

Réf :.....

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

MASTER

Thème

Etude de l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire d'une huile fixe

Présenté par :

DJELLAB RAZIKA & DJOUHRI THANINA

Soutenu le : **26 Juin 2018 à 9h**

Devant le jury composé de :

M^{me}. BOUKTIT. N
M^{lle}. YANAT. B
M^{me}. LAINCER. F
M. BRIBI. N

MAA
MCB
MCB
MCA

Président
Encadreur
Examineur
Invité

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère

NOURA.

A mon père OMAR, écolle de mon enfance, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager à me donner l'aide et de la protection.

Que Dieu les garde et les protège.

A ma très chère sœur Meriem, pour son aide physique et morale qu'elle m'a apporté et que je lui souhaite un avenir radieux plein de réussite.

A mes frères Lounis et Abdenour

A Mon adorable grande mère

Tes prières m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mes chères ancles et leurs femmes, mes chères tantes, mes cousins et cousines : Yasmine , Zineb, Lila, Aida, Yamina , Meriem , Manel, nour el houda et Khadidja.

A toute ma famille sans exception

A ma binôme : Razika Djellab

A mes chères amies Kahina, Latifa, Zikā, Nina, Tifa , Soraya, Zineb, Salima , Ouafa et nassima.

Mes adorables Taher ,Aya et fatima zahra.

Enfin à toute ma promotion de Master2 Microbiologie Fondamental.

Tous mes proches de prés et de loin.

Thanina (linda).D

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère.

*A mon père, école de mon enfance, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager à me donner aide et protection.
Que Dieu les garde et les protège.*

A mes très chères sœurs Zahia, Farida, Karima, Katia et manissa.

A mes frères Boubkeur, moussa et Abderrahim.

A mes adorables nieces : Ritadj, soundous, Sirine, Ghoufrane et Iman

A mon neveu Yacine je vous aime.

A toute ma famille

A ma binôme : Thanina DJOUHRI

A mes chères amies sans exception

Enfin à toute ma promotion de Master2 Microbiologie Fondamental.

Tous mes proches de près et de loin.

Razika.D

REMERCIEMENT

Le travail présenté dans ce mémoire a été effectué au niveau de laboratoire de microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie.

Avant tout, on remercie Dieu le tout Puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail.

Il est difficile d'exprimer, en quelques lignes, nos remerciements à l'égard de notre encadreur de mémoire, Mlle YANAT B. pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un rapport considérable sans le quel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port, pour ces bons explications qui nous ont éclairé le chemin de la recherche et ça collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements s'adressent à Mr BRIBI N. aussi; mesdames le jury pour avoir accepté de juger notre mémoire, Mme Laincer F. et Mme Bouktit N. nous sommes sûres que leurs remarques et leurs interventions éclaireront nos chemins durant nos carrières.

Enfin mais pas en dernier, nous remercions Mr DJOUDI F. chef de département Microbiologie et Mr TOUATI A. nos amis et tous ceux qui nous ont apporté leur aide, de près ou de loin, afin de réaliser notre projet de fin d'études.

Merci 

Sommaire

Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Introduction	1

Synthèse Bibliographique

Partie I: Microbiote intestinal et maladie inflammatoire chronique de l'intestin

I. Microbiote intestinal	3
I.1. Définition	3
I.2. Composition du microbiote intestinal	3
I.2.1. L'écosystème digestif.....	3
I.2.2. La flore bactérienne.....	3
I.2.3. Implantation du microbiote intestinal.....	5
I.3. Méthodes d'étude du microbiote intestinal.....	5
I.4. Fonctions du microbiote intestinal.....	5
I.4.1. Fonctions métaboliques.....	6
I.4.2. Digestion, absorption et métabolisme.....	6
I.4.3. Effet barrière.....	6
I.4.4. Fonction immunitaire.....	7
II. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).....	7
II.1. Généralités.....	7
II.2. Maladie de Crohn(MC).....	8
II.3. Recto-colite-hémorragique (RCH).....	8
II.4. La barrière épithéliale	9
II.5. La dysbiose.....	9
II.6. Traitements des MICI.....	11

Partie II: Graine de Lin et huile fixe

I. Généralités	13
II. Description botanique.....	13
III. Composition de la graine	14
IV. Utilisation thérapeutique.....	15
V. Huile fixe de graine de lin	15

Chapitre II. Partie I: Matériels et Méthodes

I. Matériel utilisé.....	17
I.1. Matériel végétal.....	17
I.2. Milieux et réactifs	17
I.3. Matériel biologique.....	17
I.3.1. Souches cibles testées.....	17
I.3.2. Le modèle animal.....	18
II. Méthodes.....	19
II. 1. Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale.....	19
II.1.1. Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique.....	19
II.1.2. Evaluation des dommages causés par la colite.....	21
II.1.3. Etude statistique.....	22
II.1.4. Analyses bactériologiques de la flore fécale.....	22
II.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	25
II.2.1. Test d'activité antibactérienne de l'huile fixe sur milieu solide (méthode des disques)	25
II.2.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu liquide.....	25

Partie II. Résultats et discussion

I. Résultats	28
I.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire intestinale.....	28
I.I.1. Résultats du DAI et du P/L.....	28
I.1.2. Etude de la flore bactérienne fécale.....	29
I.2. Résultat de l'activité antibactérienne.....	30
II. Discussion.....	31
Conclusion et perspective.....	35

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

- **AGPI** : Acide gras polyinsaturé.
- **AIEC**: Adhérents invasifs *Escherichia coli* (*Escherichia.coli* adhérents et invasifs)
- **ALA** : Acide Alpha linoléique.
- **DAI**: Disease Activity Index.
- **EMB** : éosine bleu de méthylène.
- **HF** : Huile fixe.
- **IFN- γ** : Interféron gamma
- **LA** : Acide linoléique.
- **LGA** :Laboratoire Médicale Guineo-Allemand.
- **MC** : maladie de Crohn.
- ***muc2*** : Mucine 2.
- **NOD2** : *nucleotide-binding oligomerization domain* .
- **oméga-3** : ω -3.
- **ONAB** : Office National des Aliments de Bétail.
- **P** : P-valeu.
- **P/L** : rapport poids sur la longueur.
- **RCH** : La rectocolite hémorragique.
- **SCFA** : Short-chain fatty acid.
- **SDG** : secoisolaricirésinol di-glucoside.
- **Th** : lymphocytes T auxiliaires.
- **TMF** : transplantation de microbiote fécal.
- **TNF α** : (Tumor Necrosis Factor Alpha).

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1	répartition schématique de la flore microbienne dans divers compartiments du tube digestif chez l'homme et le rat).....	04
Figure 2	Les facteurs induisant les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	08
Figure 3	Principales différences entre la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite Hémorragique (RCH)	09
Figure 4	Équilibre entre les états anti et pro-inflammatoires dans la muqueuse intestinale. L'homéostasie mucoale-microbienne est un sujet complexe et en évolution rapide	10
Figure 5	Fleur bleue de <i>Linum usitatissimum</i>	13
Figure 6	Fruit et graine de lin	14
Figure 7	Photographie de souris albinos de souche NMRI.....	18
Figure 8	Présentation des lots et la méthode du gavage (à gauche), Administration de l'acide acétique par voie rectale (à droite).....	20
Figure 9	Protocole expérimental d'induction de la colite chez les souris induite par l'acide acétique (AA) (lot malade) et d'un traitement par l'HF pendant 2 jours.....	20
Figure 10	méthode de dénombrement d' <i>E. Coli</i> à partir de la matière fécale des souris après sacrifice.....	22
Figure 11	test de confirmation d' <i>E.coli</i> sur le milieu CHOMAGAR® et Eau peptonée exempt d'indole.....	23
Figure 12	Détermination des CMI par la méthode de micro dilution.....	25
Figure 13	Détermination des CMI par la méthode de micro dilution.....	26
Figure 14	Effets de la fraction de l'huile fixe (HF) (100mg/kg) sur l'évolution du rapport poids/longueur en mg/cm dans un model de souris colitique induite par l'acide acétique.....	27
Figure 15	Résultats des tests de confirmation de l'ensification des <i>E. coli</i>	27
Figure 16	Exemple des résultats du dénombrement pour chaque lot A (témoin), B (malade), C (traitée) sur milieu EMB.....	28

Liste des figures

Liste des figures

Figure 17	Résultats de l'activité antibactérienne par méthode des disques.....	28
Figure 18	Résultats des CMI sur microplaque.....	29

INTRODUCTION

Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager ses maux. On sait que les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques (Bouguerra, 2011). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes. Ces dernières peuvent représenter un trésor pour la découverte de nouveaux composés actifs et pour le développement de nouveaux médicaments et des agents thérapeutiques potentiellement utiles (Romano *et al.*, 2015).

Le lin, est considérablement employé dans le quotidien de la santé publique et énormément introduit en nutrition animale. Ce n'est pas un nouvel aliment, il est un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux et précieux en raison de ses propriétés de guérison qui ont fait de lui une plante millénaire aux vertus médicinales. Elle représente la plus riche source végétale d'acide α -linoléique (oméga 3) (Tzang *et al.*, 2009). Les observations épidémiologiques ainsi que les études nutritionnelles menées sur l'animal et sur l'homme ont montré que les huiles végétales alimentaires disposent de nombreux composants doués d'activités biologiques et thérapeutiques (Belluzzi, 2002).

Le microbiote intestinal 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 (Quévrain *et al.*, 2011).

Ces dernières années, l'importance d'un microbiote intestinal bien équilibré (eubiose) est devenue de plus en plus évidente pour la bonne santé de l'homme. L'existence d'une dysbiose est ainsi une caractéristique des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (Rahmouni *et al.*, 2016). Ils se regroupent en deux principales entités : la maladie de Crohn (MC) ainsi que la rectocolite ulcéro-hémorragique (RCUH) (Pittet *et al.*, 2009) se caractérisant par des périodes de rémission et de récurrence (Chermesh *et Shamir*, 2009).

Actuellement, il existe tout un arsenal thérapeutique destiné aux MICI comprenant des anti-inflammatoires, des 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 (Irit

Chermesh et Raanan Shamir, 2009). Cependant, toutes ces options thérapeutiques peuvent présenter d'éventuels effets indésirables ou même une efficacité relativement significative.

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 n'a identifié que très peu d'articles sur la plante *Linum usitatissimum*. Ainsi, ce travail a pour objectif principal l'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* d'extraits l'huile fixe 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 de l'huile fixe de la graine de lin sur un modèle murin.
- Etudier l'activité antibactérienne de l'huile fixe de la graine de lin vis-à-vis d'espèces bactériennes de référence (Gram positif et Gram négatif) en milieu gélosé (test des disques) et en milieu liquide (détermination des CMI).

Synthèse bibliographique

Partie I: Microbiote intestinal et maladie inflammatoire chronique de l'intestin

I. Microbiote intestinal

I.1. Définition

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). Les micro-organismes sont dix fois plus nombreux que nos cellules (10^{14} bactéries contre 10^{13} cellules (Lyra et al., 2012). Véritable forme de commensalisme, les bactéries présentes dans notre tractus digestif perdurent par la consommation de produits alimentaires ou issus de la desquamation de nos tissus et par cela même, nous permettent d'exercer les mécanismes physiologiques nécessaires pour assurer notre bonne santé. C'est pourquoi le microbiote est aujourd'hui considéré comme un organe à part entière (Konturek et al., 2015).

I.2. Composition du microbiote intestinal

I.2.1. L'écosystème digestif

Le tractus digestif présente des environnements différents de la bouche à l'anus. C'est pourquoi les micro-organismes qui le colonisent vont varier en fonction du pH, du potentiel d'oxydoréduction, des substrats et des sites d'adhésion qui caractérisent l'organe cible ou la niche écologique. Les micro-organismes se concentrent majoritairement dans la région intestinale: côlon et iléon (Marteau, 2013) (figure 1). D'autre part, on peut parler de plusieurs types de microbiote intestinaux : le microbiote fécale, le microbiote luminal et le microbiote associé à la muqueuse intestinale (Louis et Marteau, 2010).

I.2.2. La flore bactérienne

Elle est principalement constituée de bactéries anaérobies mais, il existe aussi des bactéries anaérobies facultatives ou aérobies. L'analyse en biologie moléculaire de l'ARN 16S bactérien a permis d'identifier 4 phylums majoritaires dans le tractus intestinal : Firmicutes et Bacteroidetes (> 90%), Actinobactéries (<10%), et Protéobactéries. (95%) des bactéries de notre tractus digestif sont anaérobies et près de 80% sont Gram positifs (figure 1) (Salonen et al., 2014; Konturek et al., 2015).

Elle appartient majoritairement au phylum *Firmicutes* (64%) apparenté aux genres *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Peptostreptococcus* et *Lactobacillus*. Le phylum *Bacteroides* représente 23% de la population bactérienne de l'intestin et se compose des genres *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*. Les *Protéobacteria* sont minoritaires par rapport aux autres genres (8%) et sont représentées par les genres *Escherichia*, *Desulfovibrio* et *Helicobacter*. Enfin, les *Actinobacteria* (5%) regroupent les bifidobactéries (Lagier et al., 2012; Sartor, 2008).

En outre, il existe des micro-organismes de passage dans notre tractus digestif. Ce sont le plus souvent des levures ou des bactéries lactiques mais aussi certains pathogènes (Marteau, 2013). Les organismes eucaryotes tels que les levures et les champignons peuplent donc aussi notre tractus digestif. Les plus communes sont les levures issues des espèces *Candida* et *Saccharomyces*. Néanmoins, la diversité de ces organismes est encore très sous-estimée (Lagier et al., 2012). Les archées sont présentes chez 4% des individus au sein de nos fèces la présence de *Méthanobrevibacter smithii* et *Méthanobrevibacter stadtmannae* (Dridi et al., 2011).

