Inflamm Bowel Dis*; 14:32-9.

- **Sherwood,L.(2006).**physiologie humaine. De boeck, 2ème édition.
- **Sokol H, Cosnes J, Chazouilleres O, Beaugerie L, Tiret E, Poupon R, et al Jun (2008).** Disease activity and cancer risk in inflammatory bowel disease associated with primary sclerosing cholangitis. *World J Gastroenterol.* 14;14(22):3497-503.
- **Seksik P. (2010).** Microbiote intestinale et MICI. *Gastroen Clin Biol*, 34: 48-55.
- **Seksik, P., Rigottier-Gois, L., Gramet, G., Sutren, M., Pochart, P., Marteau, P., Jian, R. and Dore, J. (2003).** Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut* 52(2): 237-42.
- **Sokol H., Pigneur B., Watterlot L., Lakhdari O., Bermudez Humaran L.G., Gratadoux J.-J., Blugeon S., Bridonneau C., Furet J.-P., Corthier G., Grangette C., Vasquez N., Pochart P., Trugnan G., Thomas G., Blottiere H.M., Dore J., Marteau P., Seksik P., Langella P. (2008).** *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients.
- **Sotnikova, R., Nosalova, V., & Navarova, J. (2013).** Efficacy of quercetin derivatives in prevention of ulcerative colitis in rats. *Interdisciplinary toxicology*, 6(1), 9-12.
- **Sousék, J; Guédon, D ; Adam,T ; Bochorakova, H ; Taborska, E ; Valka, I ; Simanek, V. (1999).** Alkaloids and organic acids content of eight *Fumaria* Species. *Phytochemical Analysis*.10: 6–11.
- **S. Rostaing-Rigattieri, B. Dang-Vu, G. Lenclud, J. Guérin(2010) ;** Conduite à tenir face à une douleur abdominale chronique ; *UMC Gastro-entérologie* : 9 ,118-120.
- **Stephani, J., Radulovic, K., and Niess, J.H. (2011).** Gut microbiota, probiotics and inflammatory bowel disease. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis* 59, 161-177.

- **Suau R., Cabezudo B., Rico R., Najera F., Lopez-Romero J.M. (2002).** Direct Determination of Alkaloid Contents in *Fumaria* Species by GC-MS. P 363-367.
- **Swidsinski, A., Ladhoff, A., Pernthaler, A., Swidsinski, S., Loening-Baucke, V., Ortner, M., Weber, J., Hoffmann, U., Schreiber, S., Dietel, M. and Lochs, H. (2002).** Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 122(1): 44-54.
- **Szajewska H, Shamir R: Prebiotics, Sanderson IR, Goulet O, et al, (2008).** (eds): synbiotics and fermented products; in Kleinman RE, Walker's Textbook of Pediatric Gastrointestinal Disorders, ed 5. Hamilton, Decker, pp 399–409.

## T

- **Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, Colombel JF.( 2004).** Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut*Jan;53(1):1-4.
- **Tunay Kökten1, Franck Hansmannel F1, Hasan Melhem1 (2016).** Laurent Peyrin Biroulet1,2. Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) Pathophysiology of inflammatory bowel disease (IBD) *Hegel* Vol. 6 N° 2 – (2016) 119-129.
- **Tomas, J., P. Langella, and C. Cherbuy,(2012).** The intestinal microbiota in the rat model: major breakthroughs from new technologies. *Anim Health Res Rev.* 13(1): p. 54-63. 122. Dominguez.
- **Triantafyllidis, J., and Triantafyllidis, A. (2008).** The role of antibiotic in inflammatory bowel disease. *annals of gastroenterology* 21, 17-26.

## V

- **Van Rheenen PF, Van de Vijver E, Fidler V (2010).** Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease : Diagnostic meta-analysis. *BMJ*;341:c3369.
- **Vigsnaes, L.K., van den Abbeele, P., Sulek, K., Frandsen, H.L., Steenholdt, C., Brynskov, J., Vermeiren, J., van de Wiele, T., and Licht, T.R. (2013).** Microbiotas from UC patient display altered metabolism and reduced ability of LAB to colonize mucus. *Scientific reports* 3, 1110.

