

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

Université A. MIRA - Bejaia

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de microbiologie*

*Spécialité Microbiologie Fondamentale*



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Etude des activités anti-inflammatoire  
intestinale et antibactérienne de l'extrait de  
*Myrtus communis l.***

Présenté par :

**BENABBAS Hayette & HAID El Djida**

Soutenu le : 18 Septembre 2021

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> SAIDANI, K.	MCB	Président
M <sup>elle</sup> YANAT, B.	MCA	Encadreur
M <sup>me</sup> BENACHOUR, K.	MAA	Examineur

Année universitaire 2020/2021

# Remerciements

Au terme de cette étude, nous tenons d'abord à remercier <<*Dieu*>> tout puissant de nous avoir accordé la force ; la santé et le courage au cours de notre travail, c'est grâce à Lui qu'on a fait ce travail.

On tient à remercier très sincèrement notre promotrice M<sup>elle</sup> ; <<**YANAT. B**>>, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant cette recherche, pour la qualité de son encadrement exceptionnel, sa patience et sa disponibilité durant la préparation de notre mémoire.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury : M<sup>me</sup> <<**SAIDANI**>> qui nous a fait l'honneur et l'immense plaisir de présider le jury de soutenance. Ainsi que Mme <<**BENACHOUR**>> qui a accepté d'examiner ce travail. Veuillez trouver, ici l'expression de notre reconnaissance et notre respect.

Nous tenons également à remercier nos parents pour leurs soutiens à la fois moral et financier et qui ont toujours été à nos côtés pour nous encourager.

Nous voudrions également remercier <<**M<sup>r</sup> BIRIBL.N**>> et ses doctorants pour leur soutien et leurs encouragements.

# Dédicace

C'est avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail

*A ma chère mère fariza* : autant de phrases aussi expressives soient 'elles ne sauraient montres le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours, tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études.

*A mon très cher père Salim* : cette homme si tendre et bon, rien au monde ne veut les efforts fournis jour et nuits pour mon éducation ; que ce modeste travail concrétise ton rêve et que n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements.

*A mes chers frères (Hacen et Aksil) et mes chères sœurs (Anaïs et Ryma)* veuillez trouver dans ce travail un modeste témoignage de mon admiration et tout ma gratitude ; de mon affection la plus sincère.

*A mes deux chères grandes Mère paternel et maternel* que ce modestes travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez pas cessé de formuler durant vos prières. Que dieu vous préserve santé et longue vie.

A la personne qui m'a toujours aidé et encouragé, qui a était toujours à mes côtés, et qui m'a accompagné et supporté durant mon mémoire : *A mon chéri lamine*

A tous ce que j'aime.

**Hayette.**

# Dédicace

Je dédie ce travail à *ma mère Samia*, et à *mon père M'hand*, qui se sont sacrifiés pour moi et qui m'ont toujours soutenue

A mes frères, *Koceila* et *Yuva*, qui ont toujours été là pour moi

A toutes les personnes qui me sont chères, qui m'ont soutenue, supportée et encouragée, en particulier mon amie *Katia*

A celle qui a toujours cru en moi, *Nadia M.*

A *Hayette* et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail se fasse dans les meilleures conditions.

**Djida.**

# TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX.....	0
LISTE DES FIGURES.....	0
LISTE DES ABREVIATIONS.....	0
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I : Microbiote intestinal et les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI). .....</b>	<b>3</b>
<b>I. Microbiote intestinal.....</b>	<b>3</b>
I.1. Définition .....	3
I.2. Répartition du microbiote dans le tube digestif .....	3
I.3. Implantation du microbiote intestinal .....	4
I.4. Composition du microbiote intestinal.....	4
I.5. Fonctions du microbiote intestinal.....	5
I.5.1. Effet barrière et fonctions immunitaires .....	6
I.5.2. Fonctions métaboliques .....	6
<b>II. Maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI).....</b>	<b>7</b>
II.1. Généralités.....	7
II.2. Pathogenèse des MICI.....	8
II.2.1. Maladie de Crohn (MC) .....	9
II.2.2. Rectocolite hémorragique (RCH).....	10
II.3. Traitement des MICI.....	11
II.3.1. Traitements anti-inflammatoires.....	11
II.3.2. Traitements non médicamenteux.....	11
II.3.3. Traitements chirurgicaux.....	12
III. Interaction entre les MICI et le microbiote intestinal.....	12
III.1. Dysbiose.....	12
III.2. Microorganismes pathogènes présents chez les patients atteints des MICI.....	14
<b>Chapitre II : <i>Myrtus communis</i>. .....</b>	<b>15</b>
II.1. Généralités.....	15
II.2. Description botanique.....	16
II.3. Application des différentes parties de <i>Myrtus communis</i> dans la médecine traditionnelle.....	16

II.4. Activités biologiques .....	18
-----------------------------------	----

## **MATERIEL ET METHODES**

<b>I. Matériel utilisé .....</b>	<b>20</b>
I.1. Matériel biologique .....	20
I.1.1. Matériel végétal.....	20
I.1.2. Model animal .....	20
I.1.3. Souches bactériennes cibles .....	21
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>22</b>
II.1. Extraction éthanolique de Myrtus communis .....	22
II.2. Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale .....	23
II.2.1. Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait éthanolique.....	23
II.2.2. Induction de l'inflammation colique par l'acide di-nitrobenzène sulfonique (DNBS) et son traitement .....	23
II.3. Évaluation de l'activité antibactérienne .....	24
II.3.1. Tests de l'activité antibactérienne sur milieu solide.....	24
II.3.1.1. Test des puits .....	24
II.3.1.2. Test des disques .....	25
II.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu liquide ....	27

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

I. Résultats .....	29
I.1 Résultats de l'activité anti-inflammatoire intestinale.....	29
I.1.2. Toxicité aigüe.....	29
I.1.3. Activité anti-inflammatoire intestinale .....	29
I.2. Résultats de l'activité antibactérienne.....	31
<b>II. Discussion.....</b>	<b>36</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>

## **LISTE DES RÉFÉRENCES**

## **ANNEXES**

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Microorganismes présents chez les patients atteints des MICI.	14
Tableau II : Application des différentes parties de <i>Myrtus communis</i> .	17
Tableau III : Activités biologiques de <i>Myrtus communis</i> .	18
Tableau IV : Propriétés biologiques attribuées à <i>Myrtus communis</i> .	19
Tableau V : Listes des souches cibles.	21
Tableau VI : Diamètre des zones d'inhibition obtenue par le test des puits.	31
Tableau VII : Diamètres des zones d'inhibition obtenues par le test des disques.	31
Tableau VIII : Résultats des CMI des souches cibles pour l'extrait éthanolique.	34

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition du microbiote intestinal .....	4
Figure 2 : espèces bactérienne appartenant a différents sous-ensembles des groupes bactérienne présent dans le microbiote intestinal.....	5
Figure 3 : Facteurs influençant l'apparition des MICI.....	8
Figure 4 : Mécanismes physiopathologiques impliqués dans les MICI.....	9
Figure 5 : Atteintes intestinales dans la maladie de Crohn .....	10
Figure 6 : Localisation des atteintes intestinales dans la maladie de la rectocolite hémorragique (RCH).....	11
Figure 7 : Schématisation du déséquilibre du microbiote intestinale au cours des MICI.....	13
Figure 8 : Distribution de <i>Myrtus communis</i> en Algérie.....	15
Figure 9 : <i>Myrtus communis</i> (A) : feuilles (B) : jeunes fleurs et fruit immature (C) : fruit mature (D) : graines.....	16
Figure 10 : Photo de <i>Myrtus communis</i> .....	20
Figure 11 : Photo des souris BALB/c.....	21
Figure 12 : Photographie du soxhlet. ....	22
Figure 13 : Photo du filtrat obtenu. ....	22
Figure 14 : Protocole expérimental d'induction d'une inflammation intestinale aigüe et son traitement avec l'extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i> .....	24
Figure 15 : Schéma du protocole expérimental suivi pour la détermination de l'activité antibactérienne (tests des puits et des disques). ....	26
Figure 16 : Détermination des CMI par la méthode de micro dilutions sur microplaque.....	28
Figure 17 : Longueurs des colons des différents lots. ....	30
Figure 18 : Effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de <i>Myrtus communis</i> (50, 100, 200 mg/kg) sur la variation du rapport P/L dans le modèle de colite induite par DNBS *différence significative ** différence très significative par rapport au DNBS. ....	30
Figure 19 : Résultats du test des puits. ....	32
Figure 20 : Résultats du test des disques.....	33
Figure 21 : Résultats du test de micro dilutions sur microplaque. ....	35

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ATB</b>	<b>Antibiotique</b>
<b>AIEC</b>	<b>Escherichia Coli Adhérent Invasive</b>
<b>ATCC</b>	<b>American Type Culture Collection</b>
<b>AINS</b>	<b>Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien</b>
<b>BALB/c</b>	<b>Bagg Albinos (souche de souris de recherche consanguine)</b>
<b>CMI</b>	<b>Concentration Minimale Inhibitrice</b>
<b>CU</b>	<b>Colite Ulcéreuse</b>
<b>DL 50</b>	<b>Dose Létale</b>
<b>DNBS</b>	<b>Acide Dinitrobenzène Sulfoniques</b>
<b>DO</b>	<b>Densité Optique</b>
<b>EPEC</b>	<i>Escherichia coli enteropathogène</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>FMT</b>	<b>Transplantation du Microbiote Fécal</b>
<i>Kp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>L</b>	<b>Linn</b>
<b>LGA</b>	<b>Laboratoire Médical Guineo-Allemand</b>
<b>MC</b>	<b>Maladie de Crohn</b>
<b>ME</b>	<b>Masse de l'Extrait</b>
<b>MMS</b>	<b>Masse de la Matière Sèche</b>
<b>MH</b>	<b>Mueller Hinton</b>
<b>MHB</b>	<b>Bouillon Mueller Hinton</b>
<b>MICI</b>	<b>Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin</b>
<b>RCH</b>	<b>Rectocolite Hémorragique</b>
<b>ONAB</b>	<b>Office National des Aliments de Bétail.</b>
<i>P.aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>ROS</b>	<b>Espèces Réactives d'Oxygène</b>
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> <b>Résistante à la Mériciline</b>
<b>SEM</b>	<b>Standard Error Means</b>
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	<b>Tumor Necrosis Factor Alpha</b>

**UFC**

**Unité Formant Colonie**



# **INTRODUCTION**

## Introduction

La réponse inflammatoire représente l'un des principaux mécanismes de guérison et de restauration de la fonction tissulaire. L'inflammation chronique à une sécrétion excessive de cytokines pro-inflammatoires impliquées dans l'apparition de plusieurs maladies (**Cruciani, 2019**). Parmi elles, les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), qui sont devenues un problème de santé publique dans les pays industrialisés et qui sont en augmentation dans les pays en voie de développement (**Maignant, 2015**). Les MICI sont des maladies chroniques progressives caractérisées par des réponses immunitaires aberrantes à des déclencheurs environnementaux et microbiens intestinaux chez des hôtes génétiquement sensibles, elles présentent deux phénotypes cliniques principaux : la colite ulcéreuse (CU) et la maladie de Crohn (MC), qui diffèrent entre-elles par la localisation de l'inflammation et par des atteintes immunologiques et histologiques (**Sushila, 2014**).