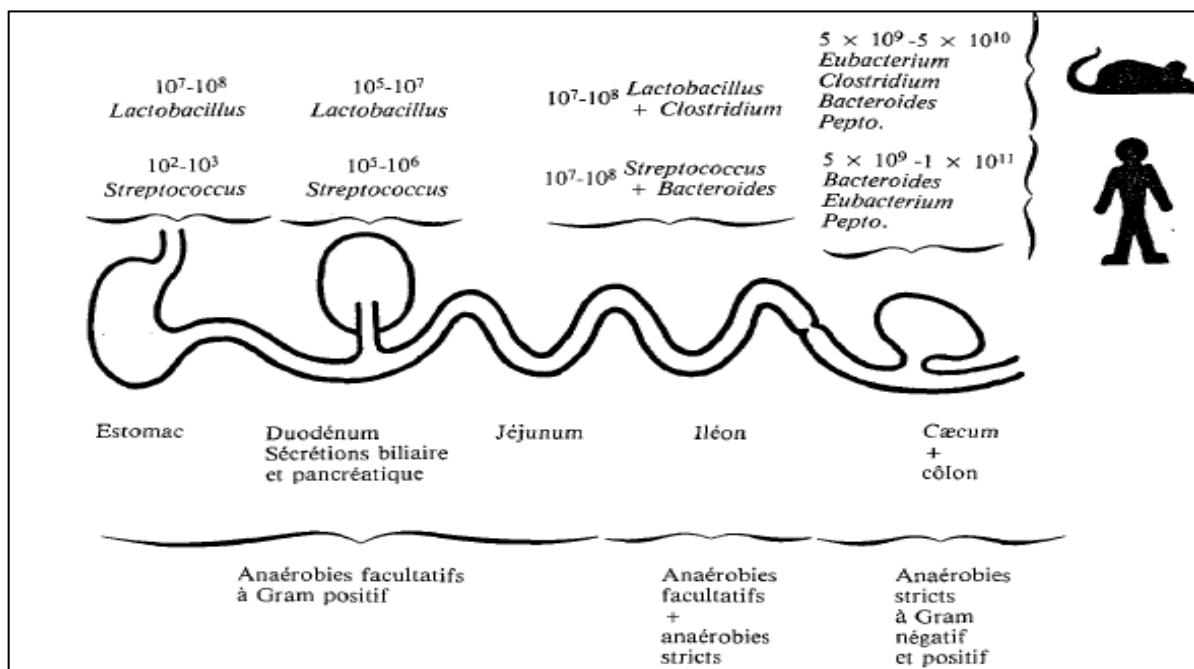


Figure1 : Répartition schématique de la flore microbienne dans divers compartiments du tube digestif chez l'homme et le rat (les chiffres représentent le logarithme du nombre de bactéries par gramme de contenu frais) (Ducluzeau et Raibaud ,1989).

I.2.3. Implantation du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal s'acquiert à la naissance, le nouveau-né est ensuite continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées de l'adulte. C'est entre 2 et 4 ans que la composition du microbiote de l'enfant se stabilise. L'individu a alors constitué un microbiote qui lui est propre et le définit (Arrieta et al., 2014; Chan et al., 2013; Salazar et al., 2014).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur l'implantation du microbiote intestinal. Il s'agit de :

- Facteurs génétiques : La composition du microbiote intestinal proche chez les jumeaux monozygotes (Dore et Corthier , 2010).
- Facteurs environnementaux : Influence du mode d'accouchement, de la date du terme de la grossesse, des conditions d'hygiène (Di Mauro et al., 2013).
- Mode d'alimentation : allaitement, alimentation mixte, ...ect.
- Antibiothérapie.

I.3.Méthodes d'étude du microbiote intestinal

Pendant longtemps, l'étude du microbiote a été limitée par le fait qu'environ 70 % des bactéries qui le composent n'étaient pas cultivables par les techniques habituelles (Barbut et Joly, 2010). L'utilisation récente d'approches moléculaires indépendantes de la culture a bouleversé notre vision de l'écosystème digestif humain. Pour caractériser les populations bactériennes, de nouvelles techniques moléculaires fondées sur l'ARNr 16S ont été développées. Elles ont conduit à mieux identifier, quantifier et comprendre la complexité microbienne de l'intestin humain. Historiquement, le clonage et séquençage de l'ADNr 16S à partir de l'ADN fécal ont été les premières techniques ayant permis d'inventorier les espèces dominantes de la flore fécale de l'adulte (Barbut et Joly, 2010). Grâce à ces techniques, il a été montré que la flore fécale était composée de trois lignées phylogénétiques majeures : le groupe *Bacteroides- Porphyromonas-Prevotella*, le groupe *Clostridium coccoides*, et le groupe *Clostridium leptum*.

I.4. Fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal joue un rôle multiple et complexe et exerce ainsi de nombreuses fonctions comprenant des effets immunogènes et nutritifs bénéfiques qui ont des répercussions importantes sur l'hôte.

I.4.1. Fonctions métaboliques

Au niveau métabolique, le microbiote possède deux rôles essentiels, d'une part, la dégradation et la fermentation des substrats alimentaires et d'autre part, la régulation de l'extraction et du stockage de l'énergie.

I.4.2. Digestion, absorption et métabolisme

L'une des fonctions physiologiques majoritaire de l'intestin est l'absorption des nutriments. La digestion est engagée dans l'estomac et aboutie dans le jéjunum. L'absorption des nutriments a lieu en majorité dans le jéjunum, l'iléon (vitamine B12, sels biliaires) et le côlon (eau, électrolytes). Les micro-organismes de notre tractus intestinal fournissent de nombreuses enzymes qui participent à ce processus. Ainsi, ces enzymes contribuent à trois métabolismes nécessaires à la digestion: le métabolisme des glucides, le métabolisme des lipides et le métabolisme des protéine (Beaugerie et al., 2014; Landam et al., 2016).

I.4.3. Effet barrière

Le microbiote intestinal exerce des fonctions protectrices vis-à-vis des pathogènes extérieurs mais également des micro-organismes délétères minoritaires qui le composent (*Clostridium difficile*) via un effet de barrière. En outre, les micro-organismes commensaux vont prévenir des phénomènes de colonisation pathogène par des processus de compétition : métabolismes des nutriments, modification de pH, sécrétion de peptides antimicrobiens, effets sur les voies de signalisation cellulaire (limitation des facteurs de virulence) (Ouwkerk et al., 2013; Walsh et al., 2014).

D'autre part, le microbiote intestinal est également impliqué dans le maintien de la barrière intestinale. Par exemple, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* protègent les cellules épithéliales des effets pro-apoptotiques de certains germes. D'autres microorganismes maintiennent l'intégrité de l'épithélium en régulant positivement des gènes impliqués dans la translocation des jonctions serrées ou le maintien des desmosomes. L'effet de consolidation de la barrière par les bactéries est également un mécanisme de défense dirigé contre les pathogènes invasifs. En effet, des lactobacilles inhibent l'adhésion épithéliale d'*Escherichia coli* entéropathogène en stimulant la synthèse de mucine, renforçant la barrière protectrice de mucus (Ouwkerk et al., 2013; Walsh et al., 2014).

I.4.4. Fonction immunitaire

Le microbiote possède trois rôles primordiaux sur le système immunitaire intestinal et périphérique : un rôle d'activation, de modulation et de régulation des réponses immunitaires qui permettant à court et long termes une bonne adaptation de celles-ci par rapport à leur environnement (Cao et al., 2014).

II. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

II.1. Généralités

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) représentent un groupe de pathologies caractérisées par une inflammation chronique d'une partie de la paroi du tube digestif (Levy, 2008). De nombreuses données semblent les définir comme étant la résultante d'une réaction immunitaire exacerbée contre la flore intestinale chez des sujets prédisposés génétiquement (Baumgart et Carding, 2007; Kaser et al., 2010).

Les MICI les plus fréquentes sont la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Une troisième entité peut être ajoutée, la «colite indéterminée», présentant les caractéristiques d'une colite idiopathique pour laquelle l'ensemble des examens réalisés ne permettent pas de trancher entre maladie de Crohn et recto-colite (Braus et Elliott, 2009).

Bien que l'étiologie des MICI ne soit pas encore complètement élucidée, il existe maintenant un consensus général sur le fait que les facteurs étiologiques des MICI comprennent une prédisposition génétique (mutations au niveau du gène codant pour NOD2 ou CARD-15, récepteur cytoplasmique exprimé par les cellules immunitaires impliqué dans la reconnaissance et la liaison du peptidoglycane des parois bactériennes) (Montbarbon, 2013), des anomalies immunologiques (troubles des réponses immunitaires innées et adaptatives) et des influences environnementales qui aboutissent finalement à l'inflammation du côlon (Figure 2).

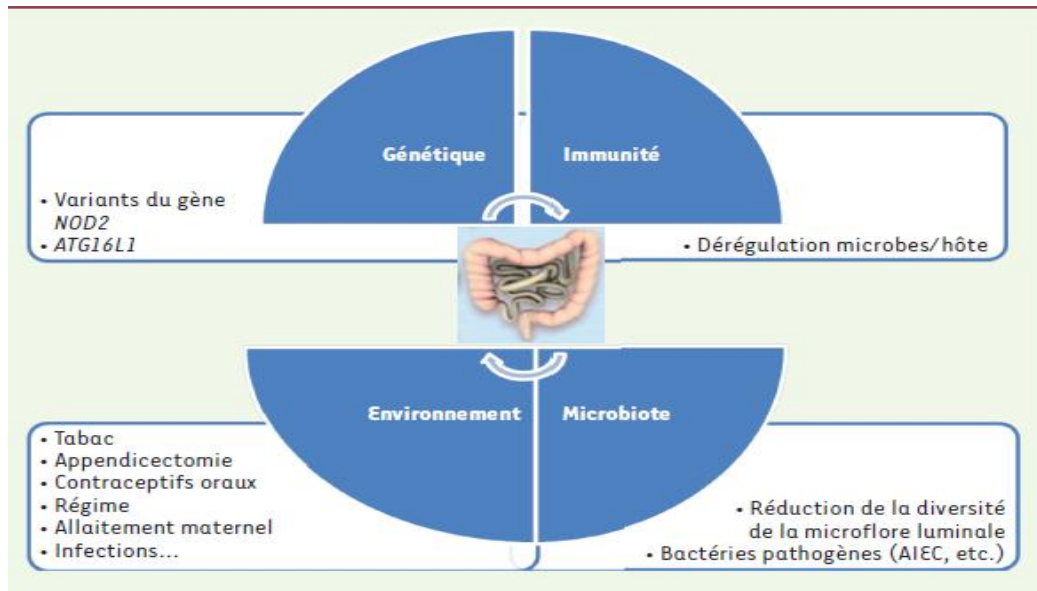


Figure 2: Les facteurs induisant les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (Rahmouni *et al.*, 2016).

II.2. Maladie de Crohn (MC)

La MC est caractérisée par une inflammation transmurale, discontinue pouvant affecter l'ensemble des segments du tube digestif (de la bouche à l'anus) (Marteau et Jian, 2001; Xavier et Podolsky, 2007) (Figure 3). On distingue trois formes principales : l'iléon terminal et le côlon dans 40% des cas, l'iléon uniquement dans 30% des cas et enfin le côlon et la région ano-perinéale dans 30% des cas (De Saussure et Bouhnik, 2007). Les manifestations cliniques de MC peuvent inclure la diarrhée ou la diarrhée sanglante, la malnutrition, douleurs abdominales et perte de poids, l'arthropathie où les troubles de la peau, se produisent rarement (Freeman, 2014 ; Rufo et Bousvaros, 2006).

II.3. Recto-colite-hémorragique (RCH)

Il s'agit d'une inflammation muqueuse continue qui affecte le côlon et le rectum (Faharat *et al.*, 1999; Xavier et Podolsky, 2007) (Figure 3). La RCH est caractérisée par une inflammation superficielle de la muqueuse, des saignements rectaux, des diarrhées, une douleur abdominale, fièvre, anorexie, perte de poids, fatigue et sudations nocturnes. Contrairement à la maladie de Crohn, la RCH touche généralement le côlon et l'inflammation est limitée à la muqueuse (Conrad *et al.*, 2014).

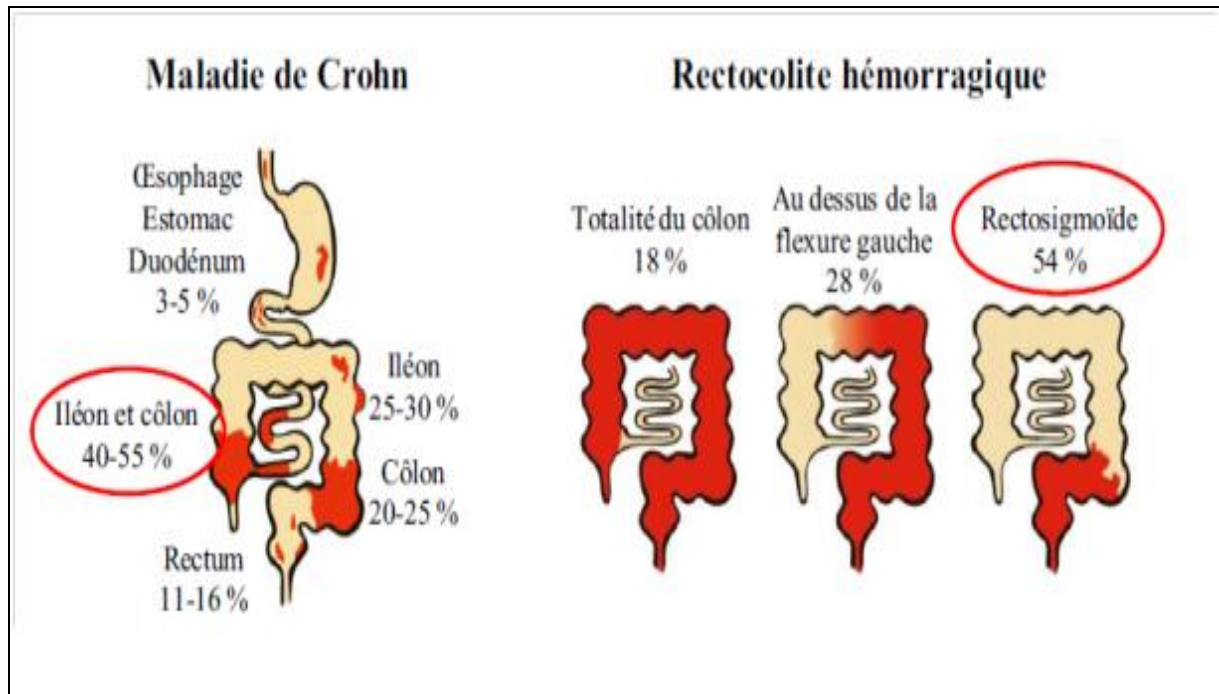


Figure 3 : Principales différences entre la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite Hémorragique (RCH) (d'après inflammatory bowel disease, practice manual, 2004).

II.4. La barrière épithéliale

La première ligne de défense du système immunitaire de l'intestin est la muqueuse épithéliale, un défaut de production de mucus a été signalé chez les personnes atteintes de la maladie de Crohn et de la RCH. L'épithélium forme une barrière avec des jonctions serrées entre les entérocytes qui peuvent exclure l'entrée de la plupart des substances. La couche externe du mucus est composée de mucine, et de certaines bactéries. Une variante du gène *muc2* confère une susceptibilité chez les humains aux MICI (Baumgart *et al.*, 2007).