### W

- **Wang, X; Zhao, L; Han, T; Chen, S; Wang, J. (2008).** Protective effects of 2,3,5,4'- tetrahydroxystilbene-2-o-beta-d-glucoside, an active component of *Polygonum multiflorum* thunb, on experimental colitis in mice. *European Journal of Pharmacology*. **578**: 339-348.
- **Wehkamp, J., Salzman, N.H., Porter, E., Nuding, S., Weichenthal, M., Petras, R.E., Shen, B., Schaeffeler, E., Schwab, M., Linzmeier, R., et al. (2005).** Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 18129-18134.
- **Whitman, W.B., D.C. Coleman, and W.J. Wiebe,(1998).** Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A*,95(12): p. 6578-83.

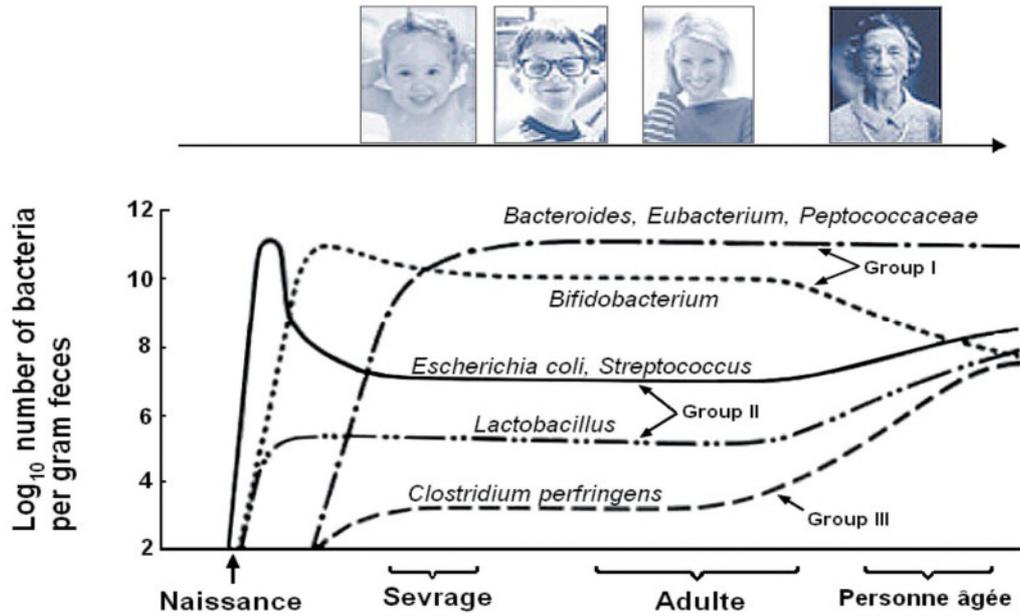
### Z

- **Zenewicz, L.A., Antov, A., and Flavell, R.A. (2009).** CD4 T-cell differentiation and inflammatory bowel disease. *Trends in molecular medicine* 15, 199-207.
- **Zenk H., Juenger M. (2007).** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry* 68; 2757-2772.