Ces dernières années, le microbiote intestinal est susceptible d'être le facteur environnemental le plus important dans la pathogénie des MICI (**Dong et al., 2019**). En effet, un consensus général selon lequel les MICI sont associées à des modifications de la composition et du métabolisme du microbiote intestinal (dysbiose) (**Ni et al., 2017**).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les glucocorticoïdes et les antibiotiques.... (**Orliguet, 2013**), sont parfois associés à divers effets indésirables. Le développement de médicaments à partir de sources naturelles et l'engagement de métabolites secondaires ayant une activité pharmacologique sont devenus "un point chaud de la recherche". Diverses plantes ont été employées comme agents anti-inflammatoires en raison de leurs propriétés médicinales pour prévenir et traiter certaines maladies (**Aebed, 2020**).

En outre, les plantes médicinales sont aussi connues pour leurs effets antimicrobiens qui en font une alternative thérapeutique intéressante pour atténuer et vaincre les infections causées par les agents pathogènes. D'autant plus que les maladies infectieuses restent la principale cause de mortalité humaine dans le monde entier en raison de l'émergence de nouveaux agents pathogènes et par l'augmentation de la résistance aux antibiotiques (**Aebed, 2020**).

*Myrtus communis* linn est une plante médicinale, aromatique, endémique de la région méditerranéenne (**Jabri, 2018**). Cette dernière a été largement utilisée dans la parfumerie, les aliments, les cosmétiques, les épices et les industries pharmaceutiques. Divers extraits, fractions et phyto-constituants de myrte sont connus pour être utilisés dans plusieurs remèdes et notamment antibactériens, anti-cancéreux et antioxydants. Leurs feuilles sont aussi utilisées

comme agents anti-inflammatoires et antiseptiques (Mir, 2020). Malgré le potentiel énorme qu'elles présentent, *Myrtus communis* reste très peu explorée. La majorité des études concernent les huiles essentielles extraites à partir de cette plante. À l'inverse, peu d'articles ont été rapportés sur l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne de l'extrait éthanolique de cette plante.

De ce fait une question se pose : les extraits éthanoliques des feuilles de *Myrtus communis* sont-ils dotés d'une activité anti-inflammatoire intestinale et d'une activité antibactérienne ?

Afin de répondre à cette question, notre travail est orienté vers l'étude de ces deux activités en suivant la méthodologie suivante :

- Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de myrte sur un modèle murin colique.
- Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de myrte par la méthode de diffusion sur milieu solide et par la méthode de micro dilution sur milieu liquide.



# **SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Chapitre I : Microbiote intestinal et les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI).**

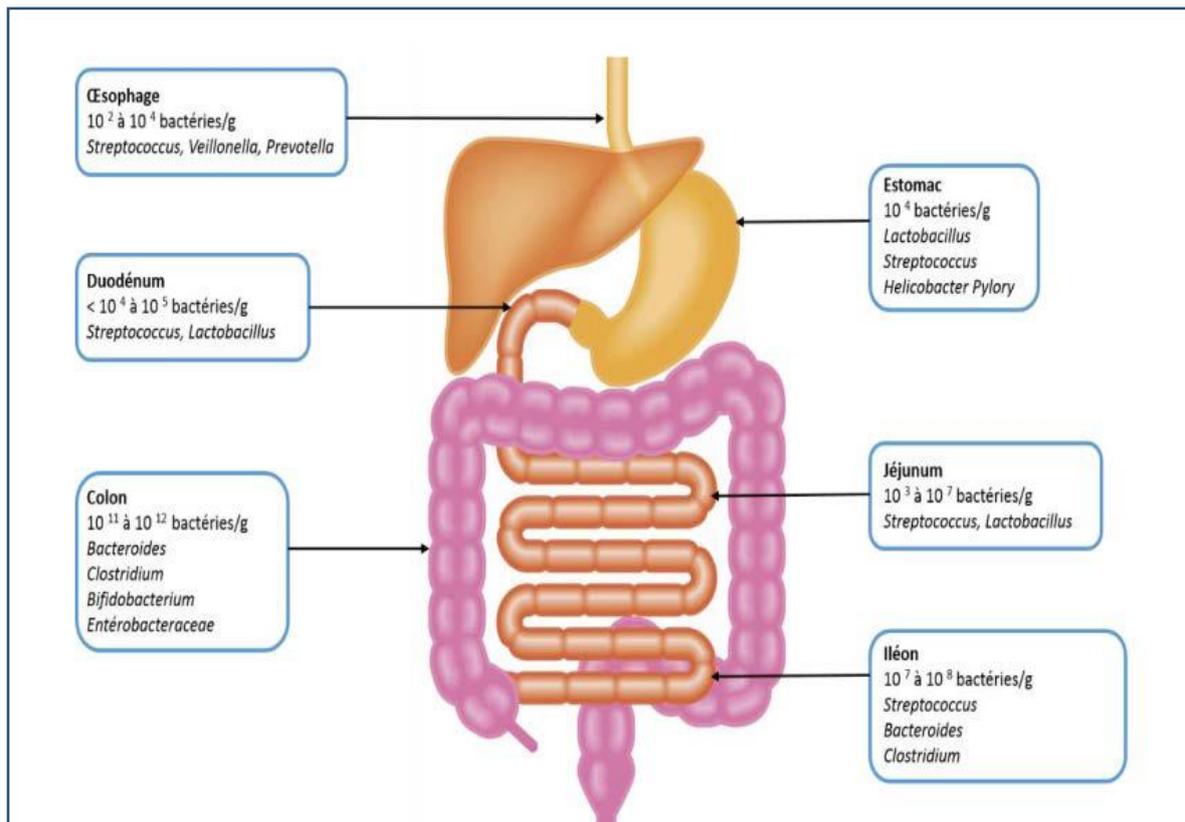
### **I. Microbiote intestinal**

#### **I.1. Définition**

Le microbiote intestinal est considéré comme étant une sorte de carte d'identité individuelle, qui comprend l'ensemble des microorganismes hébergés dans le tube digestif, principalement des bactéries mais aussi des virus, champignons, et des archées. Après la colonisation du tube digestif à la naissance à l'âge de 2 ans environ, le microbiote intestinale est propre à chaque individu et est stable dans le temps (**Landaman, 2016**).

#### **I.2. Répartition du microbiote dans le tube digestif**

Les conditions écologiques diffèrent considérablement le long du tractus digestif (Ph, potentiel d'oxydo-réduction, ou potentiel redox, anaérobiose, disponibilité des substrats alimentaires, vitesse de transit, site d'adhésion ...etc.) et donc le microbiote diffère fortement selon des niches comme la gencive, la langue, l'estomac, le grêle et le mucus ...etc. (figure 1). L'équilibre écologique de chaque niche est variable ; l'écosystème du colon est le plus abondant et celui qui renferme la plus grande biodiversité (chacun d'entre nous hébergent plus de 100 espèces bactériennes coliques) (**Marteau, 2013**).



**Figure 1** : Répartition du microbiote intestinal (Goulet, 2009).

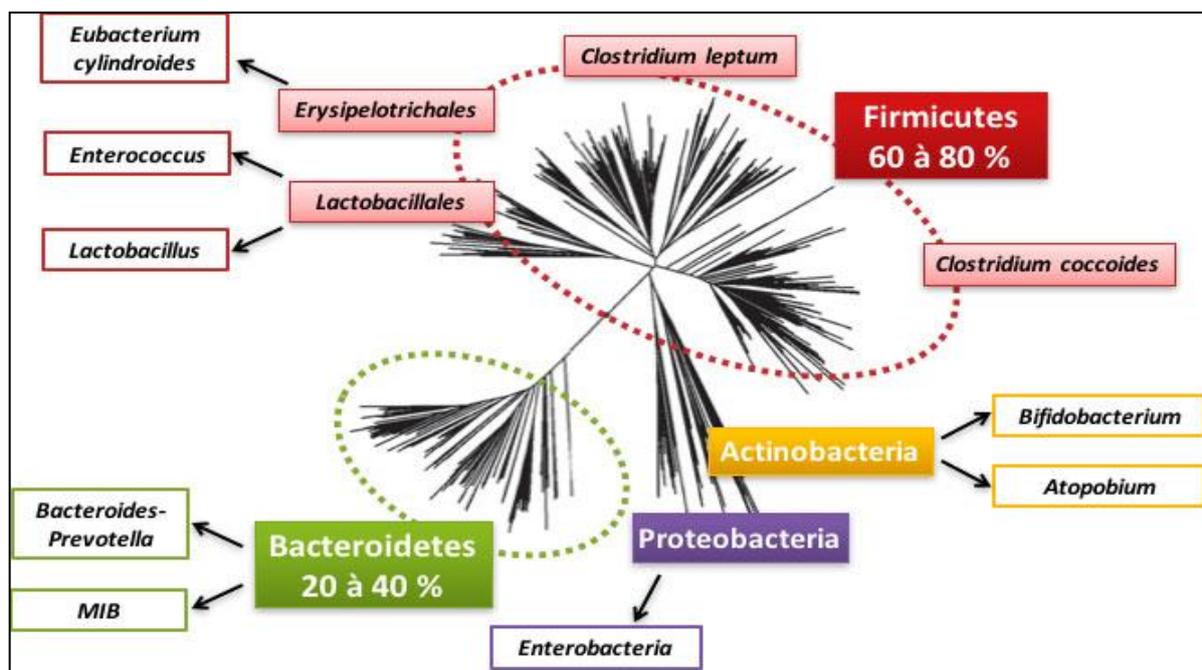
### I.3. Implantation du microbiote intestinal

Tous les microorganismes de l'environnement, d'un être humain ou d'un animal environnant, peut en principe conduire à une colonisation (Doré, 2010). La colonisation microbienne du corps humain commence à la naissance, et augmente après l'accouchement lorsque le bébé entre en contact avec plusieurs communautés microbiennes, dont le microbiote fécal, et cutané de la mère. Ensuite, la composition du microbiote intestinal est influencée par l'âge, le sexe, le développement du système immunitaire et les facteurs environnementaux, devenant plus stable entre 6 et 36 mois, Il est possible de distinguer une flore endogène constante, qui est considérée comme le "microbiote de base", et des bactéries encore provisoires, très sensibles aux perturbations extérieures (Mangiola, *et al.*, 2018).