L'augmentation de la perméabilité de la barrière serait donc la résultante de nombreux Phénomènes: Apoptose des cellules épithéliales intestinales, altération des jonctions serrées, ulcérations. La barrière épithéliale intestinale, lésée devient alors une véritable « porte d'entrée » à de nombreux micro-organismes, ions, et autres molécules participant ainsi à la génération et à l'entretien de l'état inflammatoire et des diarrhées caractéristiques des MICI (Wallace *et al.*, 2014).

II.5. La dysbiose

L'étude de la microflore intestinale des patients atteint de MC par la technique de culture ou par analyse moléculaire a permis de mettre en évidence une dysbiose généralisée

ou localisé, correspondant aux anomalies du microbiote intestinal au cours des MICI. Ces anomalies sont : une forte instabilité du microbiote au cours du temps, la présence d'environ 30 % de bactéries inhabituelles, une restriction de la biodiversité généralement aux dépens du phylum des Firmicutes, et une augmentation de la concentration bactérienne muqueuse (figure 4) (Seksik, 2010).

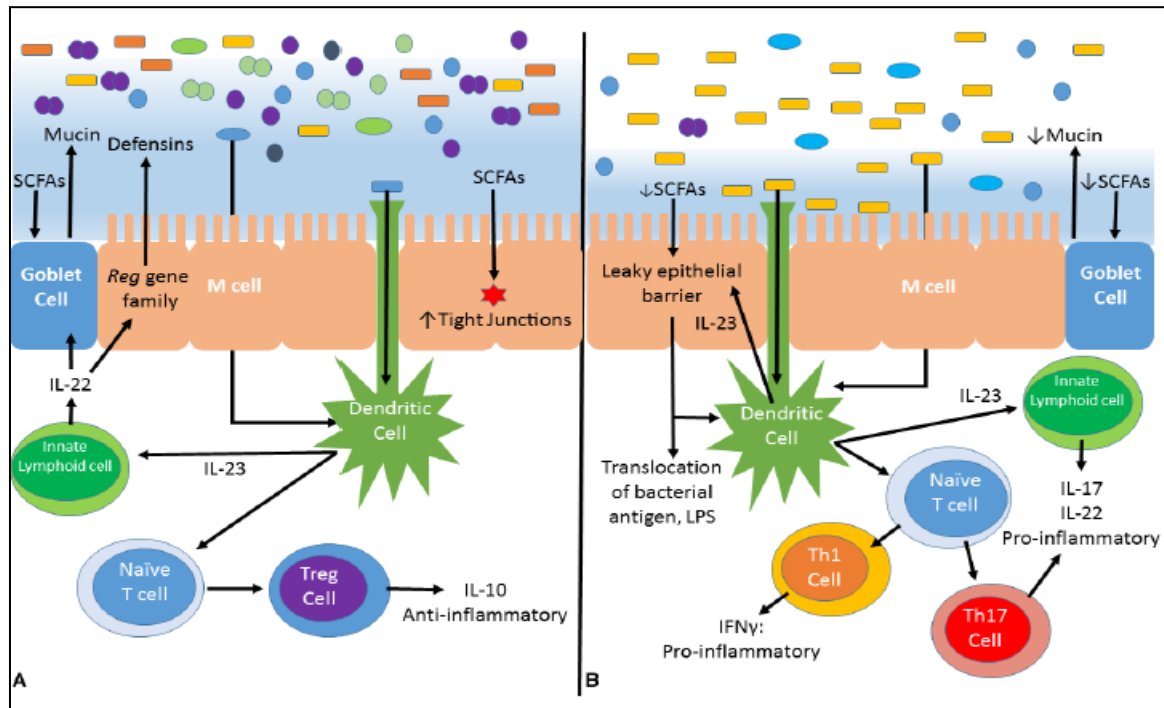


Figure 4: Equilibre entre les états anti et pro-inflammatoire dans la muqueuse intestinale (Barko et al., 2018)

La composition de la flore fécale diffère entre patients atteints de MICI et sujets sains et la concentration des entérobactéries, en particulier *Escherichia coli*, est bien plus importante chez les personnes atteintes de MICI, pouvant même représenter la flore intestinale dominante (Swidsinski et al., 2009; Willing et al., 2009). Une diminution des Firmicutes caractérise également les MICI, avec notamment une diminution significative du groupe *Clostridium cocoides* chez les patients atteints de RCH et de *Clostridium leptum* chez les patients atteints de MC (Sokol et al., 2008).

Ces changements de composition de la flore fécale semblent être différents entre les patients atteints de MC, de RCH et/ou d'infection colique, indiquant que ces modifications de

la flore ne sont pas uniquement dues à des changements de conditions du tractus gastro-intestinale, tel qu'un environnement inflammatoire (Joossens et al., 2011).

La flore associée à la muqueuse est généralement différente de la flore fécale (Lepage et al., 2011). Plusieurs études ont montré que la population bactérienne totale est plus importante en quantité chez les patients atteints d'une MICI comparativement à des sujets sains, que ce soit au niveau de la muqueuse ou à la surface de l'épithélium intestinal (Kleessen et al., 2002 ; Swidsinski et al., 2005). Une diminution des genres bactériens bénéfiques tels que *Bifidobacterium* et *Lactobacillus*, et une augmentation des bactéries à potentiel pathogène, telles que *Bacteroides* ou *E.coli* adhérentes et invasives (AIEC) associées à la muqueuse intestinale, et des *Mycobacterium avium paratuberculosis* ou des bactéries productrices de sulfures, ont été observées chez les patients atteints de MC (Coutinho et al., 2017 ; Mazzarella et al., 2017 ; Seksik et al., 2003 ; Sokol et al., 2007).

En parallèle, des analyses de flore iléale de patients atteints de MC ont montré une diminution significative de la quantité des espèces bactériennes produisant du butyrate de *Faecalibacterium parausnitzii* et *Roseburia hominis* bactérie à potentiel immunomodulateur et anti-inflammatoire (Machiels et al., 2014 ; Sokol et al., 2008).

L'ensemble de ces résultats conforte l'hypothèse d'une perturbation de la balance entre les bactéries potentiellement bénéfiques et les bactéries potentiellement pathogènes qui pourraient contribuer à l'initiation et/ou à la chronicité des MICI.

II.6. Traitements des MICI

Il existe plusieurs moyens thérapeutiques qui varient en fonction de la nature, la localisation, la sévérité et l'évolution de la MICI, il s'agit de :

- **Immunorégulateurs: Anticorps monoclonaux anti-TNF α**

L'inflammation intestinale dans la MC est associée à une production locale accrue de TNF α . Les anticorps monoclonaux anti TNF α (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).

- **Les antibiotiques**

Beaucoup d'antibiotiques ont un impact sur le microbiote intestinal avec un certain degré de résilience de ce dernier mais aussi souvent des changements imprévisibles durables de composition. Les autres arguments poussant à limiter l'antibiothérapie sont les risques d'effets secondaires (Marteau et al., 2017).

- **Les prébiotiques et les fibres**

Les prébiotiques ont été définis par Gibson et Roberfroid comme «des composants alimentaires non digestibles influençant génériquement l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une ou de quelques bactéries dans le colon et améliorant ainsi la santé de l'hôte» (Chermesh et Shamir, 2009).

- **Probiotiques**

Les probiotiques sont des formulations d'organismes vivants conférant des effets bénéfiques sur le destinataire lors de la livraison en quantités suffisantes (Barko et al., 2018 ; Marteau et al., 2017).

- **Transplantation fécale**

La transplantation fécale du microbiome(FMT) entraîne le transfert des fèces d'un donneur sain dans le tractus intestinal d' un receveur malade. Le premier enregistrement moderne de FMT, pour le traitement de l'homme avec la colite pseudomembraneuse, a été signalé en 1958 et tous les 4 patients traités ont survécu (Barko et al., 2018).

Partie II: Graine de Lin et huile fixe

I. Généralités

Lin ou flax ou linseed, est une des plus anciennes plantes cultivées (figure 5) pour son huile et sa fibre. Le nom botanique, *Linum usitatissimum* a été donné par Linnaeus en 1857 dans son livre "Species Plantarum (Cité par Jhalla et Hall, 2010).



Figure 5: Fleur bleue de *Linum usitatissimum* (Heli et al., 2007)

L'usage du lin par l'homme est attesté depuis plus de 30 000 ans. La plante est originaire d'Asie de l'Ouest et de la Méditerranée (Millam et al., 2005), cultivée comme source de fibre depuis au moins 5000 ans avant JC, elle est devenue principalement cultivée pour son huile (Berugland, 2002 ; Oomah, 2001). Son nom latin « *Linum usitatissimum* » (lin de tous les usages) est amplement mérité (Weill et Mairesse, 2010). En anglais appelé Flaxseed, en arabe zariaa el ketan, est une plante herbacée annuelle qui appartient à la famille des linacées comportant environ 300 espèces (Beroual et al., 2013).

II. Description botanique

C'est une plante dicotylédone autogame qui appartient à la famille des linacées (*Linaceae*) et au genre *Linum* (Bloedon et Szapary, 2004).

- **Règne :** Plantae (plantes)
- **Sous règne :** Tracheobionta (plantes vasculaires)
- **Division :** Magnoliophyta (plantes à fleurs)
- **Classe :** Magnoliopsida (dicotylédones)
- **Sous-classe :** Asteridae
- **Ordre :** Linales

- **Famille :** Linaceae
- **Genre :** *Linum*
- **Espèce :** *Linum usitatissimum L.*

Le lin est une plante annuelle, bisannuelle ou vivace, d'une extrême finesse, assez peu profondément enracinée (racine pivotante) car le lin est arraché, il n'est pas fauché (Bernard, 2001 ; Roberto, 1982). Cette plante pousse à une hauteur maximale de 60 cm, aux formes élancées et des tiges très fibreuses, feuilles lancéolées ayant trois veines, jusqu'à 4 cm de long et 4 mm de large et ses fleurs bleu vif ont jusqu'à 3 cm de diamètre (Pradhan et al., 2010). Les capsules de fruits sphériques contiennent deux graines dans chacun des cinq compartiments. La graine est plate et ovale avec une extrémité pointue (figure 6). Elle possède une surface lisse et brillante. Sa couleur varie du brun foncé au jaune (figure 6) (Freeman, 1995). La texture de la graine de lin est croquante et moelleuse possédant un goût agréable de noisette (Carter, 1996).



Figure 6 : Fruit et graine de lin (Heli et al., 2007).

La plante est originaire d'Égypte (Iserin, 2001). Elle est cultivée en qualité de plante textile ou oléagineuse. Le Canada est le plus grand producteur de lin, environ 38% de la production mondiale, suivie par la Chine, les États Unis, l'Inde et l'Union Européenne (Jhalla et Hall, 2010).

III. Composition de la graine

La composition du lin varie selon la variété et les facteurs environnementaux (Daun et al., 2003). Les graines de lin sont composées majoritairement d'huile (30 à 45 %), de protéines (10 à 30 %) et de fibres alimentaires (25-32 %), mais également de composés secondaires (Coskuner et Karababa ,2007 ; Daun et al., 2003). Les graines de lin présentent également des teneurs élevées en lignane et notamment en SDG (secoisolaricirésinol diglucoside), 75 à 800 fois plus que dans les autres graines oléagineuses (Nesbitt et al., 1999).

Les téguments sont composés majoritairement de polyphénols et de composés glucidiques (mucilage) alors que l'embryon est composé majoritairement d'huile et de protéines (Tableau I).

Tableau I : Composition chimique (%) des grains de lin (Coskuner et Karababa , 2007).

Humidité	Protéine	Lipide	Fibre	Cendre
4–8	20–25	30–40	20–25	3–4

IV. Utilisation thérapeutique

C'est une plante millénaire aux vertus médicinales. La composition des graines de lin est prometteuse pour ses propriétés de guérison, prodiguant un effet laxatif et anti-inflammatoire (Halligudi, 2012) réduisant l'irritation du colon dans des affections comme les colites, l'inflammation intestinale et les hémorroïdes (Iserin, 2001). Il a été rapporté que la plante exerce un effet antioxydant et anticancéreux (prévention du cancer du sein, utérin et de la prostate), un effet anti-thrombotique et anti-allergénique (Chen, 2002 ; Halligudi, 2012 ; Thompson, 2003). Les graines de lin favorisent la santé cardiovasculaire et stimule l'immunité et a pour but de réduire les taux de glycémie postprandiale et du cholestérol, elles ont aussi un pouvoir anti-obésité et anti-diabétique et en usage externe, elles sont utilisées autre fois comme gel pour adoucir les cheveux (Halligudi, 2012). En outre, des effets antimicrobiens ont également été attribués à l'huile de lin (Kaithwas et al., 2011). Enfin, il est nécessaire de ne pas utiliser les graines de lin immatures car elles peuvent être toxiques (Iserin, 2001).

V. Huile fixe de graine de lin

L'huile de lin ou huile de graines de lin est une huile de couleur jaune d'or, tirée des graines mûres du lin cultivé, pressées à froid et/ou à chaud, parfois elle est extraite par un solvant, en vue de l'usage industriel ou artistique, principalement comme siccatif, ou huile auto siccatrice en tant que mastic pour le calfatage et l'étanchéité. L'huile de lin est utilisée pour peindre et vernir, pour saturer la matière des ardoises, pour mettre au point le savon noir et pour protéger les pièces de monnaie de même que l'acier rouillé. Elle est imprègne et protège le bois à l'intérieur comme à l'extérieur : protection contre l'humidité, les champignons et les insectes et contre la poussière par son caractère antistatique. L'huile de lin a une texture qui va d'épaisse à liquide, sa teinte est claire (Bloedon et Szapary, 2004).

Elle est conseillée chez les personnes souffrant de sclérose en plaque ou de diabète. Elle a aussi un effet sur les systèmes hormonal et immunitaire. L'utilisation quotidienne d'huile de lin protège la membrane gastrique et urinaire. L'huile de lin convient aussi pour le visage, le corps (massages et soins corporels). En usage externe l'huile obtenue à partir des graines est reconnue pour ses propriétés adoucissantes et émoullientes. Elle protège et adoucit la peau irritée (Halligudi, 2012)

L'huile de lin est composée de 73% d'acides gras polyinsaturés, de 18% d'acides gras Mono insaturés et seulement 9% d'acides gras saturés (Tableau cité dans l'annexe I). Elle est également connue comme étant la source la plus riche en oméga-3 : l'acide alpha linoléique (ALA), qui représente 55% des acides gras totaux. La composition chimique de l'huile de lin peut varier selon les lieux de culture et les variétés (Lafond et *al.*, 2008).