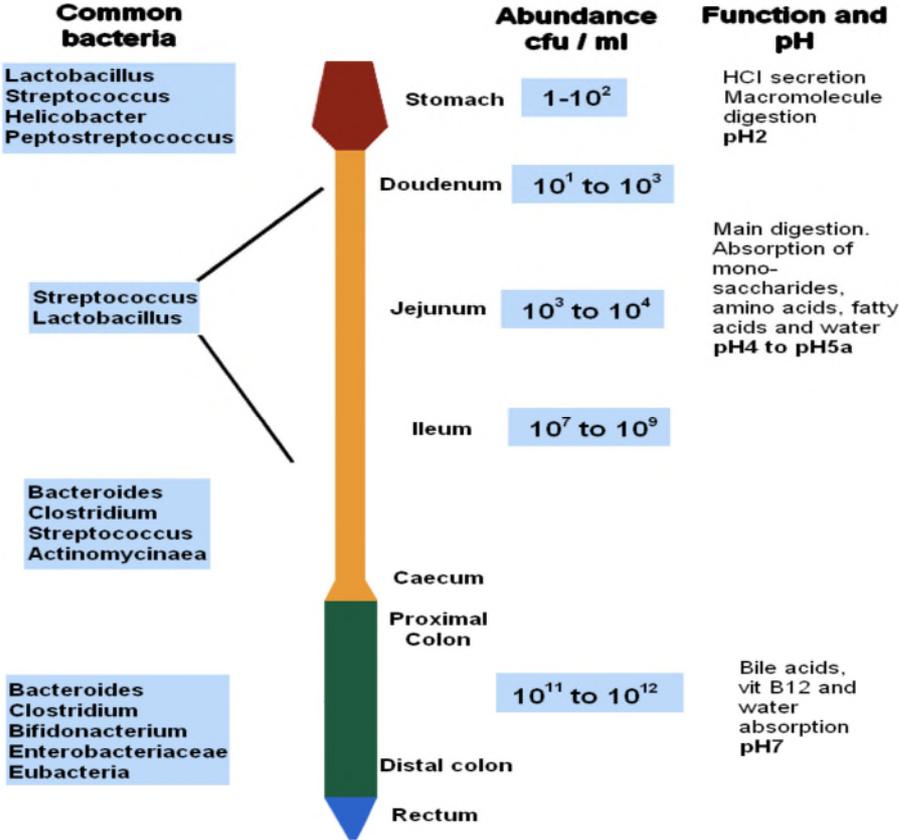


## Annexes

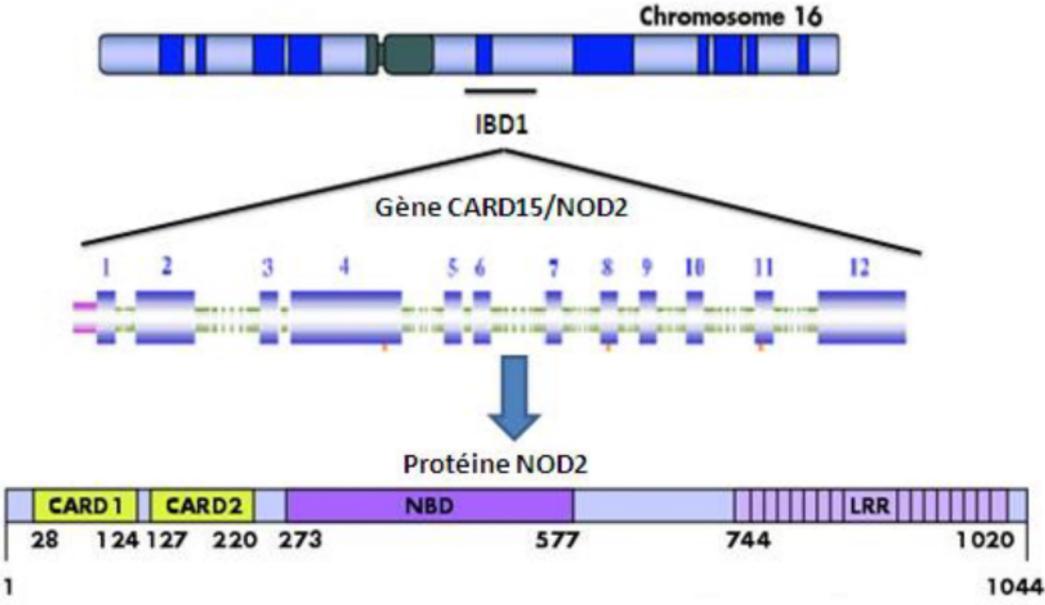
**Annexe 1** Variations du microbiote intestinal avec l'âge. (d'après :« Service médico-scientifique PiLeJe, Le microbiote intestinal dans tous ses états »).