### I.4. Composition du microbiote intestinal

Elle est principalement constituée de bactéries anaérobies mais aussi de bactéries anaérobies facultatives ou aérobies réparties en quatre phyla bactériens les *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* et *Proteobacteria* (Salonen *et al.*, 2014). Le phylum de *Firmicutes* est toujours fortement représenté, il comprend de nombreuses espèces bactériennes

appartenant au groupe *Clostridium leptum* avec notamment l'espèce *Faecalibacterium prauznitii*. Les bactéroïdètes sont toujours présents et représentés par le genre apparenté Bactéroïdes (Bacteroïde, Prevotella, Porphyromonas); le phylum *Actinobacteria* est moins systématiquement détecté en dominance mais il représente quelques pourcent des bactéries totales par exemple, on retrouve les Bifidobactéries et les Protéobactéries qui sont plus rarement observés dans le microbiote fécale (Quévrain, 2013).



**Figure 2 :** espèces bactérienne appartenant a différents sous-ensembles des groupes bactérienne présent dans le microbiote intestinal.( <https://www.encyclopedie-environnement.org/sante/les-microbiotes-humains-des-allies-pour-notre-sante/>).

### I.5. Fonctions du microbiote intestinal

Le rôle du microbiote intestinal dans la santé humaine retient de plus en plus l'attention depuis que des modifications manifestes de la composition des bactéries ou de l'environnement intestinal sont observées chez les patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin, d'allergies, de maladies auto-immunes et de certaines maladies liées au mode de vie. Un environnement intestinal sain est régulé par l'équilibre acquis du microbiote intestinal, des métabolites et du système immunitaire de l'hôte. Un déséquilibre de ces facteurs chez des personnes génétiquement sensibles peut favoriser un état pathologique (Kataoka, 2016).

L'impact du microbiote intestinal sur la physiologie de l'hôte s'exerce à la fois

localement, où il joue d'importantes fonctions métaboliques et de consolidation de la barrière intestinale, et à l'échelle systémique de l'organisme **(Stedman, 2016)**.

### **I.5.1. Effet barrière et fonctions immunitaires**

De multiples mécanismes de défense et de régulation se sont aussi mis en place pour assurer le confinement des bactéries dans la lumière intestinale, maintenir l'homéostasie intestinale, et permettre la coexistence des deux partenaires **(Routhiau, 2016)**. Les bactéries commensales entrent en compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux avec ces pathogènes. Par ailleurs, le microbiote est capable de stimuler la production de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales **(Landman, 2016)**. Et il produit des bactériocines et aussi de l'acide lactique qui joue un rôle d'inhibiteur. Le microbiote peut induire la production des IgA sécrétoires et favorise le bon fonctionnement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales, ce qui diminue l'invasion par des bactéries pathogènes **(Gong, 2019)**.

En plus de ses propriétés de barrière, le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le développement et la maturation du système immunitaire **(Landman, 2016)**. Un dialogue entre les bactéries et le système immunitaire de l'hôte est initié à la naissance lors de la colonisation microbienne. Cette colonisation induit le recrutement de multiples types de cellules immunitaires qui coopèrent avec l'épithélium intestinal pour construire une barrière capable de confiner les microbes dans la lumière intestinale. Les mécanismes de régulation évitent les réactions inflammatoires délétères qui nuiraient à la fois à l'hôte et à son microbiote **(Routhiau, 2016)**.

### **I.5.2. Fonctions métaboliques**

Les micro-organismes du microbiote peuvent exercer dans l'intestin de nombreuses fonctions de dégradation, transformation ou synthèse **(Marteau, 2013)**.

#### **● Métabolisme des glucides**

Les principales sources d'énergie du microbiote intestinal sont les glucides **(Landman, 2016)** qui sont principalement les polyosides issus des céréales et des fibres alimentaires. Le métabolisme des polyosides aboutit à la production de métabolites fermentaires, qui sont les acides gras à chaîne courte, les gaz, et des micronutriments aux propriétés anti-oxydantes et/ou anti-inflammatoires **(Boushiardes, 2018)**, la dégradation anaérobie est réalisée par les bactéries du microbiote colique dites « fibrolytiques », appartenant principalement aux genres

*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia* (Landman, 2016).

- **Métabolisme des gaz**

L'hydrogène est le gaz qui est majoritairement produit dans le colon, et en grande quantité, lors du processus fermentaire. Son élimination se fait par plusieurs manières (Landman, 2016), soit par voie pulmonaire soit par émission de gaz rectaux. Mais la majorité de l'hydrogène est transformé par des bactéries coliques hydrogénotrophes (Beaugerie et Sokol, 2014). Les trois principaux types de transformation sont : en méthane par les archées méthanogènes, en acétate par les bactéries acétogènes et en sulfures au potentiel délétère par les bactéries sulfatoréductrices (Landman, 2016).

- **Métabolisme des protéines**

La biodégradation des protéines est quantitativement moins importante que celles des glucides mais elle est fondamentale, car les protéines représentent la principale source azotée des bactéries coliques (Landman, 2016). Les espèces bactériennes possédant une activité protéolytique sont les *Bactéroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* (Beaugerie et Sokol, 2014).

- **Métabolisme des lipides**

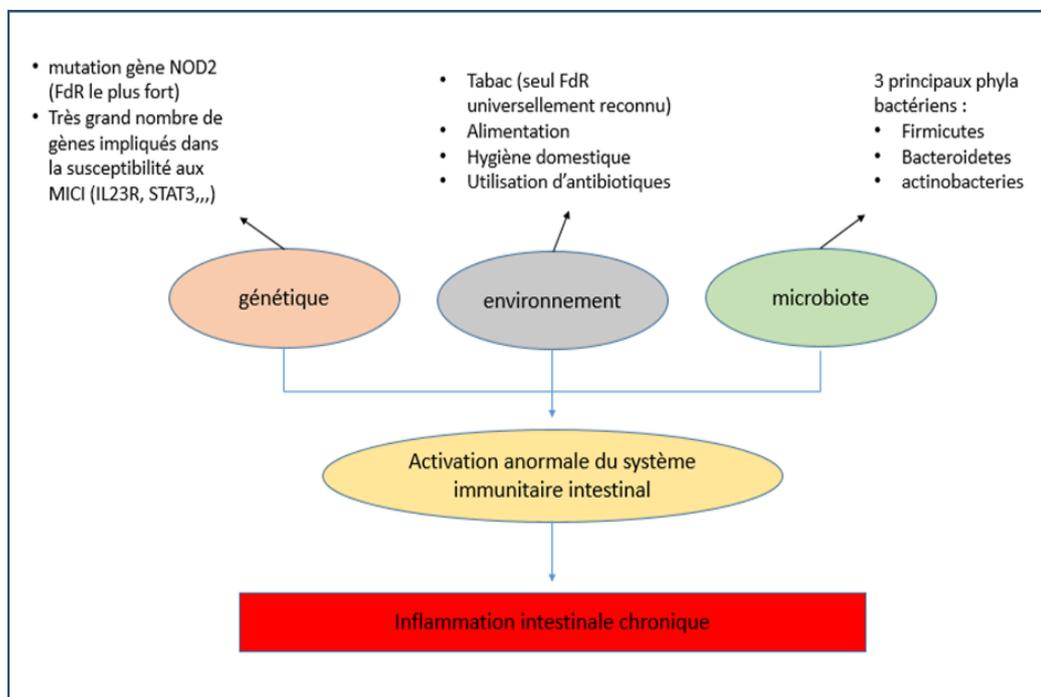
Les lipides de la lumière colique comprennent les lipides non absorbés dans l'intestin grêle, ceux provenant de la desquamation des colonocytes et les lipides bactériens (Landman, 2016). Plusieurs espèces possèdent une lipase qui leur permet d'hydrolyser les triglycérides à chaîne longue. Un régime riche en graisses module la composition bactérienne en faisant varier le ratio *Bacteroides/Firmicutes* (Beaugerie et Sokol, 2014). Le cholestérol colique provient majoritairement de la bile et est convertit par le microbiote en coprostanol (Landman, 2016). De plus le microbiote intestinal est capable de métaboliser les acides biliaires (Beaugerie et Sokol, 2014).

## **II. Maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)**

### **II.1. Généralités**

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) présentent deux phénotypes cliniques principaux : la rectocolite hémorragique (RCH) et la maladie de Crohn (MC) (Sushila, 2014). Les MICI sont des pathologies qui correspondent à une inflammation chronique du système digestif (principalement de l'intestin) dont l'étiologie reste encore

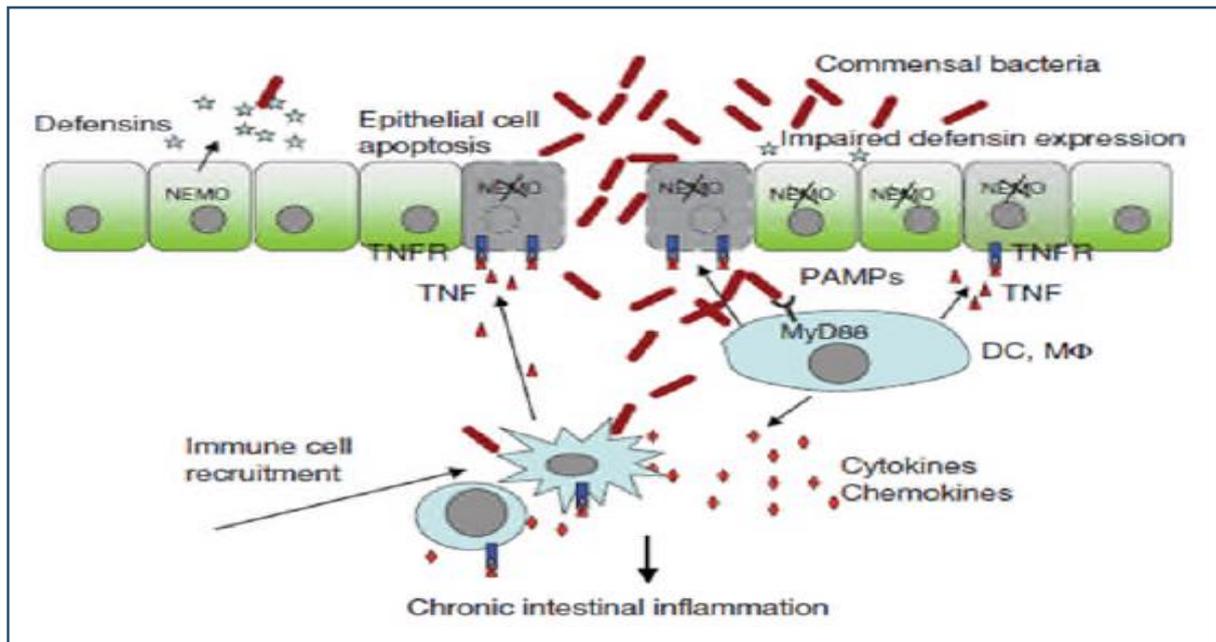
méconnue. Il est communément admis que ce sont des pathologies multifactorielles complexes. Différentes études ont démontré l'application, en proportions variables, des facteurs génétiques, environnementaux et un rôle du microbiote intestinal dans la survenue de ces pathologies (**Kolten., 2016**). Ces facteurs sont représentés dans la figure 3.