Les particularités botaniques et organoleptiques sont susceptibles d'évoluer en fonction des conditions de production (pays, ensoleillement, production biologique etc....).

- **Couleur** : Jaune or
- **Odeur** : Assez prononcée (si l'odeur devient rance, c'est le signe que l'huile s'est oxydée et ne doit plus être consommée)
- **Texture** : Relativement fluide
- **Goût** : Amer (selon les sensibilités) et fort.

Matériels et Méthodes

Partie I: Matériels et Méthodes

Notre étude a été effectuée conjointement au niveau du laboratoire de biotechnologie végétale et ethnobotanique et du laboratoire de microbiologie I de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia durant la période allant de Mars à Mai 2018. L'objectif de ce travail est l'étude de l'huile fixe (HF) d'une plante médicinale du genre *Linum* (graines de lin). Ce travail comprend deux parties principales :

- **Partie 1** : Etude de l'activité anti-inflammatoire (étude *in vivo*).
- **Partie 2** : Etude de l'activité antibactérienne (étude *in vitro*).

I. Matériel utilisé

I.1. Matériel végétal

Les graines de lin qui ont fait l'objet de notre travail ont été achetées chez un herboriste de Bouira (2017). Ce matériel végétal a été choisi parmi tant d'autres en raison de sa grande utilisation par la population, de ses vertus thérapeutiques intéressantes et de sa richesse en huile.

L'huile de lin a été extraite à partir des graines par macération à l'aide d'un solvant (éthanol) au niveau du laboratoire de biotechnologie végétal et ethnobotanique de l'université de Bejaia selon le protocole de (Irshad et al., 2012), puis conservée à 4°C à l'abri de l'air et de la lumière. Elle n'est entièrement liquide qu'à la température de 32 et 34 C°.

I.2. Milieux et réactifs

Les milieux de culture et les réactifs utilisés sont reportés en annexe II

I.3. Matériel biologique

I.3.1. Souches cibles testées

Il s'agit de souches bactériennes (Gram positif et Gram négatif) de référence disponibles au sein du laboratoire de microbiologie (Tableau II).

Tableau II: Espèces bactériennes testées.

Espèces à Gram positif	Espèces à Gram négatif
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213™	<i>Escherichia coli</i> ATCC ® 25922™
<i>Staphylococcus aureus</i> LGA251 (<i>S. aureus</i> résistant à la méthicilline, SARM)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®27853™

I.3.2. Le modèle 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 7). L'élevage de ces souris se fait 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 des grains ONAB (Office National des Aliments de Bétail).

**Figure 7 :** Photographie de souris albinos de souche NMRI

II. Méthodes

II. 1. Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale

La présente étude a pour but objectif d'évaluer l'activité anti-inflammatoire intestinale de l'huile fixe chez des souris colitiques causées par l'acide acétique.

II.1.1. Induction de l'inflammation colique par l'acide acétique

La colite a été induite par l'acide acétique par voie rectale suivant le protocole modifié de Wang *et ses collaborateurs* (2008) illustré sur la figure 8.

Les 18 souris de (26-32g) privées de nourriture pendant 12h avec un accès libre à l'eau, ont été subdivisées en 3 lots de 6, un lot témoin a reçu de l'eau physiologique et 2 lots colitiques : lot malade (acide acétique); et lot traité par l'Huile Fixe (100 mg/kg). Les souris anesthésiées de lot traité ont été administrées une dose d'HF de 100 mg/kg par voie orale (Figure 8A), Après 2h de l'injection de ce dernier, une dose de 100 μ L de l'acide acétique à 5% a été administrée par voie rectale (Figure8B). Les animaux ont été ensuite maintenus tête vers le bas pendant 20s pour limiter l'expulsion de la solution d'acide acétique. Une dose de HF (100 mg/kg) a été administrée quotidiennement pendant 2 jours, en vue de tester l'effet anti inflammatoire de cette fraction.

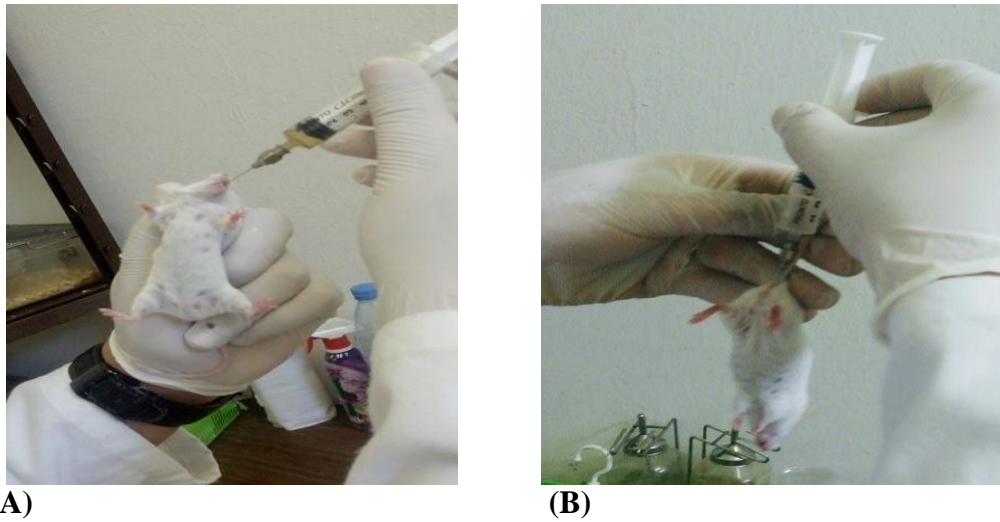
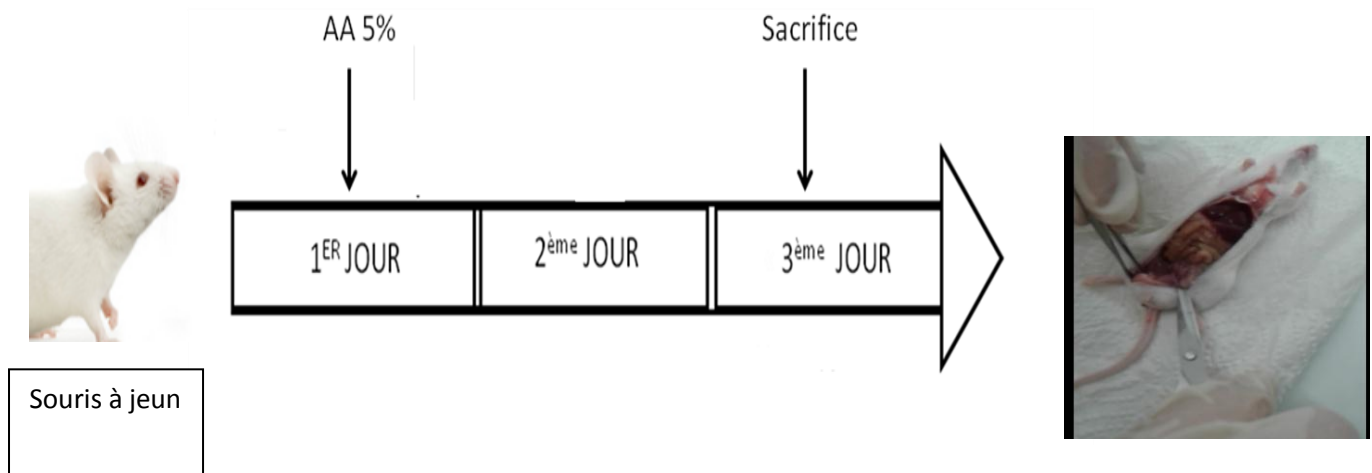


Figure 8 : Présentation des lots et la méthode du gavage (à gauche), Administration de l'acide acétique par voie rectale (à droite).

Le protocole expérimental d'induction d'acide acétique (AA) et du traitement par l'huile fixe appliqué sur les souris est résumé sur la figure 9.

➤ **Lot Malade**



➤ **Lot traité avec l'huile fixe (HF)**

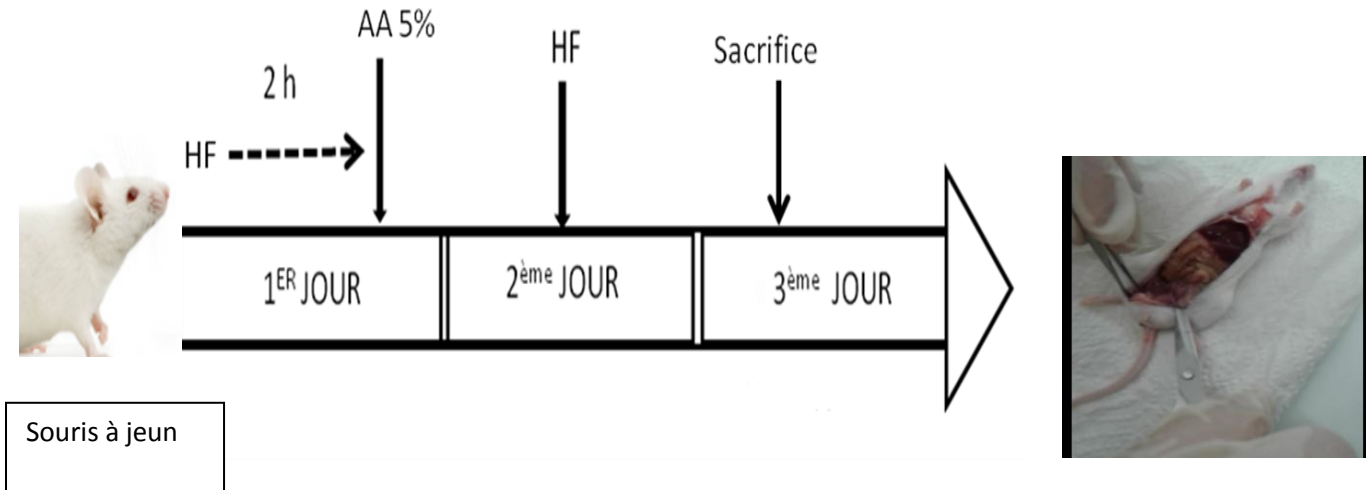


Figure 9: Protocole expérimental d'induction de la colite chez les souris induite par l'acide acétique (AA) (lot malade) et d'un traitement par l'HF pendant 2 jours.

II.1.2. Evaluation 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 anesthésiées. Les côlons ont été récupérés, rincés doucement avec de l'eau physiologique, pesés, mesurés et utilisés pour une observation macroscopique. La longueur du côlon a été mesurée en cm entre la jonction iléo-caecale et le rectum proximal et son poids mesuré en mg .

Le rapport P/L (poids/longueur du colon) a été calculé, son augmentation étant un indicateur d'une inflammation intestinale (Annexe III).

II.1.3. Etude statistique

Les données sont présentées par graph pad comme moyenne \pm SEM. Les analyses ont été réalisées grâce au test ANOVA, suivant le test de Dunnett, utilisé afin de comparer les valeurs des groupes traités aux valeurs du groupe contrôle, avec des significations statistique de * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ns (non significatif), utilisant un effectif de $n=6$.

II.1.4. Analyses bactériologiques de la flore fécale (Bernard et Reynaud, 2003)

Un dénombrement des *E. coli* a été réalisé à partir des prélèvements de selles des souris de chaque lots (témoin, malade et le lot traité par l'huile fixe) (figure 10). L'augmentation du nombre d'*E. coli* étant considéré comme indicateur de l'inflammation intestinale.

- **Prélèvement**

La matière fécale de chaque souris a été prélevée dans des conditions stériles dans 9ml d'eau physiologique (solution mère) puis dilués (dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-6}).

- **Ensemencement**

Les suspensions bactériennes ont été ensemencées sur gélose sélective EMB en surface à l'aide d'un râteau étaleur. Trois boites ont été ensemencées pour chaque dilution.

- **Incubation**

Les boites ont été incubées à 44°C pendant 24 H afin de sélectionner uniquement *E. coli*.

- **Dénombrement**

Pour chaque dilution, les colonies caractéristiques d'*E. coli* (colonies violettes semi-bombées de 2 à 3mm de diamètre avec éclat métallique vert et un centre sombre sur la gélose EMB), ont été dénombrées. Le calcul d'UFC/ml a été fait selon la formule suivante :

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

(Avec : V = volume de dilution ; N = nombres de colonies ; F = facteur de dilution)

- **Confirmation de l'identification**

A partir de chaque boite, trois colonies ont été repiquées sur milieu CHROMAGAR® et ensemencées en parallèle sur milieu eau peptonée exempt d'indole et incubées à 44°C.

Après incubation 1 à 2 gouttes du réactif Kovacs ont été ajoutées (Figure 11).