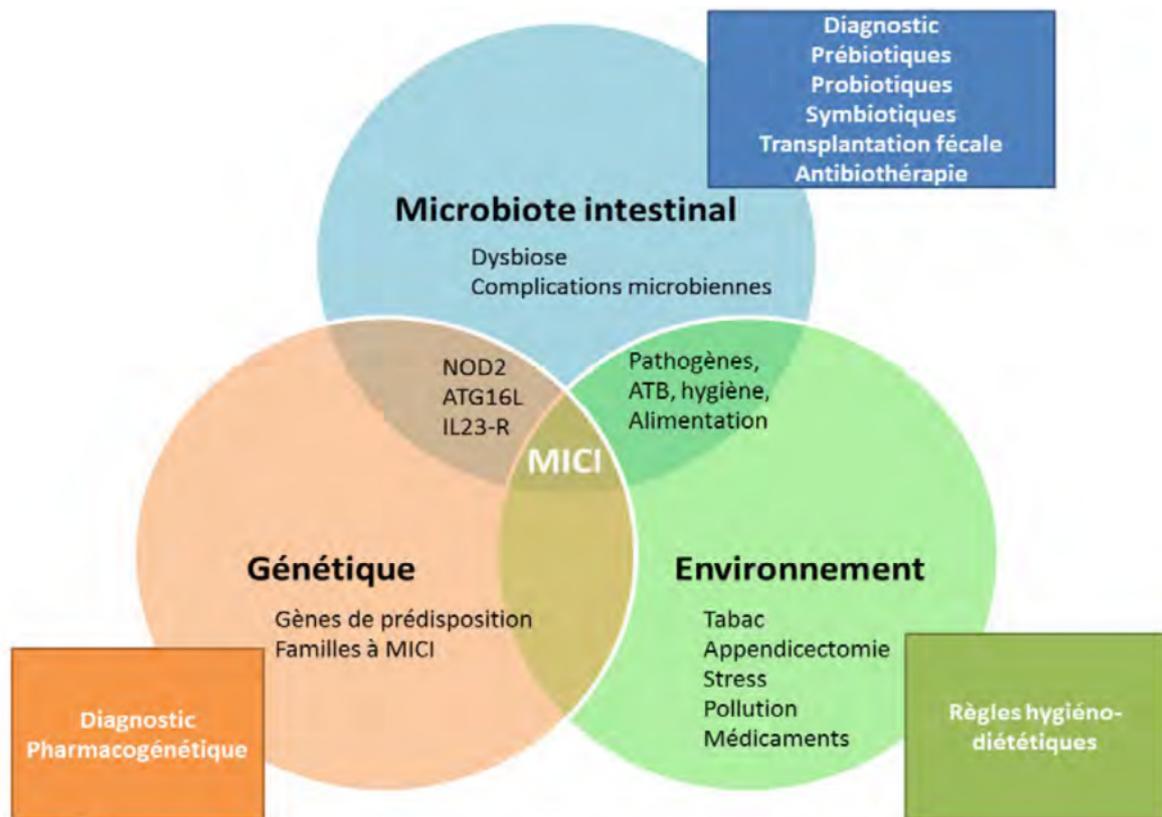
**Annexe 2** Présentant les variations dans la composition du microbiote tout au long du tractus digestif et précisant son abondance tout au long de celui-ci. (d'après: «P. Nguyen Van, Le microbiote intestinal, Probiogov.»).