**Figure 3 :** Facteurs influençant l'apparition des MICI (Kokten, 2016).

## II.2. Pathogenèse des MICI

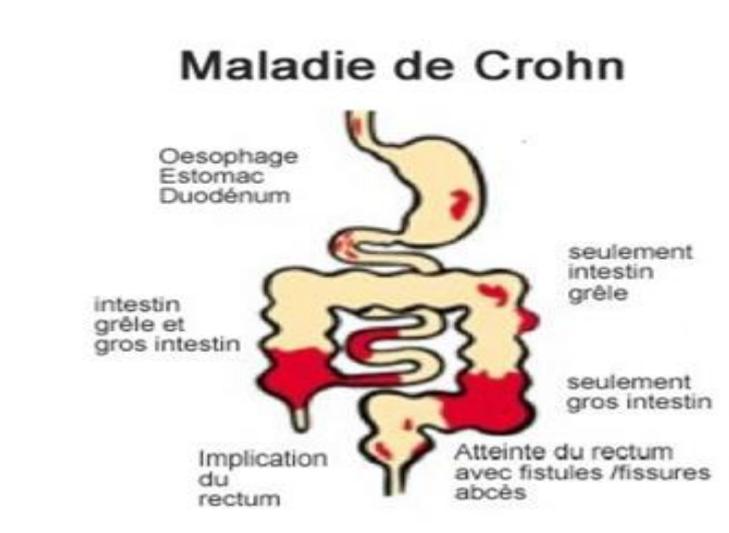
Des défauts au niveau de la barrière intestinale auront pour conséquence une activation excessive du système immunitaire muqueux, puis l'apparition d'une inflammation chronique. Les cytokines pro-inflammatoires, les cellules épithéliales, les cellules mésenchymateuses et les macrophages vont synthétiser des cytokines pro-inflammatoires comme IL-8, IL-8 $\beta$  et IL-6 au lieu de TGF- $\beta$  et de PGF. Ainsi, contrairement à ce qui se passe dans la muqueuse saine, l'action conjointe de ces cytokines pro-inflammatoires et des antigènes pathogènes reconnus par les cellules dendritiques induiront la maturation complète de celle-ci. Après migration vers les ganglions lymphatiques mésentériques, les cellules dendritiques matures synthétiseront un fort taux d'IL-2 pro-inflammatoire au lieu d'IL-10 et la différenciation des LT CD4-naïfs en lymphocytes T effecteurs LTh1, LTh2 et LTh17. Pour finir, ces LT effecteurs vont amplifier l'inflammation en sécrétant à leur tour des cytokines pro-Inflammatoires (**Kokten, 2016**). Ces mécanismes sont représentés dans la figure 4.



**Figure 4 :** Mécanismes physiopathologiques impliqués dans les MICI (Nenci *et al.*, 2007).

### II.2.1. Maladie de Crohn (MC)

La maladie de Crohn est une maladie inflammatoire chronique du tractus gastro-intestinal dont les symptômes évoluent de manière récurrente et rémittente. Il s'agit également d'une maladie progressive qui entraîne des lésions intestinales (Torres, 2016). Elle est caractérisée par une inflammation chronique de la paroi intestinale et parfois des manifestations extra intestinales, la MC peut survenir à n'importe quel endroit du tube digestif, de la bouche à l'anus (Lainé, 2015). Les principaux symptômes décrits sont un retard de croissance staturopondéral chez l'enfant, des douleurs abdominales chroniques, une diarrhée chronique, une perte de poids, une fatigue chronique, des lésions anales (fissures, fistules, abcès) avec un risque de complications à type de sténose, fistule et cancer colique (figure 5) (Altwegg, 2020).



**Figure 5** : Atteintes intestinales dans la maladie de Crohn (Rasenack, 2010).

### II.2.2. Rectocolite hémorragique (RCH)

La RCH est une maladie chronique qui touche le colon plus au moins dilaté à proximité des lésions sténosantes (Gratama, 2009). Elle se caractérise par une inflammation superficielle de la muqueuse (Conrad, 2014) limitée au colon, qui commence dans le rectum et s'étend vers le haut de façon continue et circonférentielle (Sushila, 2014). Parmi ses symptômes : des saignements rectaux, des diarrhées, une douleur abdominale, fièvre, anorexie, perte de poids, fatigue et sudations nocturnes (Conrad, 2014). En fonction de son extension, on définit trois types de RCH : la pancolite qui correspond à une atteinte de la muqueuse de la totalité du colon, la rectocolite gauche où l'inflammation ne dépasse pas l'angle colique gauche, et la recto-sigmoïdite qui atteint le rectum et le colon sigmoïde; elle est représentée dans la figure 6 (Huttenhower, 2014).

## Colite ulcéreuse



**Figure 6 :** Localisation des atteintes intestinales dans la maladie de la rectocolite hémorragique (RCH) (Rasenack, 2010).

### II.3. Traitement des MICI

Il n'existe pas de traitement curatif des MICI, mais les médicaments anti-inflammatoires actuels permettent dans la grande majorité des cas le contrôle durable de la maladie, pendant plusieurs années associées à une qualité de vie satisfaisante.

#### II.3.1. Traitements anti-inflammatoires

Ces traitements ont pour objectif de traiter les poussées de la maladie (diarrhée, douleurs abdominales...) et de prévenir ses rechutes et ses complications, on cite

- Les aminosalicylés ;
- Les corticoïdes ;
- Les immunosuppresseurs ;
- L'immunothérapie (anti-TNF $\alpha$ ).

#### II.3.2. Traitements non médicamenteux

Bien qu'ils montrent une efficacité relative chez de nombreux patients, ils peuvent être associés à des effets secondaires majeurs qui limitent leur utilisation, ces derniers ont favorisé le développement de stratégies thérapeutiques qui peuvent être utiles.

- Les probiotiques

Sont des micro-organismes vivants (bactéries ou levures, notamment ferments lactiques)

de préférence d'origine humaine ; qui sont ingéré en quantité suffisante, ont un effet bénéfique sur la santé en améliorant l'équilibre du microbiote intestinal. (**Casselli, 2013**).

- Les prébiotiques

Un prébiotique est constitué de fibre alimentaire qui stimule sélectivement la croissance et/ou l'activité des bactéries intestinales et est potentiellement associé à la santé et au bien-être de l'hôte. Ils ont un effet sur la modulation du microbiote intestinal (**Enam et Mansell, 2019**).

- La transplantation fécale (FMT)

La transplantation du microbiote fécal (FMT) est une technique qui consiste à administrer les selles d'une personne de bonne santé dans le tube digestif d'un patient malade (**Kolho, 2015**). Elle est considérée comme étant la plus extrême intervention sur le microbiote intestinal.

### **II.3.3. Traitements chirurgicaux**

Ils sont nécessaires pour les malades résistants à un traitement bien suivi, ou encore suite à l'apparition de complications. Il n'entraîne pas une guérison définitive pour la MC, donc il ne doit pas être considéré comme un traitement de première intention, mais comme solution imposée par l'échec de traitement médical. Pour la RCH, l'ablation du colon et du rectum permet de guérir. Le but du traitement chirurgical consiste à retirer le colon du malade tout en préservant une continence (**Ray et Sagar, 2017**).

## **III. Interaction entre les MICI et le microbiote intestinal**

Ces dernières années le microbiote intestinal bien équilibré (eubiose) est devenu de plus en plus évitant pour la santé de l'Homme, l'existence d'une dysbiose est ainsi une caractéristique des patients atteints des MICI (**Rahmouni, 2016**).

### **III.1. Dysbiose**

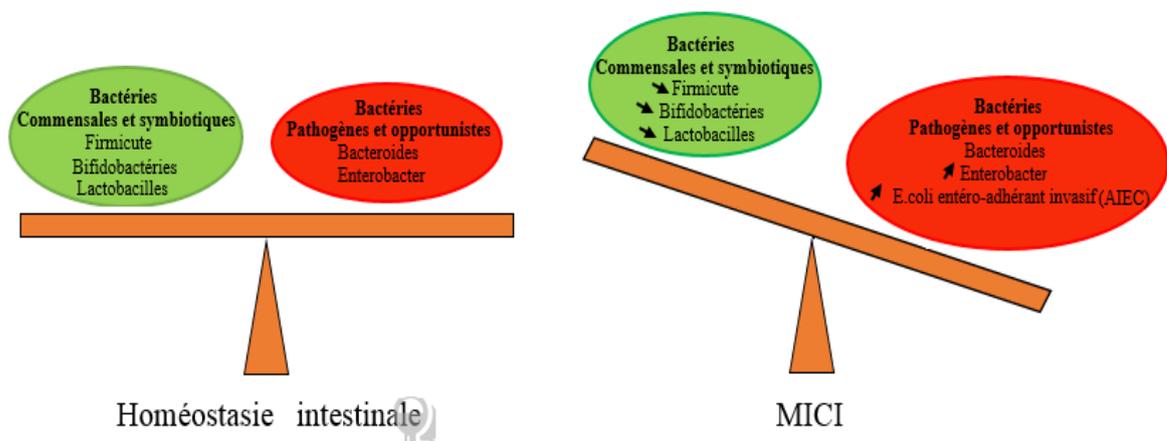
L'étude de microbiote intestinale des patients atteints de MICI par la technique de culture ou par analyse moléculaire a permis de mettre en évidence une dysbiose généralisée ou localisée (**Seksik, 2010**), qui correspondent à une altération de l'équilibre de la microflore normale, cette dernière peut avoir plusieurs origines telle que l'alimentation riche en graisse en sucre et pauvre en fibres, une rupture brutale de l'équilibre à la suite d'une gastro-entérite

aigue ou induite par antibiothérapie et une accumulation dans la petite enfance d'évènements qui interfèrent avec l'établissement de l'eubiose intestinale (**Rahmouni, 2016**).

La dysbiose est caractérisée par une réduction de la biodiversité bactérienne, une population bactérienne plus faible aux propriétés anti-inflammatoires et /ou une augmentation de bactéries aux propriétés pro-inflammatoires (figure 7) (**Quévrain et al., 2015**).