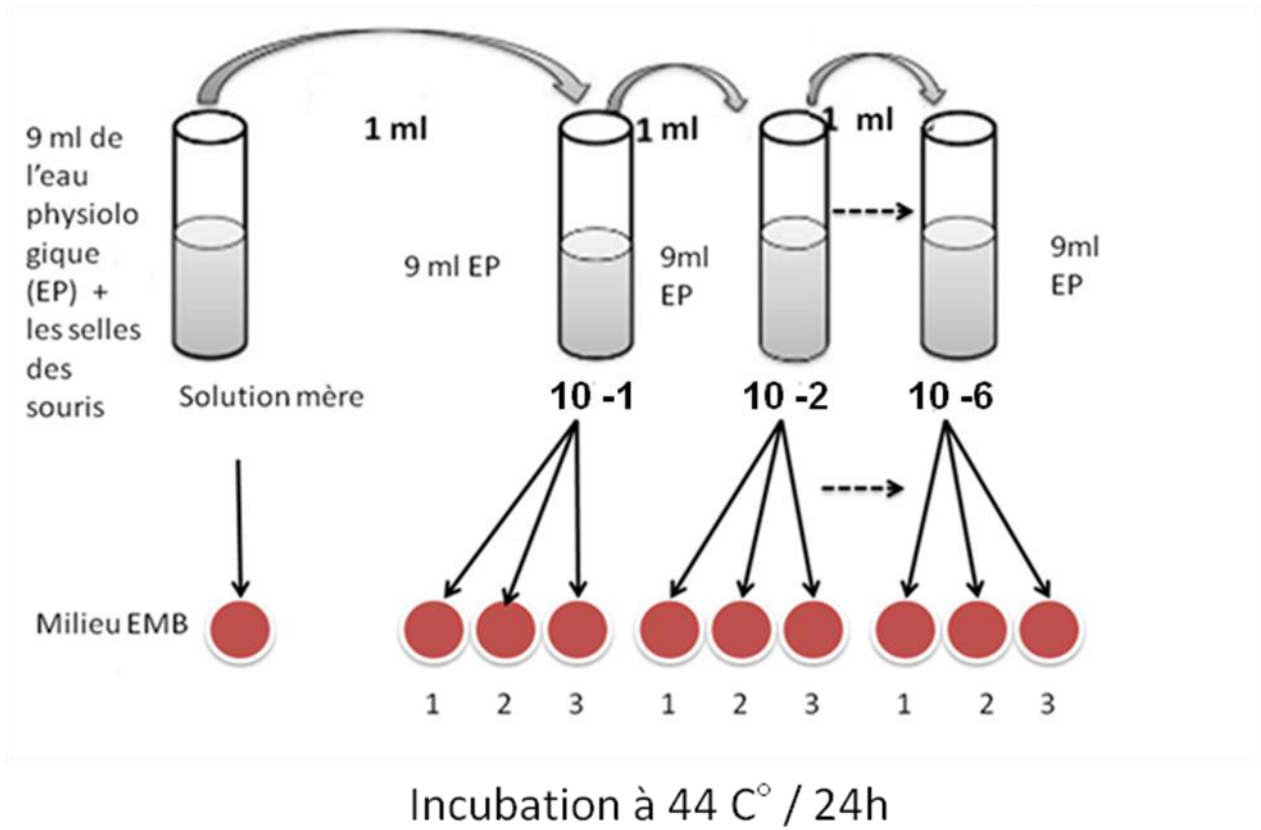


Figure 10 : Méthode de dénombrement d'*E. Coli* à partir de la matière fécale des souris après sacrifice.

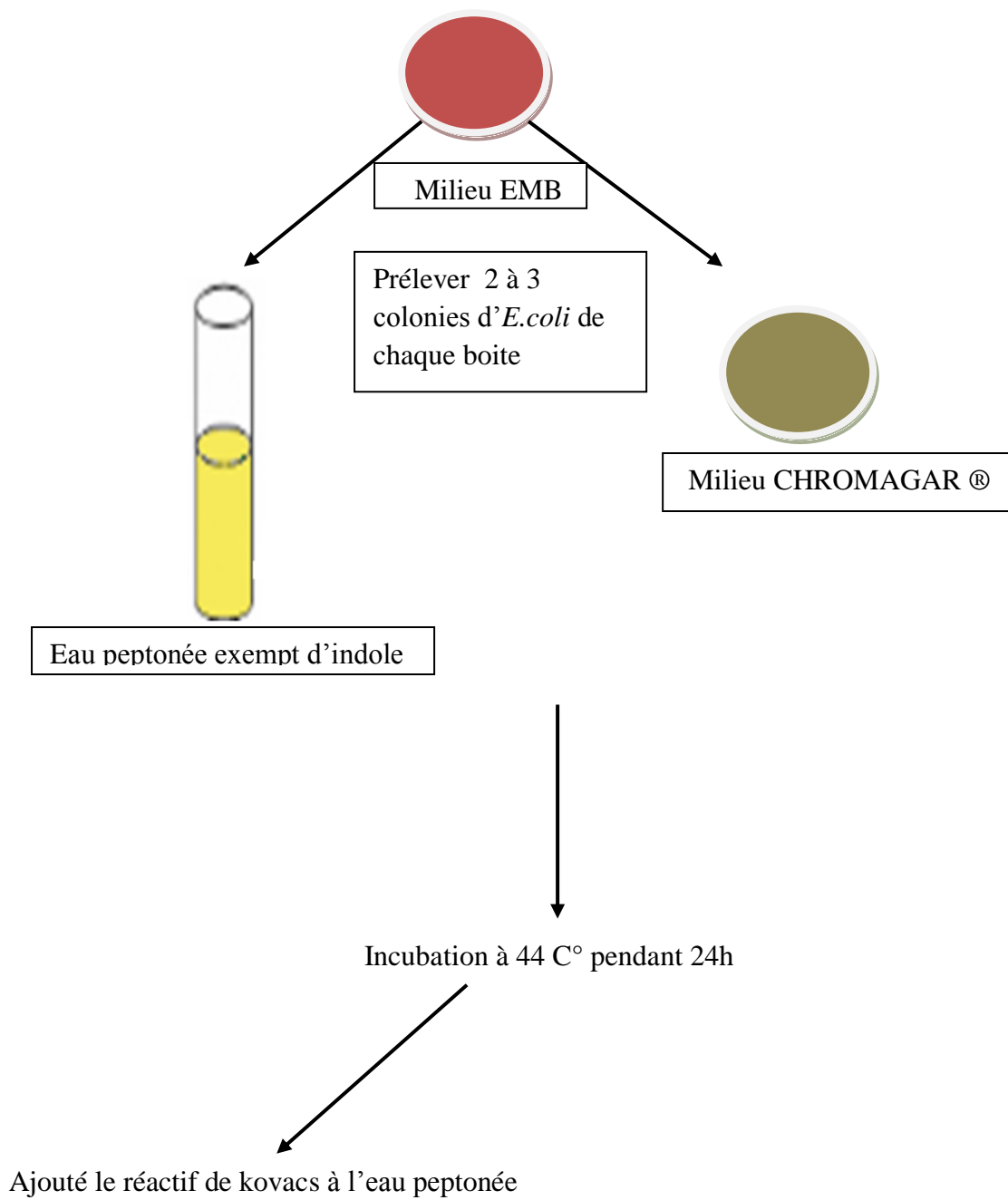


Figure 11 : Test de confirmation d'*E.coli* sur le milieu CHOMAGAR® et Eau peptonée exempt d'indole.

II.2. Etude de l'activité antibactérienne

II.2.1. Test d'activité antibactérienne de l'huile fixe sur milieu solide (méthode des disques) (Gachkar et al., 2006)

- **Préparation des dilutions des huiles fixes**

La solution mère a été préparée en pesant 40 mg d'huile diluée dans 1ml du mélange eau/DMSO (500ml/500ml). Par la suite, différentes dilutions ont été effectuées pour des concentrations finales de: 400µg/ml (C1); 200µg/ml (C2) ; 100 µg/ml (C3) ; 50µg/ml (C4).

- **Ensemencement des boites**

Des boites de Mueller Hinton de 4mm d'épaisseur ont étéensemencées par écouvillonnage à partir de suspensions bactériennes de 10^8 UFC/ml (Absorbance 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 imprégnés de 10 µl de chaque concentration d'huile. ont été déposés sur les boites de Mueller Hinton préalablementensemencées. Un disque contenant le mélange eau/DMSO (500ml/500ml) est utilisé comme témoin. Afin de permettre la diffusion des huiles, 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).

II.2.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu liquide

La concentration minimale inhibitrice est la plus faible concentration des extraits qui inhibe les bactéries testées (NCCLS, 2000).

- **Préparation de la microplaque:**

50 µl de bouillon de Mueller-Hinton (MHB) mélangé avec Tween 20 à (0.5%) a été distribué dans les 96 micro cupules que contient la microplaque (12×8).

- **Dilution:**

A partir d'une concentration de 200 mg/ml de l'extrait de l'huile fixe, 50 µl ont été prélevés puis mélangés aux 50 µl de MHB plus Tween 20 contenus déjà dans la première cupule. Par la suite, 50 µl 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'huile fixe (de 200 à 0,39 mg/ml). Une rangée de cupules ne contenant pas d'extrait de l'huile fixe est utilisée comme témoin pour vérifier l'inoculum bactérien (Figure 12).

- **Ensemencement:**

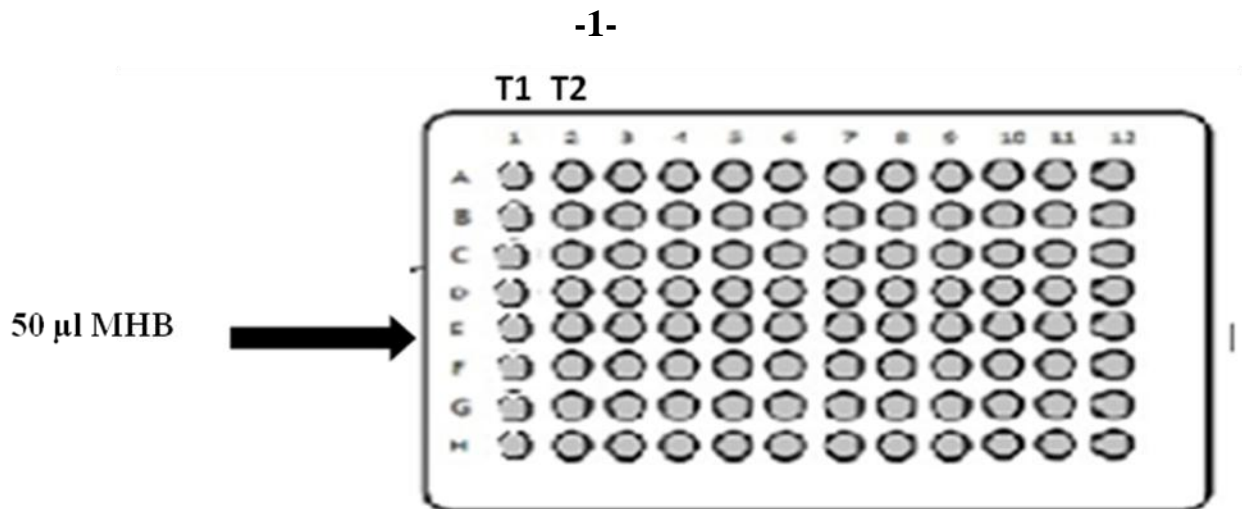
A partir d'une suspension bactérienne standardisée d'environ 10^7 UFC/ml, 50 μ l ont été déposés dans toutes les cupules. La microplaque est ensuite incubée à 37°C pendant 24H.

- **Lecture:**

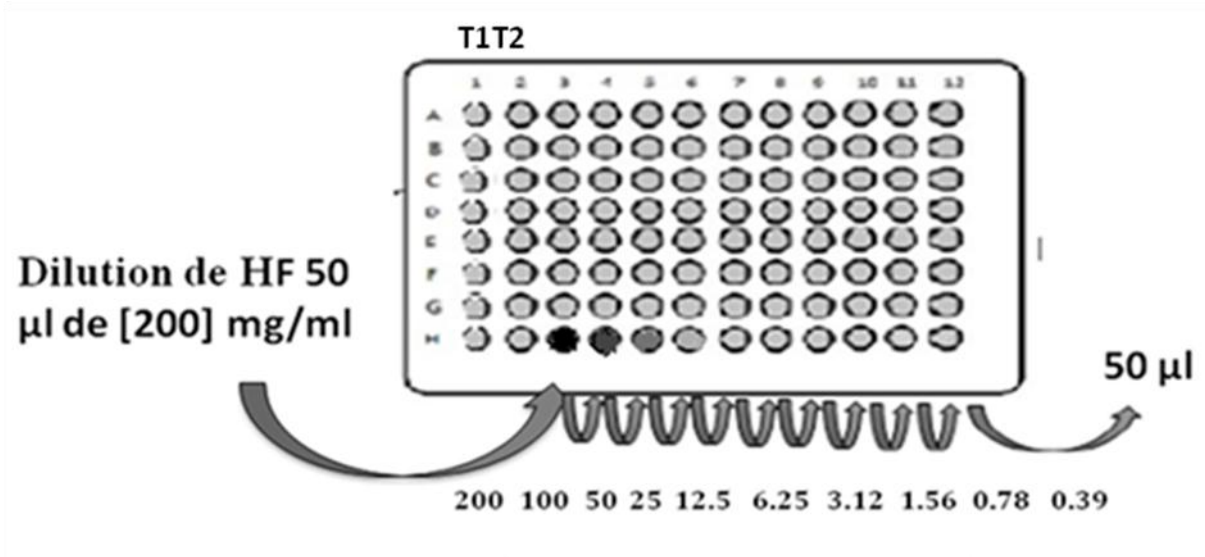
La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de l'huile à laquelle aucun trouble n'est observé.

T1 : témoin1 (MHB sans Bactérie).

T2 : témoin 2(MHB+Bactérie testé, sans l'extrait de l'huile).



-2-



-3-

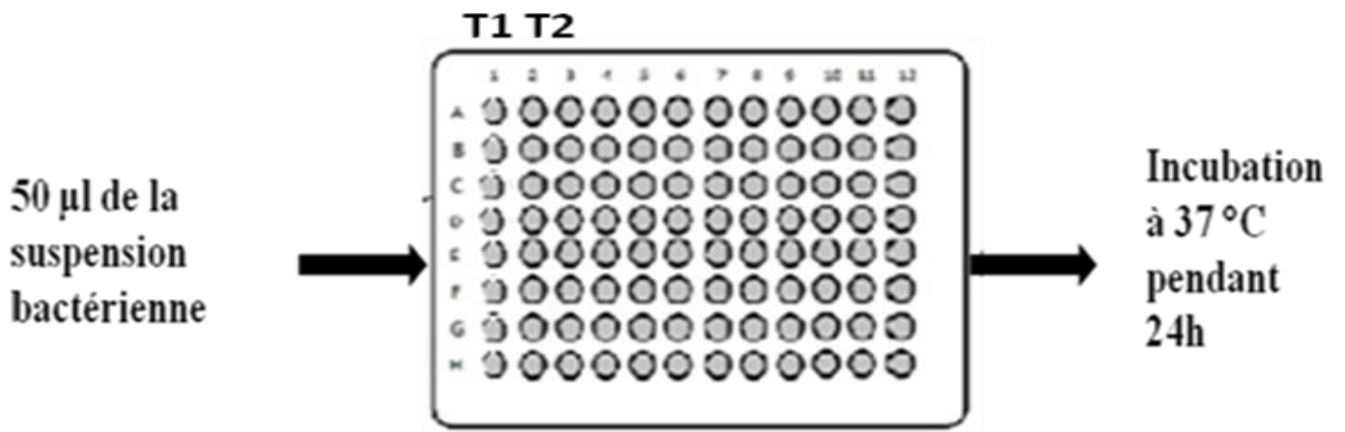


Figure 12 : Détermination des CMI par la méthode de micro dilution

Résultats

Partie II. Résultats

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 (figure 13), 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 HF (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 13).