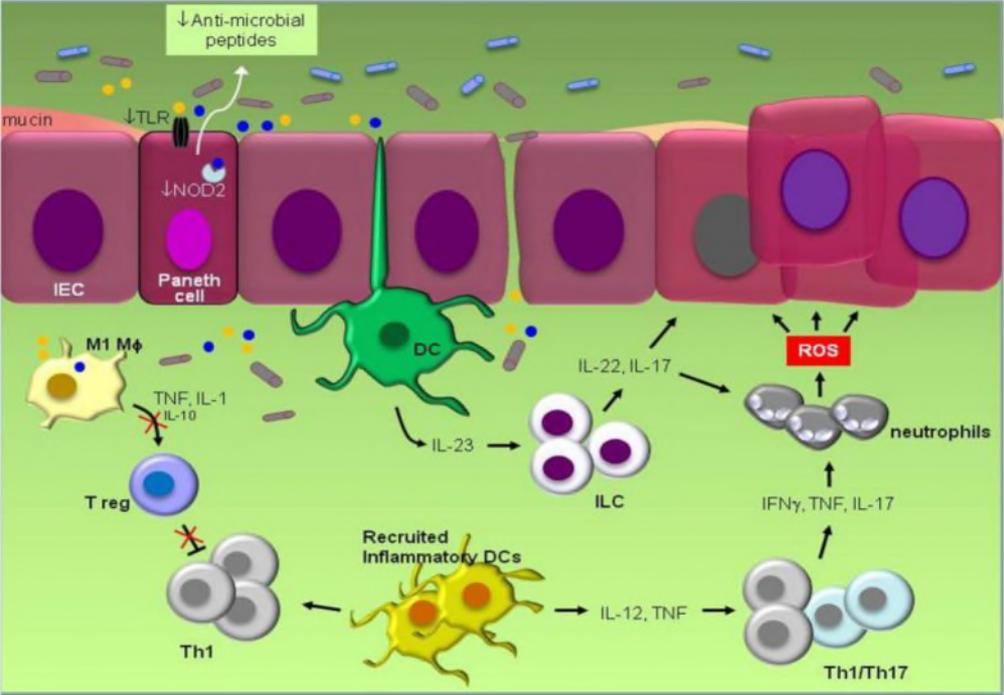
**Annexe 3** Structure du gène *CARD15/NOD2* et de protéine NOD2/CARD15 (Hugot *et al.*, 2002)



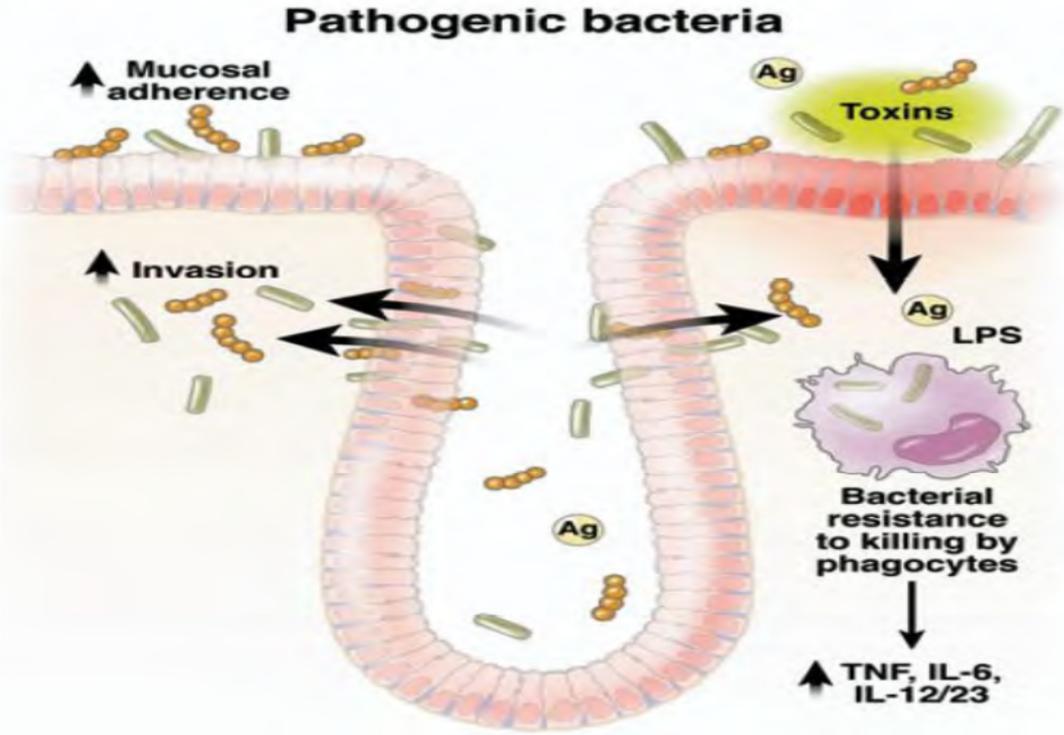
**Annexe 4** Etiologies et perspectives de prise en charge des MICI