En effet, chez les patients atteints de MICI, on retrouve une diminution des bactéries de phylum des *firmicutes* et notamment une baisse significative de l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* Produisant le butyrate (anti-inflammatoire) qui pourrait avoir un rôle pro-inflammatoire dans la MC ; au profit d'une augmentation du phylum *Bactéroïdetes* et de *Proteobactéria* notamment des entérobactéries en particulier *Escherichia coli* adhérent-invasif (AIEC). Cette dernière est la caractéristique commune des modèles expérimentaux de colite et des patients atteints de MICI et qui peut contribuer à la perpétuation de l'inflammation intestinale (**Altwegg, 2020**).

Il a été démontré que les espèces réactives de l'oxygène (ROS) jouent un rôle essentiel dans la pathogénèse des MICI, ayant pour conséquence l'augmentation du niveau d'oxygène intestinal et de ce fait, l'augmentation des bactéries aéro-anaérobies comme *E. coli* et la réduction des bactéries anaérobies strictes qui jouent un rôle important dans le système immunitaire (**Osaka et al., 2017**).



**Figure 7 :** Schématisation du déséquilibre du microbiote intestinale au cours des MICI (Kokten, 2016).

### III.2. Microorganismes pathogènes présents chez les patients atteints des MICI

De nombreuses études, utilisant les techniques moléculaires ont retrouvé des modifications du microbiote des patients atteints des MICI par rapport à la population générale (Altwegg, 2020). Les agents impliqués dans la pathologie des MICI, sont résumés dans le tableau I.

**Tableau I :** Microorganismes présents chez les patients atteints des MICI (Carding, 2015, Altwegg, 2020).

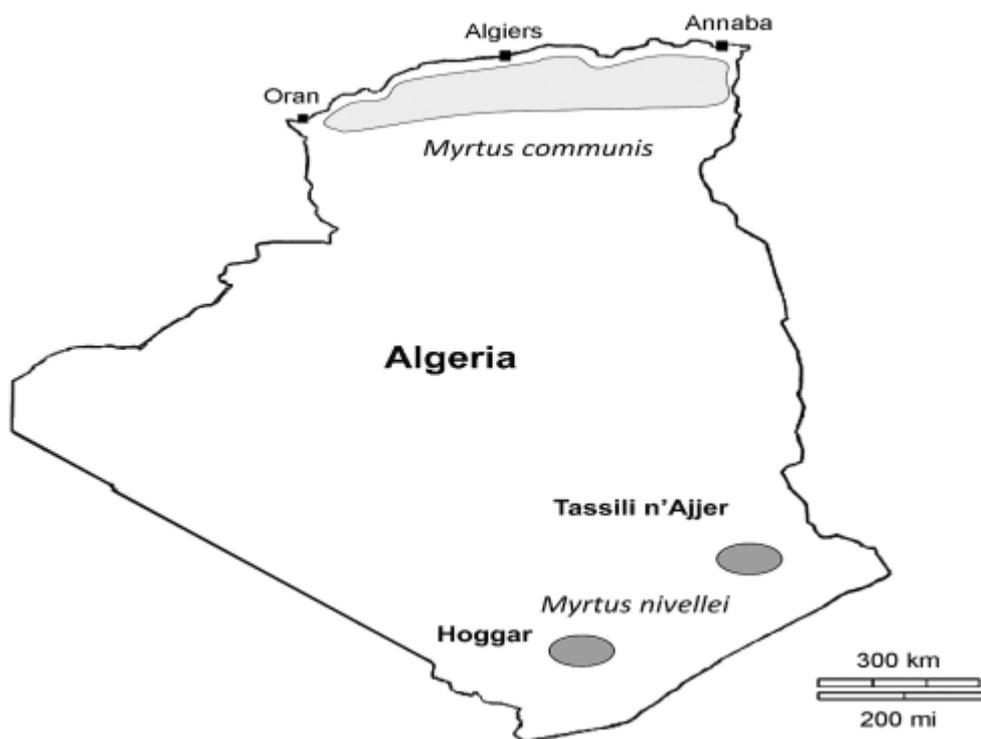
Bactéries en abondance (augmentée)	Bactéries en abondance réduite
Enterobacteriaceae (AIEC)	Erysipelotrichales
Pasteurellaceae	Bacteroidales
Veillonellaceae	Clostridiales ( <i>Faecalibacterium prantizzi</i> )
Fusobacteriaceae	Ascomyta ( <i>Saccharomyces cervisiae</i> )
Basidiomycota ( <i>Candida albicans</i> )	

## Chapitre II : *Myrtus communis*.

### II.1. Généralités

*Myrtus communis* L est une plante médicinale endémique de la région méditerranéenne, elle est utilisée par les habitants pour ses propriétés culinaires et médicinales depuis l'antiquité (Aleksic, 2014).

Le genre *Myrtus* L comprend les deux espèces *Myrtus communis* connue sous le nom Myrtus commun qui pousse à l'état sauvage tout autour du bassin méditerranéen et *Myrtus nevillei* BATT qui est connue sous le nom de Myrtus saharien que l'on trouve dans le Sahara central. L'Algérie est le seul pays qui abrite ces deux espèces sa répartition est représentée dans la figure 8 (Bouzabata, 2016).



**Figure 8 :** Distribution de *Myrtus communis* en Algérie (Bouzabata, 2016).

## II.2. Description botanique

*Myrtus communis* L est un arbuste à feuilles persistantes que l'on peut trouver à des altitudes allant jusqu'à 1000 mètres au-dessus du niveau de la mer. Il s'adapte aux sols siliceux et calcaires, le myrte à une tige érigée de 2,4-3 mètres de haut, ses branches forment une tête plane, étroite, dansement couverte de feuilles brillantes, glabres, coriaces, jumelées, ovales avec un rigide lancéolé, acuminées de 2,5-8 mm de longueur (Bouzabata, 2016).

La floraison peut commencer de mai à juin et s'étend jusqu'à août sous forme de fleurs blanches, odorantes, aux pétales d'un blanc étalant touchée de rose, les fruits sont ellipsoïdes à subglobuleux, pyriformes, allongés ou plats et de couleur bleue-noire, les graines sont nombreuses avec irrégularité de forme et de taille (Jabri, 2018). Ces différentes parties sont présentées dans la figure 9.



**Figure 9 :** *Myrtus communis* (A) : feuilles (B) : jeunes fleurs et fruit immature (C) : fruit mature (D) : graines (Jabri, 2018).

## II.3. Application des différentes parties de *Myrtus communis* dans la médecine traditionnelle

Les différentes parties du myrte ont traditionnellement des applications spécifiques qui sont résumées dans le tableau II :

**Tableau II :** Application des différentes parties de *Myrtus communis* (Aleksic, 2014).

Parties	Photos	Applications
Feuilles		<p>Préparation des liqueurs, assaisonnement de la viande et des sauces, parfum et préparation cosmétique tonique et stimulant pour les cheveux, utilisation par voie orale comme antiseptique, anti-inflammatoire, laxatif, analgésique, agent hémostatique et en externe pour la cicatrisation des plaies.</p>
Fruits		<p>Préparation des liqueurs, assaisonnement de la viande et des sauces, utiliser par voie orale pour les maladies infectieuses tels que la diarrhée, la dysenterie et pour l'usage externe pour les maladies de la peau et la cicatrisation des plaies.</p>
Bronches		<p>Utilisées comme remède pour l'asthme l'eczéma, le psoriasis, la diarrhée, les désordres gastro-intestinaux et les infections urinaires administré par voie orale.</p>

Fleurs		Utilisées contre les varices et pour la préparation de lotions capillaires pour l'usage externe
--------	---	---

#### II.4. Activités biologiques

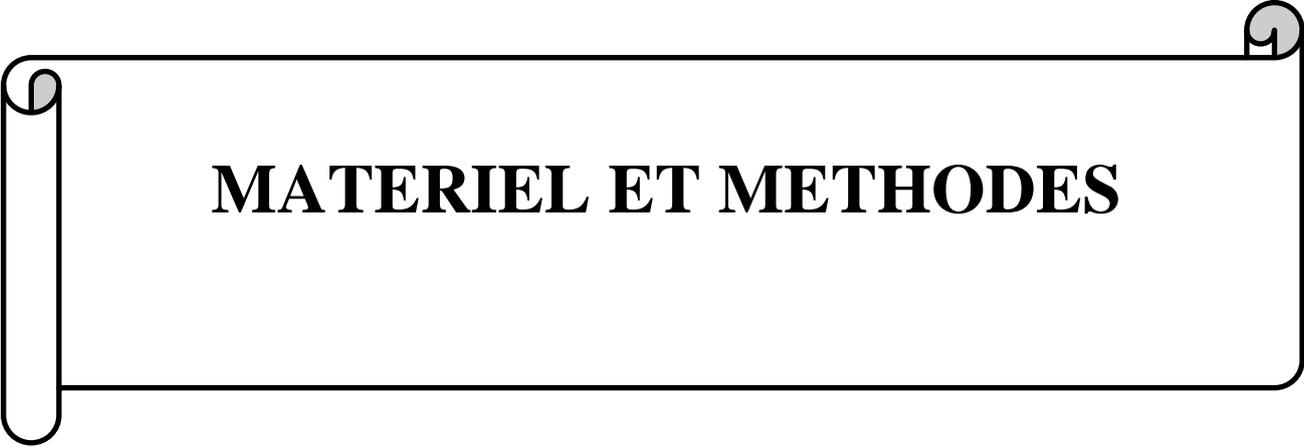
Les extraits et les produits dérivés de *Myrtus communis* sont des sources précieuses qui sont largement utilisées pour traiter un large éventail de maladies causées par des agents pathogènes bactériens et fongiques (Mir, 2020). Ces activités sont résumées dans la tableau III et IV.