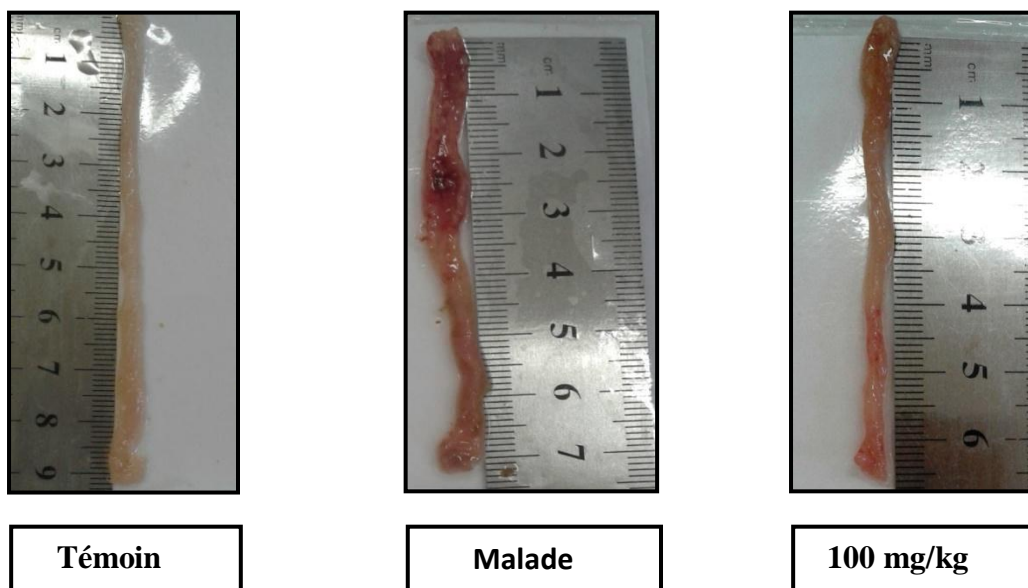


Figure 13 : Longueur des colons des différents lots.

Le rapport P/L du colon est considéré comme un indicateur direct de la gravité et de 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'HF a réduit d'une manière significative $p < 0,05$ les valeurs de ce

dernier à des niveaux plus ou moins similaires à ceux des souris dans le groupe normal (figure 14).

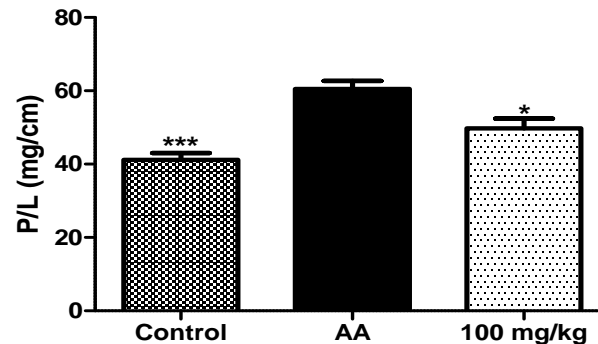


Figure14: Effets de la fraction de l'huile fixe (HF) (100mg/kg) sur l'évolution du rapport poids/longueur en mg/cm dans un modèle de souris colitique induite par l'acide acétique.

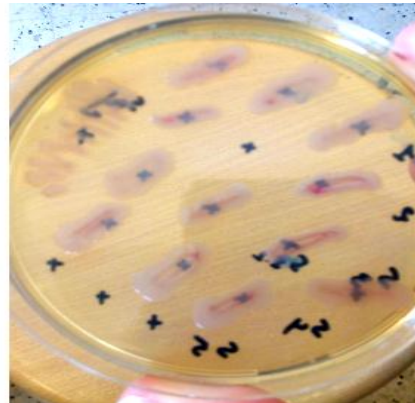
Les données sont exprimées en moyen \pm SEM (n = 6). Les groupes avec différentes lettres AA (groupe acide acétique); contrôle (témoin) ; groupe traitée (100mg/kg), statistiquement (*P <0,05. ** P<0.01;*** p<0.001). L'évolution de poids du sur la longueur de chaque lot.

I.1.2. Etude de la flore bactérienne fécale

Les résultats des tests de confirmation de l'identification des *E. coli* sont représentés dans la figure 15. Le dénombrement des *E. coli* à partir des selles des souris de chaque lot était en moyenne de $(5.10^2$ UFC/ml) pour le lot "témoin", de $(2,65.10^7$ UFC/ml) pour le lot "malade" et de $(8,02.10^2$ UFC/ml) pour le lot "traité". On constate alors, une légère diminution du nombre d'*E. coli* après traitement à HF à une concentration de 100mg/kg, ce qui signifie qu'il y a une diminution de l'inflammation par le traitement à HF (figure 16).



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



Aspect des colonies sur Chromagar (rose)

Figure 15: Résultats des tests de confirmation de l'ensification des *E. coli*

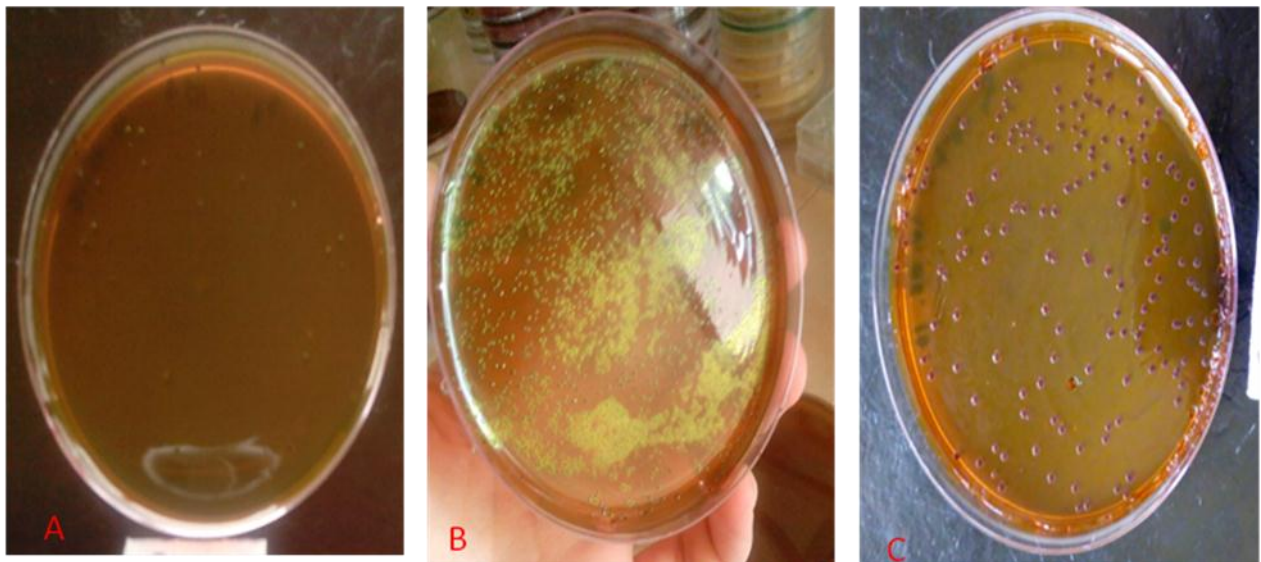


Figure 16 : Exemple des résultats du dénombrement à partir de la dilution 10^{-2} pour chaque lot A (témoin), B (malade), C (traitée) sur milieu EMB.

I.2. Résultats de l'activité antibactérienne

Les résultats du test des disques n'ont révélé aucune zone d'inhibition que ça soit pour les différentes concentrations de l'HF (400, 200, 100 et 50 $\mu\text{g/ml}$) que pour le témoin (DMSO + eau) (figure 17). 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 18). Ce qui veut dire qu'il y a eu aucun effet antibactérien pour les concentrations testées.

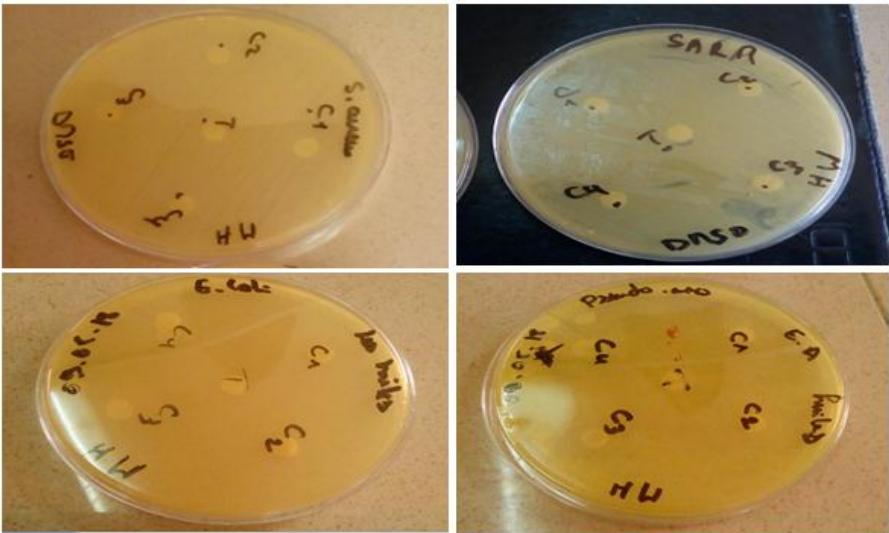


Figure 17: Résultats de l'activité antibactérienne par méthode des disques.

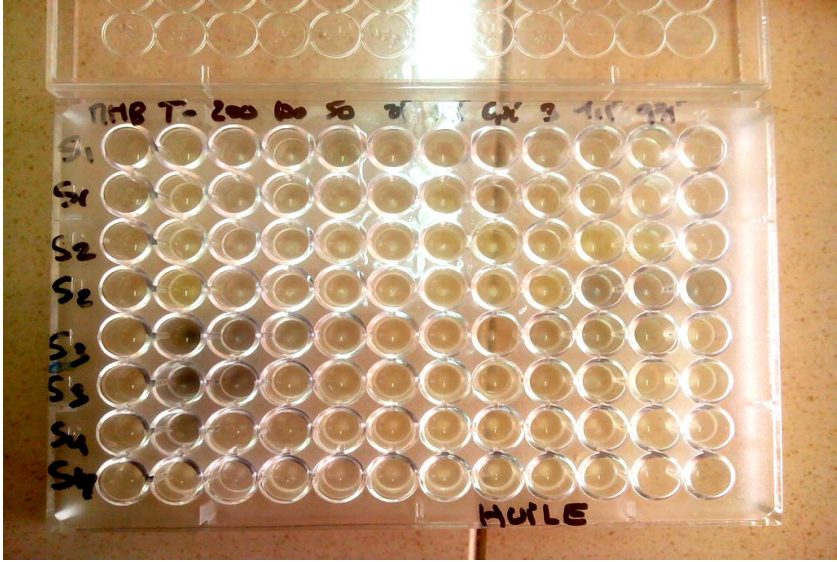


Figure 18: Résultats des CMI sur microplaque.

Les CMI pour toutes les souches cibles testées étaient >200 µg/ml.

Discussion générale

II. Discussion

La graine de lin est une graine millénaire aux vertus médicinales. Sa composition est prometteuse pour ses propriétés de guérison. Prodigant un effet anti-cholestérique, laxatif et anti-inflammatoire (Halligudi, 2012). L'huile de lin est également une huile qui présente un grand intérêt dans la consommation humaine par son profil en acides gras et notamment ses teneurs très élevées en acide α -linoléique et acide linoléique (Massaro et *al.*, 2010).

La première partie de notre travail a consisté en l'étude de l'effet anti-inflammatoire de l'huile de lin et ce par l'induction de la colite chez la souris par des substances chimiques qui est l'une des méthodes les plus utilisées pour produire un modèle expérimental de maladie intestinale inflammatoire. Ainsi, l'acide acétique induit des dommages graves aux muqueuses, après une seule administration. Ce dernier libère des protons dans l'espace intracellulaire, provoquant une acidification intracellulaire massive entraînant un dommage épithélial immense, ce qui entraîne une inflammation aiguë suite à des lésions de l'épithélium, accompagnées d'une hémorragie généralisée, et la libération des médiateurs pro-inflammatoires et des métalloprotéines participant à l'augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale intestinale au cours des MICI (Otari et *al.*, 2012).

L'augmentation de la perméabilité para-cellulaire résulte donc de l'altération des jonctions serrées via l'élimination des cellules épithéliales par apoptose. Les foyers apoptotiques sont associés à des stades précoces de l'inflammation, tandis que, l'érosion et les ulcérations résultent d'une inflammation chronique et avancée. La dégradation de la barrière de mucus, l'altération des jonctions serrées et l'augmentation de l'apoptose des cellules épithéliales exposent la barrière intestinale épithéliale aux antigènes de la flore commensale (Bueno, 2010).

Les souris traitées avec l'acide acétique présentaient une inflammation caractérisée par la rougeur; la douleur; la chaleur et le gonflement entraînant le changement morphologique du colon et l'augmentation du rapport P/L suite à la formation des nécroses et des fissures. Ceci est dû à la formation du foyer inflammatoire qui implique une succession d'événements qui sont: la vasodilatation permettant l'afflux massif de sang vers le foyer inflammatoire, l'adhésion des leucocytes à l'endothélium vasculaire, une augmentation de la perméabilité des capillaires permettant aux macromolécules de s'extravaser, la migration des leucocytes à travers l'endothélium vasculaire (diapédèse) vers le foyer inflammatoire et l'activation des leucocytes, ainsi que la production de médiateurs pro-inflammatoires permettant le recrutement cellulaire .

Dans notre étude, les résultats du traitement à l'huile fixe des graines de lin à une concentration de 100 mg/Kg ont montré un bon effet sur la colite expérimentale induite par l'acide acétique jugée par l'inversion significative de l'augmentation du rapport P/L. Cet effet anti-inflammatoire associé à l'huile de lin pourrait être expliqué par sa forte teneur en acides gras oméga 3. En effet, une étude menée par Quinn et ses collaborateurs (2008) a rapporté que les omégas 3 favorisent le maintien d'un statut immunitaire correct des animaux de part leurs propriétés anti-inflammatoires. De plus, les protéines de lin sont une excellente source d'arginine, de glutamine et d'histidine. Ces trois acides aminés sont connus pour leur effet stimulant du système immunitaire (Oomah, 2001).