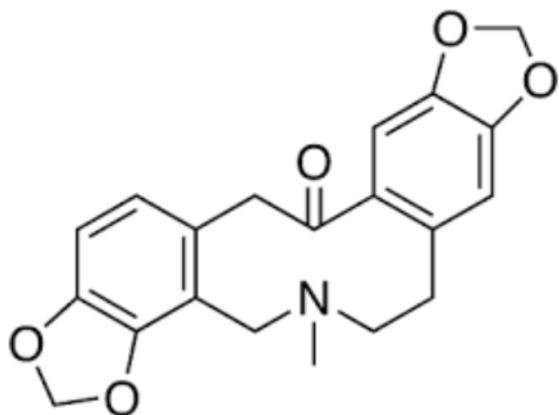
**Annexe 5** : Représentation schématique des évènements physiopathologiques actuellement identifiés dans les maladies inflammatoires chroniques expérimentales (Gkouskou et al, 2014)



**Annexe 6** : Mécanisme général proposé dans l'implication d'agents pathogènes dans la physiopathologie des MICI (Sartor, 2008)



**Annexe 7 : Exemple d'alcaloïdes (Bruneton, 1999).**



**Protopine**

**Annexe 8 : la moyenne de P/L des souris de chaque lot**

<b>Lot</b>	<b>Le rapport P/L</b>
<b>Témoin</b>	0.047
<b>Acide acétique</b>	0.052
<b>Alcaloïde 100mg/kg</b>	0.056

## **Annexe 9 : Composition des milieux de culture**

### **Composition du milieu Mueller – Hinton agar :**

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

pH ajuster 7,4 autoclaver à 115°C/15 mn.

### **Composition de la Gélose EMB (éosine méthyle bilié) :**

peptone .....	10
Lactose .....	10
Phosphate bipotassique .....	2
Eosine .....	0,4
Bleu de méthylène .....	65 mg
Agar .....	15

pH ajuster 7,1, autoclaver à 120 °C/15 mn.

### **Composition de la Gélose chromo –agar :**

Chromopeptone.....	16.1g
Mélange chromogène .....	1.3
Agar .....	15.0

pH 6.9 ± 0.2

### **Composition de l'eau peptonée exempt d'indole :**

-L-tryptophane .....	3g
-Urée .....	20g
-monophosphogénophosphate .....	1g
-Dihydrogénophosphate de potassium.....	1g
-Chlorure de sodium .....	5g
-Ethanol à 95 °GL.....	10ml
-Rouge de phénol .....	25 mg
-Eau distillé (qsp).....	11 ml

## Résumé

Cette étude avait pour objectif l'étude de *in vitro* de l'activité antibactérienne et l'étude *in vivo* de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait alcaloïdiques de *Fumaria capreolata*.

Un test d'activité antibactérienne de l'extrait alcaloïdiques a été réalisé par la méthode des disques sur milieu solide par la détermination de la concentration minimal inhibitrice (CMI) sur le milieu liquide. D'autre part, l'effet anti inflammatoire de l'extrait alcaloïdiques a été testé avec une dose de 100 mg/Kg sur une colite induite par l'acide acétique sur un modèle animal (souris albinos), et en parallèle, par l'analyse bactériologique de la flore fécale de chaque lot (sain, malade et Traité par FA), et ce par le dénombrement des *Escherichia coli*.