**Tableau III :** Activités biologiques de *Myrtus communis*.

Activité biologique	Type d'extraits et la partie de plante	Les références
Activité antimicrobienne	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Huiles essentielle de myrte</li> <li>• Extraits hydroalcoolique de feuille</li> <li>• Huile essentielle de feuille</li> <li>• Extrait aqueux de feuille</li> <li>• Extrait de méthanol</li> <li>• Extrait brut</li> </ul>	Aleksic, 2014
Activité antifongique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Huile essentielle de myrte</li> </ul>	Aleksic, 2014
Effet anti-diarrhéique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Graines de baies de myrte</li> </ul>	Jabri, 2018
Activité antioxydante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraits de baies</li> <li>• Extrait de feuille</li> </ul>	Alipour, 2014
Activité anti-inflammatoire	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'huile essentielle de myrte</li> <li>• Extrait éthanolique</li> </ul>	Alipour, 2014 Ozcan, 2020

**Tableau IV** : Propriétés biologiques attribuées à *Myrtus communis* (Hennia ,2018).

Partie utilisée	Composées	Propriété biologique
Feuilles	Non reporté	<i>Bacterial vaginosis</i>
Feuilles	Non reporté	<i>Propionibacterium acnes</i>
Feuilles	Non reporté	Cent vingt souches d' <i>Escherichia coli</i> isolées de la culture d'urine
Feuilles	Non reporté	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Feuilles	Non reporté	<i>Aeromonas hydrophilica</i> isolé à partir de quatre cent cinquante échantillons provenant des intestins des poissons <i>Cyprinus carpio</i> infectés
Feuilles	Non reporté	Quatre-vingt-seize souches de <i>P. aeruginosa</i> isolées à partir de 400 patients brûlés (hommes et femmes) dans un hôpital iranien
Feuilles	Galloylated nonprenylated phloroglucinol glucosides: Gallomyrtucommulone A Gallomyrtucommulone B Gallomyrtucommulone C Gallomyrtucommulone D	Souche de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 don de E. Udo(Kuwait) <i>S. aureus</i> RN4220 contenant le plasmide pUL5054, qui porte le gène codant pour la protéine d'efflux des macrolides MsrA. La protéine d'efflux des macrolides MsrA, fourni par J. Cove <i>S. aureus</i> XU-212 qui possède la protéine TetK d'efflux des tétracyclines, fourni par E. Udo <i>S. aureus</i> SA-1199B, qui surexprimé le gène norA codant pour la protéine d'efflux NorA MDR Protéine d'efflux, fournie par G. Katz <i>S. aureus</i> EMRSA-15 est une souche épidémique de MRSA don de P. Stapleton, Université de Londres



**MATERIEL ET METHODES**

## Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de biotechnologie végétale et ethnobotanique et du laboratoire de Microbiologie I au sein de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Bejaia, durant la période allant de Mai à Juillet 2021.

### I. Matériel utilisé

#### I.1. Matériel biologique

##### I.1.1. Matériel végétal

La présente étude a été réalisée sur la partie aérienne de la plante de *Myrtus communis* (feuilles). Cette plante a été récoltée dans la wilaya de Jijel en mai 2021 (figure 10), identifiée par le Pr. Mohamed SAHNOUNE dans le laboratoire d'écologie et d'environnement de l'université de Bejaia.



**Figure 10 :** Photo de *Myrtus communis*.

##### I.1.2. Model animal

L'évaluation de la toxicité aigüe et l'étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* a été réalisée sur des souris du laboratoire BALBc (albinos immunodéficients) mâles et femelles (poids de 20-30g) de l'animalerie de la faculté SNV provenant de l'institut pasteur d'Alger.

Ces souris ont été logées à une température de  $25 \pm 2$  °C avec un cycle de lumière /obscurité de 12 h avec un accès et libre à la nourriture et à l'eau (aliment de souris ONAB). Elles ont été marquées deux fois par semaine afin de préserver leur identité dans chaque lot figure 11.



**Figure 11** : Photo des souris BALB/c.

### I.1.3. Souches bactériennes cibles

Des souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif ont été utilisées comme souches cibles pour la mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* (les souches testées sont reportées dans le tableau V).

**Tableau V** : Listes des souches cibles.

Souche	Origine	Gram
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 893	Clinique/ multirésistante aux antibiotiques	Négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603	
<i>Vibrio cholerea</i>	ATCC® 14035	
<i>E. coli</i> 13	Clinique/ Isolée de biofilm/multirésistante aux antibiotiques	
<i>E.coli</i>	ATCC® 25922	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 71	Clinique/ Isolée de biofilm/multirésistante aux antibiotiques	
<i>EPECII</i>	Entéropathogène, isolée de selles de bébé	
<i>E. coli</i> O29mcr1	Clinique/ résistante à la colistine <i>mcr1</i> positive	
<i>Salmonella Typhi</i>	ATCC14028	Positif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 29212	
<i>Staphylococcus aureus</i> LGA251	Resistante à la méthicilline (SARM)	

### I.1.3. Matériel analytique

Les réactifs, les milieux de culture et le matériel utilisé au cours de cette étude sont rapportés dans l'annexe I.

## II. Méthodes

### II.1. Extraction éthanolique de *Myrtus communis*

Les feuilles de la plante médicinale de *Myrtus communis* ont été séchées de manière naturelle dans l'obscurité jusqu'à poids constants puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique en une poudre fine.

L'extrait a été préparé par la méthode d'extraction soxhlet. En bref, 20 g de poudre de feuilles ont été incubés avec 200ml d'éthanol absolu pendant 5 jours dans un extracteur soxhlet (l'extrait a été filtré par le papier wattman) et le filtrat ainsi obtenu a été versé dans des récipients, le filtrat a été laissé à l'étuve à 37°C jusqu'à l'évaporation complète de l'éthanol. (figures 12 et 13).



**Figure 12 :** Photographie du soxhlet.



**Figure 13 :** Photo du filtrat obtenu.

## **II.2. Étude de l'activité anti-inflammatoire intestinale**

### **II.2.1. Evaluation de la toxicité aiguë de l'extrait éthanolique**

Afin d'effectuer ce test, les souris ont été laissées à jeun pendant 18h, puis réparties en 2 lots de 2 souris chacun. Elles ont reçu respectivement deux doses croissantes à raison de 500 et 1000 mg/kg de l'extrait. L'observation a été effectuée pendant 4 heures et après 72h pour évaluer tout changement important de comportement et tout autre symptôme de toxicité.

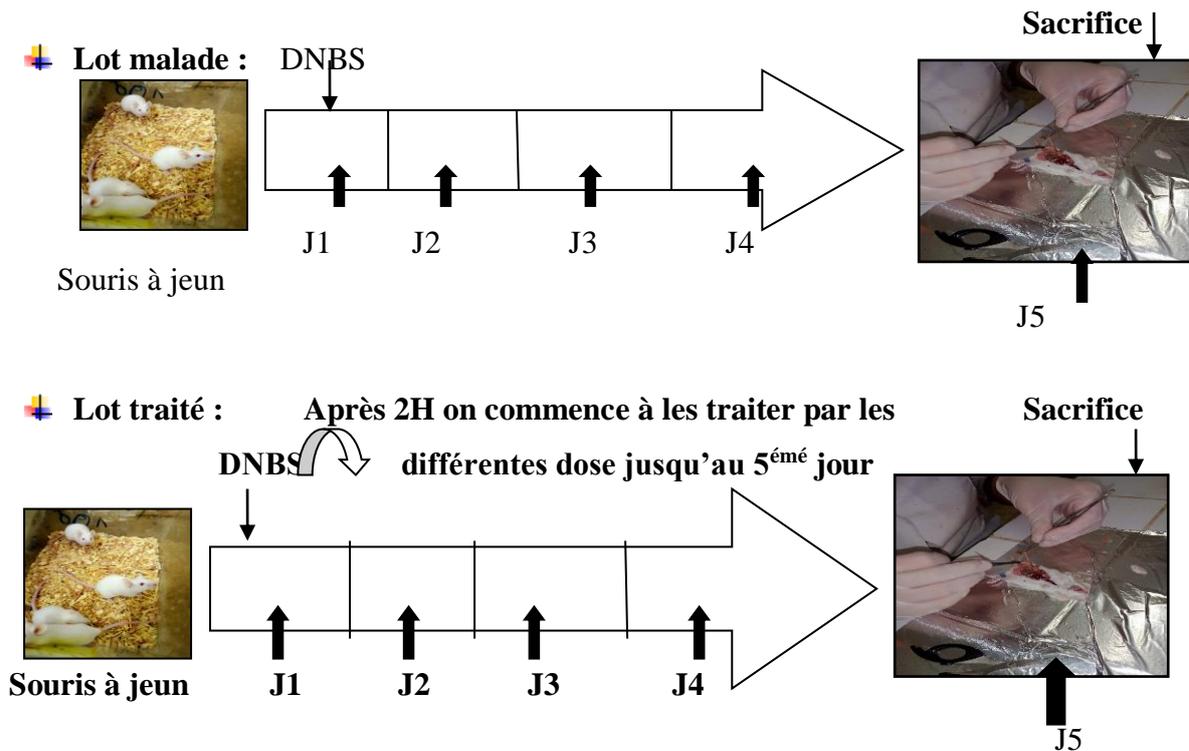
### **II.2.2. Induction de l'inflammation colique par l'acide di-nitrobenzène sulfonique (DNBS) et son traitement**

L'étude expérimentale de l'activité anti-inflammatoire intestinale d'extrait éthanolique de *Myrtus communis* a été réalisée selon la méthode de Martelli *et al.*, 2007 qui consiste à provoquer une inflammation colique via l'administration de 250 mg/ml de DNBS par voie rectale.

Pour ce protocole expérimental :

- 30 souris ont été utilisées, réparties en 5 lots de 6 souris chacun dont un lot sain (non malade), un lot malade non traité et 3 lots malades traités avec l'extrait éthanolique de *Myrtus communis*;
  - Les souris ont été privées de nourriture pendant 18 heures.
  - Après injection du DNBS, les souris sont maintenues dans une position verticale pendant 20s pour limiter l'expulsion de la solution.
  - Après 2 heures d'administration du DNBS, les souris ont reçu les 3 doses de l'extrait (50,100,200 mg/kg) par voie orale une fois par jour pendant 5 jours.
  - Durant les 5 jours du protocole, le changement de poids corporel, la consistance des selles et les saignements ont été observés et notés.
  - Le 5ème jour, après 2 heures d'administration des doses de l'extrait, les souris ont été anesthésiées pour faciliter le sacrifice par dislocation cervicale.
  - Prélever les colons, les nettoyer de la graisse, les peser, et mesurer leur longueur afin de calculer le rapport P /L (poids en gramme et la longueur en cm).

Le protocole suivi est représenté dans la figure ci-dessous (figure 14).



**Figure 14 :** Protocole expérimental d'induction d'une inflammation intestinale aigüe et son traitement avec l'extrait éthanolique de *Myrtus communis*.

### II.2.3. Étude statistique

Les résultats expérimentaux obtenus sont exprimés par GraphPad comme moyenne  $\pm$  SEM. Pour comparer les résultats des lots traités aux résultats du lot malade, des analyses statistiques ont été effectuées grâce au test ANOVA, puis du test Dunett's, avec des significations statistiques de \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

## II.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

### II.3.1. Tests de l'activité antibactérienne sur milieu solide

#### II.3.1.1. Test des puits

Pour la réalisation de tests des puits nous avons suivi la méthode de **Magaldi (2004)**

#### ❖ Préparation des extraits

La solution mère a été préparée en pesant 100mg d'extrait puis en le diluant dans 1ml de mélange eau distillée/éthanol (500ml/500ml), ensuite les différentes dilutions ont été effectuées pour des concentrations finales (C1 : 100mg/ml, C2 : 50mg/ml, C3 : 25mg/ml)

#### ❖ Ensemencement

Des boîtes des Muller Hinton molle (1 % d'agar) de 4mm d'épaisseur ont été ensemencées

par la méthode d'écouvillonnage à partir des suspensions bactériennes standardisées d'environ  $10^8$  UFC/ml.