D'autre part, l'analyse bactériologique de la flore fécale des différents lots de souris a révélé une forte augmentation du nombre d'*E. coli* lors de l'inflammation induite par l'acide acétique (lot malade) par rapport au témoin (lot non malade). En effet, des études montre bien que lors d'une inflammation digestive, il y a une dysbiose qui provoque un déséquilibre de la flore se traduisant par l'augmentation des bactéries à Gram négatif et la diminution des bactéries à Gram positif, ainsi, des résultats similaires ont été rapportés dans une étude récente et ce par l'analyse de la matière fécale par méthode moléculaire PCR de l'ARN16s suivi du séquençage où le nombre d'*E. coli* était significativement plus élevé chez des patients atteints des MC et de RCH par rapport au contrôle (Qin Ma et al., 2018). En parallèle, d'autres études ont rapporté que chez les patients atteints de MC, comparativement aux sujets sains, il y avait diminution de germe *Faecalibacterium prausnitzii* qui produit le butyrate ayant pour rôle l'induction de la production d'IL-10 et l'inhibition de la production de cytokines inflammatoires, telles que l'IL-12 et l'IFN- γ (Sokol et al., 2008; Mazzarella et al., 2017).

Dans notre étude, après traitement par l'HF 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 l'HF de *Linum usitatissimum* 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- α , *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.

L'activité antibactérienne réalisée dans ce travail par la méthode des disques ainsi que par la détermination des CMI, a révélé que l'huile de lin n'avait aucun d'effet vis-à-vis des souches bactériennes cibles, ce qui est probablement due à la faible concentration de l'huile testée. Cependant, une étude récente sur l'activité antibactérienne de HF de *L. usitatissimum* a montré des résultats positifs exprimés par une grande zone d'inhibition (15,83 et de 19,66 mm respectivement) à l'égard de *S. aureus* ATCC29737 et ITCC8531. Cette étude a également montré une bonne activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. coli* (ATCC 8739) (Chytilova et al., 2013). Une autre étude a aussi démontré que l'huile de lin était douée d'une activité antimicrobienne contre plusieurs microorganismes; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* (Kaithwas et al., 2011).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspective

Au terme de ce travail, qui a porté sur l'étude de l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire de l'huile végétale des graines de lin (*Linum usitatissimum L.*), nous pouvons tirer un certain nombre de conclusions :

- L'huile fixe étudiée n'a aucune activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes testées et ce pour des concentrations $\leq 400\mu\text{g/ml}$.
- Un effet thérapeutique significatif (diminution du rapport P/L) de l'huile fixe 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 de l'huile de *Linum usitatissimum* peut être considérée comme une stratégie thérapeutique potentielle dans le traitement des MICI par sa forte teneur en acides gras oméga 3 de part leurs propriétés anti-inflammatoires. De plus, les protéines de lin sont un excellent stimulateur du système immunitaire.

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

- Tout d'abord, du fait de leur caractère huileux, et par un souci de miscibilité dans les milieux, il serait intéressant d'améliorer les techniques d'étude du pouvoir antibactérien de cette huile du milieu gélosé vers le milieu liquide et vice-versa.
- Il serait souhaitable aussi de réaliser l'étude du pouvoir antibactérien d'huile fixe de ces graines, déterminer sa composition chimique, et identifier les principes actifs.
- L'augmentation de la dose d'huile de lin à tester aussi bien pour les études *in vivo* qu'*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.
- Traitement préventif des MICI par l'huile fixe de microbiote fécal.

Références bibliographiques

Liste de référence

A

- **Arrieta. M. C, Stiemsma. L. T, Amenyogbe. N, Brown. E. M and Finlay. B. (2014).** *The intestinal microbiome in early life: health and disease.* Front Immunol, 5: 427.
- **Arrieta. M. C and Wu. G. D. (2014).** *Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease.* Gastroenterology, 146(6) : 1564–1572.

B

- **Barbut. F et Joly.F. (2010).** *Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose.* mini-revue, HEPATO-GASTRO et Oncologie digestive,17(6).
- **Barko. P.C, McMichael. M.A, Swanson. K.S and Williams. D.A. (2018).** *The Gastrointestinal Microbiome: A review.* Journal veterinary internal medicine, 32: 9–25.
- **Baumgart. D. C. and S. R. (2007).** *Carding. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology.* Lancet 369:1627-1640.
- **Beaugerie. L. and Sokol. H. C. (2014).** *Les fondamentaux de la pathologie digestive.* Éditions, Elsevier-Masson.chapitre 12 :1-5.
- **Bernard. Jet Reynand. A. (2003).** *Enterobacteriens Systématique et méthode de diagnostique.* Monographies de microbiologie collectif dirigée par Jean-Paul Larpent, Chapitre 7 :265-272.

- **Bouguerra .A. (2011).** *Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire.* pp. 10.

- **Bejaoui. M, Sokol .M. H and Marteau. P. (2015).** *Targeting the Microbiome in Inflammatory Bowel Disease: Critical Evaluation of Current Concepts and Moving to New Horizons.* Dig Dis. 33 (Suppl 1):105-12.

- **Belluzzi . A.(2002).***Fatty Acids for the treatment of Inflammatory Bowel Diseases.* In Proceedings Nutrition Society, vol. 61, no. 3, pp. 391-395.

- **Berglund , D. R. (2002).** Flax: New uses and demands. Trends in new crops and new uses, pp. 358-360.

- **Bernard .s B. (2001).***Plantes médicinales du monde*, 2ieme Edition. 636 pages; Editeur : Editions Estem.

- **Beroual .K, Maameri. Z, Halimi. S, Benleksira. B, Agabou.A and Hamdi .Y. P. (2013).***Effects of Linum usitatissimum ingestion and oil topical application on hair growth in rabbit.* International Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2(3).

- **Bloedon . L. T. and Szapary. P. O. (2004).** *Flaxseed and cardiovascular risk.* Nutrition Review vol. 62, no. 1, pp. 18-27.

- **Braus . N. A. and Elliott . D. E. (2009).** *Advances in the pathogenesis and treatment of IBD.* Clin Immunol, 132(1): 1-9.

C

- **Cao. S, Feehley, T. J and Nagler, C. R. (2014).** *The role of commensal bacteria in the Regulation of sensitization to food allergens. FEBS Lett*, vol. 588, no. 22, pp. 4258– 4266.
- **Carter. J. F. (1996).** *Sensory evaluation of flaxseed of different varieties.* In Proceedings of the 56th Flax Institute of the United States, pp. 201-203. Fargo North Dakota: Flax Institute of United States.
- **Chan . Y. K, Estaki, M and Gibson . D. L. (2013).** *Clinical consequences of diet-induced dysbiosis.* Ann. Nutr. Metab. 63:28–40.
- **Chen .J, Stavro. P. M, and Thompson. L.U. (2002).** *Dietary flaxseed inhibits human breast cancer growth and metastasis and downregulates expression of insulinlike growth factor and epidermal growth factor receptor.* Nutrition and Cancer, 43(2): 187-192.
- **Chermesh. I. et Shamir. R. (2009).** *Rôle du microbiote dans les maladies inflammatoires de l'intestin.* Annales Nestlé. 67 : 27-38.
- **Chytilova. M, Mudrončova. D, Nemcova. R, Gancarcčikova. S, Buleca. V, Koščova. J, Tkacčikova. L. (2013).** Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of flax-seed oil and *Lactobacillus plantarum* – Bioceno^l™ LP96 in gnotobiotic pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republ Research in Veterinary Science ,95: 103–109.
- **Conrad. K , Roggenbuck . D and Laass. M.W. (2014).** *Diagnosis and classification of Ulcerative colitis.* Autoimmun Rev, 4-5(13) : 463-466.

- **Cooper. H. S, Murthy. S. N, Shah. R. S and Sedergran. D. J. (1993).***Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis.* Lab Invest, vol. 69, no. 2, pp. 238-249.
- **Coskuner. Y. and Karababa. E. (2007).** *Some physical properties of flaxseed (Linum usitatissimum).* Journal of Food Engineering, vol. 78, pp. 1067–1073.
- **Coutinho. L.M , Coutinho. S. R. et al. (2017).** *Sulphate-reducing bacteria from ulcerative colitis patients induce apoptosis of gastrointestinal epithelial cells.* Microb Pathog.pii: S0882-4010(17)30249-8.

D

- **Daun. J, Barthet . V , Chornick . T and Duguid. S. (2003).** *Structure, composition and variety development of flaxseed.* In: Thompson, L., Cunanne, S. Edition. Flaxseed in Human Nutrition. Second Edition Champaign, Illinois, pp.1-40.
- **De Saussure, P. and Bouhnik. Y. (2007).** *Maladie de Crohn de l'adulte.* EMC Gastroenterologie.
- **Di Mauro .A, Neu. J,Riezzo. G, Raimondi. F, Martinelli.D, Francavilla .R and F. Indrio. (2013).** *Gastrointestinal function development and microbiota.* Italian journal of pediatrics 39, 15.
- **Dore. J and Corthier. G. (2010).***The human intestinal microbiota.* Gastroenterologie clinique et biologique 34 Suppl 1, S7-15.
- **Dridi. B, Raoult. D and Drancourt. M. (2011).** *Archaea as emerging organisms in complex human microbiomes.* Anaerobe 17 : 56-63.
- **Ducluzeau. R et Raibaud. P. (1989).***Les interactions bacteriennes dans le tube digestif.* Rev.sci .tech.Off.int.Epiz.8(2) ,291-311.

E

- **Engel. M.A, Neurath .M.F. (2010).**New pathophysiological insights and modern treatment of IBD. *J Gastroenterol*, 45: 571-583.

F

- **Faharat. K , Sobhani. I , Bonnaud. G, Vallot. T, Vissuzaine . C et M. M. (1999).** *Rectocolite ulcérohémorragique: épidémiologie, physiopathologie, diagnostic, histoire naturelle et stratégie thérapeutique.* Encyclopedie médico-chirurgicale (Elsevier, Paris), Gastro-enterologie: 24.
- **Freeman.H. J. (2004).** *Natural history and long-term clinical course of Crohn's disease.* *World Journal of Gastroenterology*, 20(1)31-36.
- **Freeman. T.P. (1995).** *Structure of flaxseed.* In: *Cunnane S, Thompson LU.* (Eds) *Flaxseed in human nutrition.* AOCS Press, Champaign Illinois: 11-21.

G

- **Gachkar. L, Yadegari. D, Rezaei. M.B, Taghizadeh. M, Astaneh. S.A et Rasooli.I . (2006).** *chemical and biological characteristics of Cuminum and Rosmarinus officinalis essential oils.* *Food Chemistry*.102:898-904.
- **Gomollón. F, Dignass. A, Annese. V et al. (2017).** ECCO. 3rd European Evidence-based Consensus on *the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management.* *J Crohns Colitis*.11:3-25.

H

- **Halligudi. N. (2012).***Pharmacological properties of flax seed: Review Hygeia:journal for drugs and medicines. 4:70-77.*
- **Heli. J. R.D, Shanna. L .M.S, Chad,E. B.A et Beth K. (2007).** *Flaxseed: A Review of Health Benefits, Pennington Nutrition. (5):4.*

I

- **Iserin.P . (2001).***Encyclopedie des plantes médicinales, identification, préparation, soin, 2ème édition Ed Larousse/ VUEF, 13- 16(250) :291- 296.*

J

- **Jhala.A .J et Hall. L.M. (2010).** *Flax (Linum usitatissimum L.): Current Uses and Future Applications: Australian Journal of basic and Applied Sciences.4(9): 4304-4312.*
- **Joossens. M, Huys.G, Cnockaert.M, De Peter.V, Verbeke. K et al. (2011).** *Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relative.Gut .60: 631-637.*

K

- **Kaithwas. G, Mukerjee. A, Kumar. P, Majumdar. D.K. (2011).** *Linum usitatissimum (linseed/flaxseed) fixed oil: antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis.* *InflammoPharmacology.* 19: 45-52.
- **Kaser. A, Zeissig.S and R.S. (2010).** Blumberg. *Inflammatory bowel disease.* Annual review of immunology. 28:573-621.
- **Kleessen. B, Kroesen. A. J, Buhr. H. J and Blaute. M. (2002).***Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls.**Scand J Gastroenterol.*37:1034-1041.
- **Konturek. P. C, Haziri. D, Brzozowski . T, Hess. T, Heyman. S, Kwiecien . S, Konturek .S.J and Koziel. J (2015).***Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of Gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases.**J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* 66(4): 483–491.

L

- **Lafond .G.P, Irvine.B, Johnston. A.M, May. W.E,Mcandrew. D.W, Shirtliffe. S.J,Stevenson. F.C. (2008).** Stevenson. *Impact of agronomic factors on seed yield formation and quality in flax.* *Canadian Journal of Plant Science.* 88(3):485-500.
- **Lagier. J.C, Million. M, Hugon.P, Armougom. F and Raoult. D. (2012).** *Human gut microbiota: repertoire and variations.* *Frontiers in cellular and infection microbiology.*2(136).
- **Landman. C, Quévrain. E. (2016).** *Le microbiote intestinal : description, rôle et implications physio- pathologiques.* *Rev Med Intern.*37(6) :418–23.

- **Lepage. P , Hasler .R, Spehlmann. M.E. et al. (2011).** *Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis.* Gastroenterology.141:227–36.
- **Levy. P. (2008).** *Hepato-gastro-enterologie*, 2ème édition edn (Collégiale des universitaires en hepato-gastro-enterologie).416p.
- **Le Minoret .C, Richard. C. (1993).** *Méthode de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries* .Institut Pasteur, France.
- **Louis. E et Marteau .P. (2010).** *Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.* Wolter Kluwer France edn (R. Zittoun).
- **Lyra. A, Forssten. S, Rolny. P, Wettergren. Y, Lahtinen. S.J and al. (2012).** *Comparison of bacterial quantities in left and right colon biopsies and faeces.* World J Gastroenterol.18 (32):4404–11.
- **Ley. r.e, Peterson. d.a and Gordon. j.i. (2006),** ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine.cell. 124(4): 837-48

M

- **Machiels.K, Joossens. M, Sabino. J et al. (2013).** *A decrease of the butyrate-producing species Roseburia hominis and Faecalibacterium prausnitzii defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis.*Gut 63:1275:83.
- **Marko. B, Prka. L. (2013).** [Anti-TNF therapy in treatment of luminal Crohn's disease]. Acta Medica Croat Cas Hravatske Akad Med Znan. Avr; 67(2):179e89.
- **Marteau. P. (2013).***Microbiote intestinale.* EMC Gastroenterologie. 8 :1-8.

- **Marteau. P, Doré. J. (2017).***Le microbiote intestinal – Un organe a part entière*.eds. JOHN LIBBEY EUROTTEXT.

- **Marteau. P and Jian. R. (2001).***Maladie de Crohn. In AKOS Encyclopédie pratique de medecine*. E. Masson, ed. (Paris), pp. 5.