Les résultats ont montré aucune activité antibactérienne de l'extrait alcaloïdiques et ce pour une concentration  $\leq 400$   $\mu\text{g/ml}$ . D'autre part, les tests statistiques ont révélé une différence entre les rapports P/L du lot malade et du lot traité ainsi qu'une diminution du nombre de *Escherichia coli* dans la matière fécale signifiant un certain effet anti-inflammatoire de l'extrait alcaloïdiques.

L'extrait alcaloïdiques de *Fumaria* possède un effet anti-inflammatoire pouvant ainsi être considérée comme une stratégie thérapeutique potentielle dans le traitement des maladies inflammatoire chronique de l'intestin MICI.

**Mots clés :** *Fumaria capreolata*, Antibactérienne, Anti-inflammatoire, maladies inflammatoire chronique de l'intestin, l'extrait alcaloïdiques.

## ملخص

قلويدات فوماريا كابريولاتا. كان الغرض من هذه الدراسة هو دراسة النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر ودراسة التأثير المضاد للالتهابات لمستخلص. تم تنفيذ اختبار نشاط مضاد للجراثيم لمستخلص قلويد بواسطة طريقة القرص الصلب عن طريق تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط على الوسط السائل. من ناحية أخرى، تم اختبار تأثير المضادة للالتهابات من استخراج قلويد بجرعة 100 ملغ / كغ على التهاب القولون الناجم عن حمض الخل في نموذج حيواني (الفئران البيضاء) وفي موازاة ذلك، من خلال التحليل البكتريولوجي للنباتات البرازية من كل فئة (صحية، مريضة ومعالجتها بالمستخلص) بواسطة تعداد الإشريكية القولونية. أظهرت النتائج عدم وجود نشاط مضاد للجراثيم من مستخلص قلويد عند تركيز  $\geq 400$  ميكروغرام / مل. من ناحية أخرى، أظهرت الاختبارات الإحصائية فرق بين نسب P / L من الكثير المريض دفعة ومعالجتها وانخفاض في عدد القولونية في البراز يعني لها تأثير ضد الالتهابات من استخراج قلويد. مستخلص قلويدات نبات الفوماريا له تأثير مضاد للالتهابات ويمكن بالتالي اعتباره إستراتيجية علاجية محتملة في علاج مرض التهاب الأمعاء.

**الكلمات المفتاحية** المضاد للبكتيريا، المضاد للالتهابات، قلويدات، فوماريا كابريولاتا، مرض التهاب الأمعاء

## Summary

The purpose of this study was to study *in vitro* the antibacterial activity and the *in vivo* study of the anti-inflammatory effect of the alkaloid extract of *Fumaria capreolata*.

An antibacterial activity test of the alkaloid extract was performed by the solid-state disk method by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) on the liquid medium. On the other hand, the anti-inflammatory effect of the alkaloid extract was tested with a dose of 100 mg / kg on acetic acid-induced colitis in an animal model (albino mice), and in parallel with bacteriological analysis of the faecal flora of each lot (healthy, diseased and treated with FA), by the enumeration of *Escherichia coli*.

The results showed no antibacterial activity of the alkaloid extract at a concentration  $\leq 400$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ . On the other hand, the statistical tests revealed a difference between the P / L ratios of the diseased lot and the treated lot, as well as a decrease in the number of *Escherichia coli* in the faecal material, meaning a certain anti-inflammatory effect of the extract alkaloids.

The alkaloid extract of *Fumaria* has an anti-inflammatory effect and can therefore be considered as a potential therapeutic strategy in the treatment of IBD inflammatory bowel disease.

## Key words

*Fumaria capreolata*, alkaloids, antibacterial, anti-inflammatory, inflammatory bowel disease.