❖ Réalisation des puits

Des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés à l'aide d'un emporte-pièce (embout), une goutte de gélose blanche a été versée au fond des puits, et on ajoute les différentes concentrations (C1 :100mg/ml, C2 : 50mg/ml, C3 :25mg/ml) avec un témoin négatif qui contient eau distillée/éthanol.

❖ Incubation

Les boîtes ont été incubées à 4°C pendant 4 heures afin de permettre la diffusion des extraits puis à 37°C/18 heures.

### II.3.1.2. Test des disques

Pour le test des disques nous avons suivi la méthode de **Gachekar et al, (2006)**

❖ Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile on dépose sur la gélose MH à 1% d'agar préalablementensemencée des disques vierges et en y ajoutant par dessus 20µl d'extrait de chaque concentration (100mg/ml ,50mg/ml ,25 mg/ml). Le témoin négatif contient 20µl d'eau distillée/éthanol.

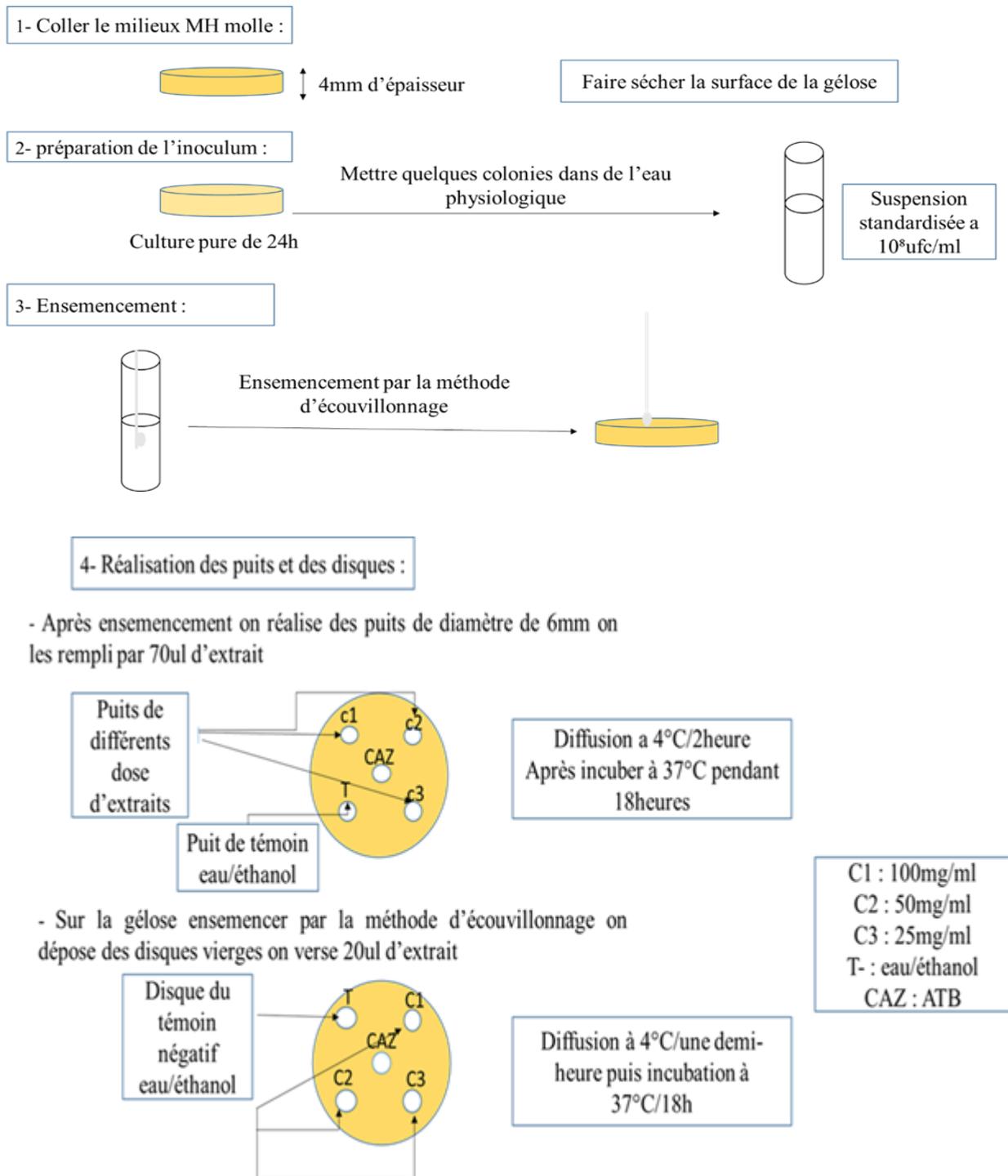
❖ Incubation

Les boîtes ont été incubées à 4°C /30min puis à 37°C/18H.

❖ Lecture

La lecture des résultats de ces deux tests se fait en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits ou des disques.

Le protocole expérimental suivi est représenté dans la figure 15.



**Figure 15 :** Schéma du protocole expérimental suivi pour la détermination de l'activité antibactérienne (tests des puits et des disques).

### II.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu liquide

❖ Standardisation de l'inoculum

Une suspension bactériennes standardisé a  $10^8$  UFC/ml a été dilué par la suite à 1/10. ( $10^7$ UFC/ml).

❖ Préparation de la microplaque :

50  $\mu$ l de bouillon de Mueller-Hinton (MHB) ont été distribué dans les 96 micros cupules que contient la microplaque (12 $\times$  8).

❖ Dilution :

A partir d'une concentration de 100 mg/ml de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis*, 50  $\mu$ l ont été prélevés puis mélangés aux 50  $\mu$ l de MHB contenus 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 (de 100 à 0,39 mg/l). Trois rangées de cupules ne contenant pas d'extrait de myrte sont utilisées comme témoins pour vérifier l'inoculum bactérien.

❖ Ensemencement :

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

❖ Lecture :

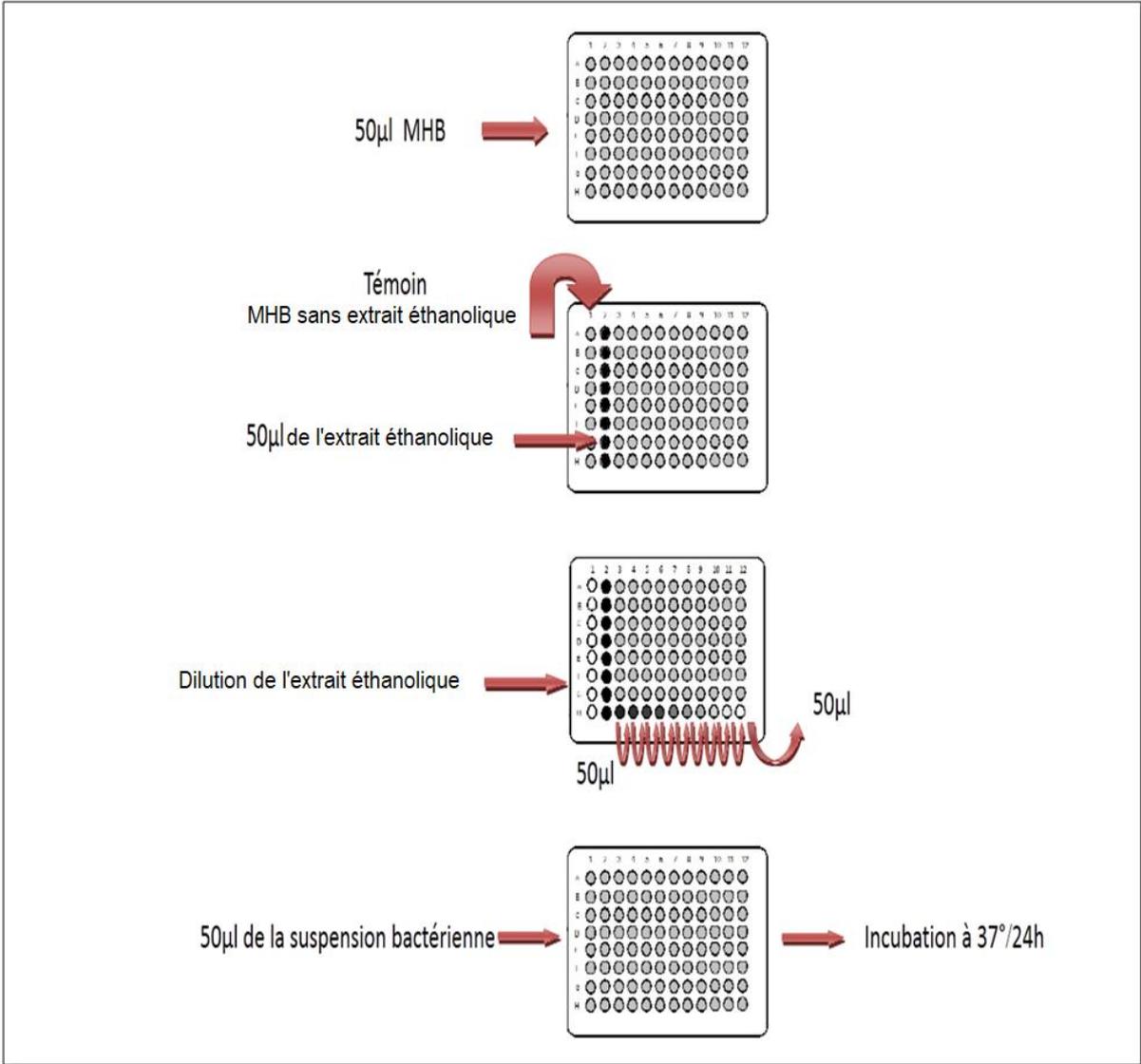
La CMI est la plus faible concentration de l'extrait éthanolique à laquelle aucun trouble n'est observé.

**T1** : témoin 1 (MHB sans Bactérie).

**T2** : témoin 2 (MHB + Bactérie testée, sans l'extrait de myrte).

**T3** : témoin 3 (eau distillée/éthanol + bactérie testée)

Le protocole expérimental suivi est représenté dans la figure 16.



**Figure 16 :** Détermination des CMI par la méthode de micro dilutions sur microplaque (NCCLS,2000).



## **RESULTATS ET DISCUSSION**

## **I. Résultats**

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

#### **I.1.1. Rendement**

En utilisant 20 grammes de la poudre fine obtenue après broyage, l'extraction par l'appareil Soxhlet nous a permis d'obtenir 2.5828 grammes de l'extrait éthanolique. A partir de cette masse nous avons obtenu un rendement de 12.91% en utilisant la formule suivante :

$$R\% = (ME / MMS).100$$

#### **I.1.2. Toxicité aigue**

Aucun signe de toxicité n'a été observé pour les doses de 500mg/kg et de 1000mg/kg. Les souris n'ont présenté aucun changement de comportement et aucune mortalité n'a été enregistrée après 4 heures et 72 heures de l'administration. Ce qui signifie que l'extrait éthanolique du myrte a une DL50 supérieure à 1000mg/kg.