- **Massaro. M, Scoditti. E, Carluccio. M.A and De Caterina. R. (2010).***Nutraceuticals and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated fatty acids and Mediterranean diet polyphenols. Cardiovascular therapeutics*. 28:13-19.

- **Mazzarella. G, Perna. A, Marano .A and al. (2017).***Pathogenic Role of Associated Adherent- Invasive Escherichia coli in Crohn’s Disease*. J Cell Physiol; 232:2860-8.

- **Millam. S, Obert. B. and Pret’ová. A. (2005).** *Plant cell and biotechnology studies in Linum usitatissimum—a review*. Plant cell, tissue and organ culture,82(1) : 93-103.

- **Mokkadem. (1999).** *Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d’Algérie*. Revue Vie et Nature. (7) :24-26.

- **Montbarbon .M . (2013).***Régulation de la réponse inflammatoire intestinale par la fumée de cigarette : caractérisation des mécanismes cellulaires et moléculaires chez la souris*. Thèse de doctorat en immunologie. Université Droit et Santé, Lile, 139p.

- **Mueller. K. and al. (2010).** *Functional properties and chemical composition of fractionated brown and yellow linseed meal (Linum usitatissimum L.)*. Elsevier:453-460.

N

NCCLS M7 A5 ED. 5. (2000). *Methods For Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests For Bacteria That Grow Aerobically* Clinical Laboratory Standards Institute. 26(2).



- **Nesbitt. P.D, Lam. Y. and Thompson. L.U. (1999).** *Human metabolism of mammalian lignan precursors in raw and processed flaxseed.* The American journal of clinical nutrition.69 (3): 549-555.

O

- **Oomah . B.D. (2001).** *Flaxseed as a functional food source.* Journal of the Science of Food and Agricultural.81 (9): 889-894.
- **Otari. K. V, Gaikwad . P. S, Shete. R. V. and C. D. (2012).** *Upasani Protective effect of aqueous extract of Spinacia oleracea leaves in experimental paradigms of inflammatory bowel disease.* Inflammopharmacology.20 (5):277-287.
- **Ouwerkerk.J. P, de Vos. W. M and Belzer. C. (2013).** *Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface.* Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 27(1):25–38.

P

- **Pradhan. R, Meda, V, Rout. P , Naik . S and Dalai. A. (2010).** *Supercritical CO2 extraction of fatty oil from flaxseed and comparison with screw press expression and solvent extraction processes.* Journal of Food Engineering.98(4):393-397.
- **Xavier. Puéchal. (2008).** *Parcours de bon usage anti-TNF α Guide à l'usage des professionnels de santé.* 6 :15-20.

Q

- **Qin. J .Li, Raes. R, Arumugam. J, Burgdorf. M, Manichanh .K. S, Nielsen .C, Pons. T, Levenz. N, Yamada. F. T et al. (2010).** *A human gut microbiota genre catalogue established by metagenomic sequencing .Nature.464:59-65.*
- **Qin Ma, Hai., 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, 24(13): 1464-1477.*
- **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, 14(4) : 148-153.
- **Quinn. MJ, Moore. ES, Thomson. DU, Depenbusch .BE, May. ML, Higgins. JJ, Carter .JF et Drouillard .JS. (2008).** *The effect of feeding flaxseed during the receiving period on morbidity, mortality, performance, and carcass characteristics of heifers.Journal of Animal Science, 86(11):3054-3061.*

R

- **Rahmouni. O, Dubuquoy. L, Desreumaux. P, Neut .C . (2016).** *Microbiote intestinal et développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Synthèse Revues médecine/science. 32 :968-73.*
- **Roberto. C. (1982).** *Les plantes médicinales; Guide vert; Solar: Paris, 500p.*
- **Romano .B, Iqbal .A. J and Maione. F. (2015).** *Natural anti-inflammatory Products/compounds: Hopes and reality. Mediators of inflammation.*

- **Rufo , P. A. and Bousvaros , A. (2006).** *Current therapy of inflammatory bowel disease in children.* Paediatr Drugs.8(5):279-302.

S

- **Salazar. N, Arboleya . S, Valdés.L, Stanton. C, Ross. P, Ruiz. L, Gueimonde .M and de Los Reyes-Gavilán .C.G. (2014).** *The human intestinal microbiome at extreme ages of life.Dietary intervention as a way to counteract alterations.*Front. Genet.5: 406.
- **Salonen and de Vos. W. M. (2014).** *Impact of diet on human intestinal microbiota and Health.* Annu. Rev. Food Sci. Technol.5:239–262.
- **Sartor. R.B. (2008).** *Microbial influences in inflammatory bowel diseases.* Gastroenterology 134:577-594.
- **Seksik. P. (2010).** *Microbiote intestinale et MICI.* Gastroenterol Clin Biol.34:48-55.
- **Seksik, P, Rigottier-Gois .L, Gramet . G and al. (2003).** *Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon.* Gut, 52: 237-42.
- **Sokol. H, Lay. C, Seksik. P. and al. (2008).** *Analysis of bacterial bowel communities of IBD patients, what has it revealed* Inflamm Bowel Dis.14:858–67.
- **Sokol .H, Lepage. P, Seksik. P, Dore .J, Marteau. P. (2007).** *Molecular comparison of dominant microbiota associated with injured versus healthy mucosa in ulcerative colitis.* Gut6:15-24.

- **Sokol .H , Pigneur .B, Watterlot . L ,Lakhdari . O,Bermudez-Humran .L.G and al (2008).** *Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of crohn disease patients.* Proc Natl Acad Sci USA, 105:16731-16736.

- **Sokol. H, Seksik. P, Furet. J.P. et al. (2009).** *Low counts of Faecalibacterium prausnitzii in colitis microbiota.* Inflamm Bowel Dis; 15:1183-9.

- **Swidsinski. A, Ung . V , Sydora . B, loaning-Bauke . C, doerffel . V, Verstralen Y, H and Fedorak . R N. (2009).** *Bacterial overgrowth and inflammation of small intestine after carboxymethylcellulose ingestion in genetically susceptible mice* .Inflamm Bowel Dis .15:359-364.

- **Swidsinski, A. Weber, Loaning-Bauke. J, Hale.V and H .(2005).** *Lochs.Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease.*J Clin Microbiol. 43:3380-3389.

T

- **Thompson. L.U. (2003).** *Flaxseed in human nutrition, 2nd Edition, AOCS Press, Champaign, Illinois, p458.*

- **Tzang. B. S, Yang. S. F, Fu.S. G, Yang. H.C, Sun. H. L, Chen. Y.C. (2009).** *Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters.* Food Chemistry, 114: 1450-1455.

W

- **Wallace. K. L, Zbeng. L. B. and Kanazawa, Y. (2014).** *Immunopathology of inflammatory bowel disease.* World J Gastroenterology, 20(1) 6-21.
- **Walsh. C. J, Guinane. C. M, Toole.P. W. O, and P. D. (2014).** *Cotter.Beneficial modulation of the gut microbiota.* FEBS Lett.588(22): 4120–4130.
- **Wang .X, Zhao. L, Han. T, Chen. S and Wang. J. (2008).** *Protective effects of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-d-glucoside, an active component of Polygonum.* 578(2):339-348.
- **Weill. P. et Mairess, G. (2010).** *Le lin, son huile, sa graine, et notre santé .*Article De synthèse. Phytothérapie. 8:1–5.
- **Willing . B, Halfvarson. J, Dicksved . j, Rosenquist . M, JARNEROT. G. and al. (2009).** *Twin studies reveal specific imbalance in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn's disease .*Inflam Bowel Dis. 15:653-660.

X

- **Xavier. R.J. and Podolsky. D.K. 2007).***Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease.* Nature .448:427-434



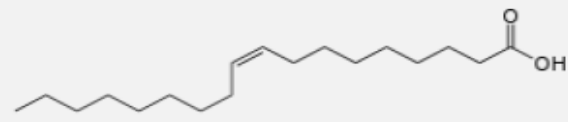

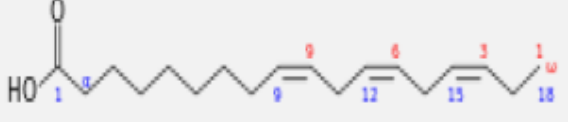
Site web

(<https://www.passeportsante.net/huiles-vegetales-g152/Fiche.aspx?doc=huile-lin>).

Annexes

Annexe I

Tableau : Composition en acides gras de l'huile de lin (Daun et al., 2003).

Nom de l'acide gras	Nomenclature Biochimique	Formule semi-développée	Répartition (%)	% insaturés et saturés
Acide palmitique	C16 :0		4-6	5-15% d'acide gras saturés
Acide stéarique	C18 :0		2-6	
Acide oléique	C18 :1 ω9		10-22	75-95% D'acide gras insaturés
Acide linoléique	C18 :2 ω6		12-18	
Acide α-linolénique	C18 :3 ω3		50-62	

Annexe II

Composition des milieux de cultures (g/l d'eau distillée) (Le Minor et Richard, 1993).

Gélose Muller Hinton	g/l
Hydrolysate acide de caséine	17.5
Infusion de viande	02
Amidon	1.5
Agar	17
pH	7.4 ± 0.2
Eau distillée	qsp

Chromagar orientation	g/l
Extrait de levure et peptone	17
Chromogenic mix	01
Agar	15
pH	07
Eau distillée	qsp

Gélose EMB	g/l
Peptone de viande	10
Eosine jaunâtre	0,4
Bleu de méthylène	0,067
Lactose	10
Phosphate de potassique	02
Agar	13,5
pH	7,4
Eau distillée	qsp

Bouillon Mueller Hinton	g/l
Extrait de viande	1
Hydrolysate acide de caséine	17.5
Amidon	1.5
pH	7.4
Eau distillée	qsp

Eau Peptonée Tamponnée	g/l
Mélange de peptones	10
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate disodique	3.5
Hydrogénophosphate de Potassium	1.5
pH	7.2±0.2
Eau distillée	qsp

Les réactifs

- Acide acétique (CH₃COOH) à 100%.
- Eau distillée.
- Eau physiologique à (9%).
- Ethanol (C₂H₆O) à 96%.

Réactif de Kovacs	g/l
Alcool amylique au isoamylique	150ml
Pradiméthylaminobenzaldehyde	10
Acide chlorhydrique concentré	50ml

Annexe III

Tableau : valeurs de rapport P/L de chaque lot.

Lot sain	Poids(mg)	Langueurs (cm)	P/L
Souris 1	609	9.2	66
Souris 2	659	10.6	62
Souris 3	574	9.8	55
Souris 4	684	10	68

Lot malade	Poids(mg)	Langueurs (cm)	P/L
Souris 1	395	8.4	47
Souris 2	388	6.5	59
Souris 3	539	9	59
Souris 4	377	8.8	42

Lot traité	Poids(mg)	Langueurs (cm)	P/L
Souris 1	331	7	47
Souris 2	477	8,5	56
Souris 3	471	8,9	52
Souris 4	377	8,5	44

Résumé

Cette étude avait pour objectif l'étude *in vitro* de l'activité antibactérienne et l'étude *in vivo* de l'effet anti-inflammatoire d'une huile fixe de la graine de lin (*Linum usitatissimum* L).

Un test d'activité antibactérienne de l'huile fixe a été réalisé par la méthode des disques sur milieu solide par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur le milieu liquide. D'autre part, l'effet anti inflammatoire de l'Huile fixe 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 Huile Fixe), et ce par le dénombrement des *Escherichia coli*

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

L'huile fixe des graines de lin possède un effet anti-inflammatoire pouvant ainsi être considéré comme une stratégie thérapeutique potentielle dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin MICI.

Mots clés : Activité antibactérienne, Activité anti-inflammatoire, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, Huile fixe, graine de lin.

Summary

The purpose of this study was to study *in vitro* antibacterial activity and to study *in vivo* the anti-inflammatory effect of a fixed oil of flaxseed (*Linum usitatissimum* L).

An antibacterial activity test of the fixed oil was carried out by the solid-state disk method by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) on liquid medium. On the other hand, the anti-inflammatory effect of the fixed oil 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 fecal flora of each batch (healthy, diseased and treated with HF), by counting *Escherichia coli*. The results showed no antibacterial activity of the fixed oil at a concentration ≤ 400 $\mu\text{g} / \text{ml}$. On the other hand, the statistical tests revealed a significant difference between the P / L ratios of batch the diseased and batch the treated, as well as a decrease in the number of *Escherichia coli* in the faecal material, signifying a certain anti-inflammatory effect of the fixed oil. The fixed flax oil has an anti-inflammatory effect and can therefore be considered as a potential therapeutic strategy in the treatment of inflammatory bowel diseases IBD

Key words: Antibacterial activity, Anti-inflammatory activity, inflammatory bowel disease, fixed oil, flaxseed.

ملخص

وقد تم تصميم هذه الدراسة إلى دراسة في المختبر النشاط المضاد للبكتيريا والدراسات المجراة من تأثير مضاد للالتهابات من زيت ثابت من بذر الكتان (بذر الكتان *Linum usitatissimum* L). وقد أدركت اختبار النشاط المضاد للبكتيريا من زيت ثابت من طريقة القرص على وسط صلب عن طريق تحديد الحد الأدنى للتركيز مثبط (MIC) على وسط سائل. من ناحية أخرى، وقد تم اختبار تأثير المضادة للالتهابات من زيت ثابت مع جرعة من 100 ملغ / كغ على التهاب القولون الناجم عن حمض الخليك في نموذج حيواني (الفئران البيضاء) وفي موازاة ذلك، من خلال التحليل البكتريولوجي للنباتات البرازية لكل دفعة (صحية ومریضة ومعالجة بواسطة زيت ثابت)، عن طريق حساب *Escherichia coli*. أظهرت النتائج عدم وجود نشاط مضاد للبكتيريا للزيت الثابت بتركيز ≤ 400 ميكروغرام / مل. من ناحية أخرى، أظهرت الاختبارات الإحصائية فرق كبير بين نسب P / L من الكثير المريض دفعة ومعالجتها وانخفاض في عدد القولونية في البراز يعني لها تأثير معين المضادة للالتهابات من زيت ثابت. وبالتالي يمكن اعتبار زيت ثابت بذر الكتان لها تأثير مضاد للالتهابات كاستراتيجية العلاجية المحتملة في علاج الأمراض الالتهابية المزمنة للأمعاء

الكلمات الرئيسية: مضاد للجراثيم، مضاد للالتهابات، أمراض التهاب الأمعاء، الزيوت الثابتة، وبذور الكتان.