#### **I.1.3. Activité anti-inflammatoire intestinale**

Au cours des 5 jours de l'étude, le lot malade a développé une inflammation caractérisée par une perte de poids corporel, diarrhée, hémorragie et une diminution de la consommation de nourriture et d'eau, contrairement aux lots traités chez lesquels une amélioration générale de leur état clinique a été observée.

L'aspect macroscopique a montré une diminution du poids et l'augmentation de la longueur des colons chez les lots traités en les comparant au lot malade et par conséquent ce lot (malade) a le plus grand rapport P/L du colon en comparaison avec le lot témoin. Les lots traités par l'extrait ont un rapport P/L plus faible et se rapprochent du P/L du témoin. La différence est significative pour la dose 100mg/kg et très significative pour les doses 50 et 200mg/kg, qui indiqueraient une possible diminution de l'inflammation intestinale. Figures 17, 18.

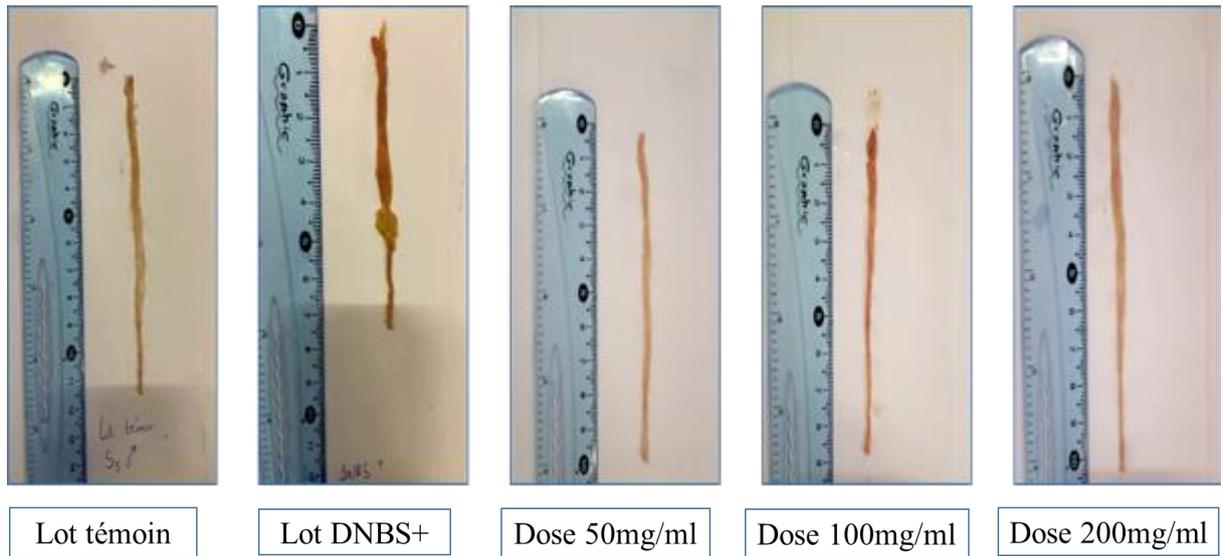


Figure 17 : Longueurs des colons des différents lots.

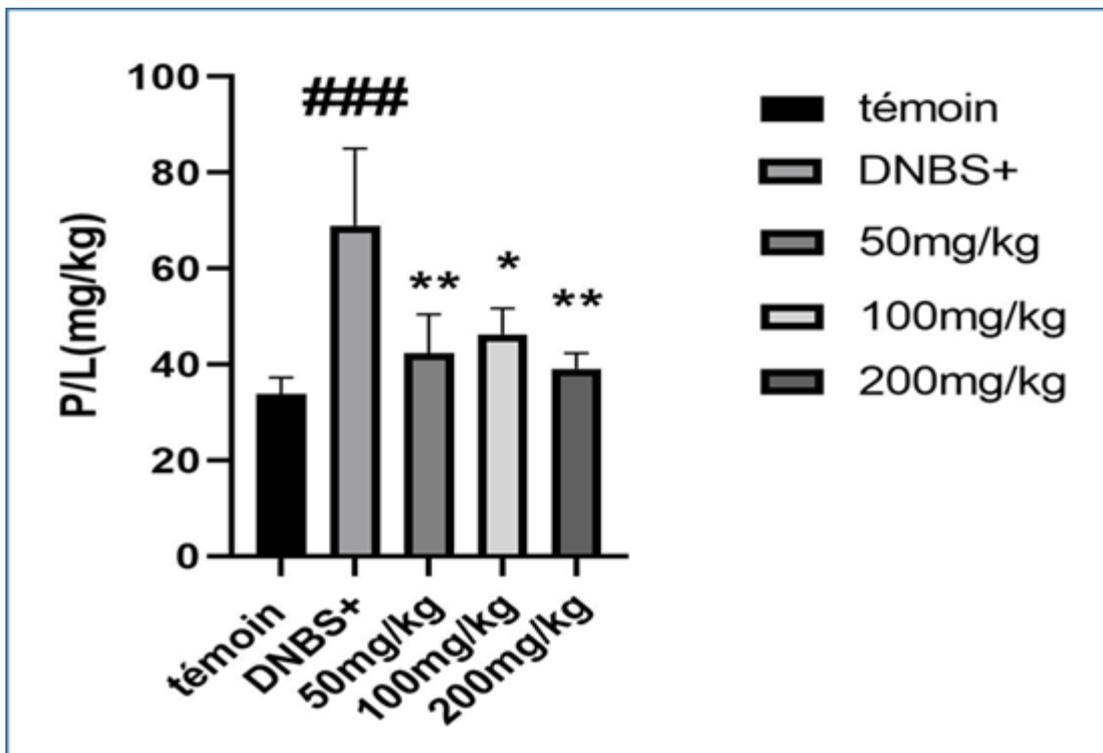


Figure 18 : Effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* (50, 100, 200 mg/kg) sur la variation du rapport P/L dans le modèle de colite induite par DNBS \*différence significative \*\* différence très significative par rapport au DNBS.

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

### I.2.1. Sur milieu solide

Les résultats des tests des puits et des disques sur milieu solide d'extraits éthanolique de *Myrtus communis* (100, 50,25 mg/ml) sont représentés dans le tableau VI et VII et dans les figures (19 et 20) on constate que l'extrait éthanolique présente une activité antibactérienne vis-à-vis de 4 souches parmi les 10 souches testées.

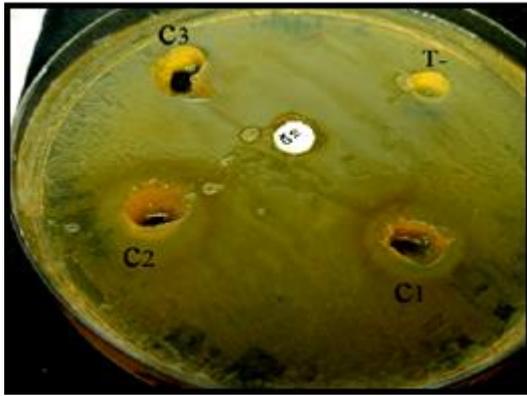
**Tableau VI :** Diamètre des zones d'inhibition obtenue par le test des puits.

Souche	C1 :100mg/ml	C2 :50mg/ml	C3 :25mg/ml
<i>P. aeruginosa</i> 893	<b>14 mm (+)</b>	08 mm	5 mm
<i>Ssalmonella</i> Typhi ATCC 14028	<b>12mm (+)</b>	5 mm	2 mm
<i>E coli</i> O29 mcrI	<b>10 mm (+)</b>	5 mm	3 mm
<i>S.aureus</i> lga251	<b>20 mm (++)</b>	<b>10 mm (+)</b>	5 mm

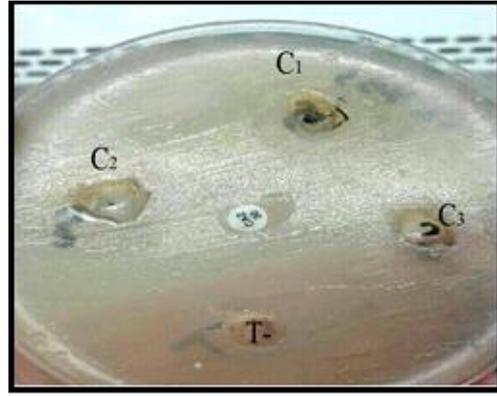
**Tableau VII :** Diamètres des zones d'inhibition obtenues par le test des disques.

Souches	C1=100mg/ml	C2=50mg/ml	C3=25mg/ml
<i>P.aeruginosa</i> 893	<b>15mm (++)</b>	<b>13mm (+)</b>	5mm
<i>S.Typhi</i> ATCC 14028	<b>14mm (+)</b>	8mm	3mm
<i>E.coli</i> O29 mcrI	<b>13mm (+)</b>	<b>10mm (+)</b>	5mm
<i>s.aureus</i> lga 251	NT	NT	NT

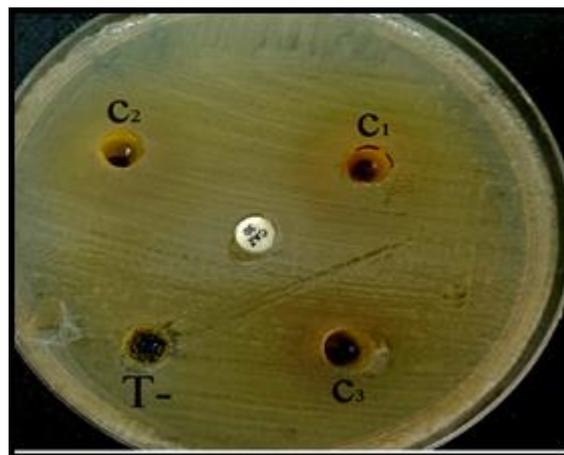
NT : non testées.



A : *Salmonella* Typhi ATCC 14028.

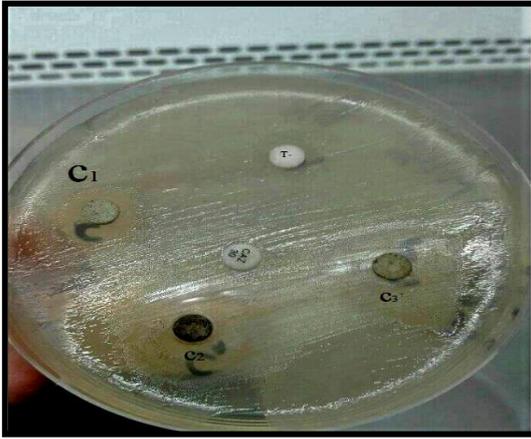


B : *Pseudomonas aeruginosa* 893.

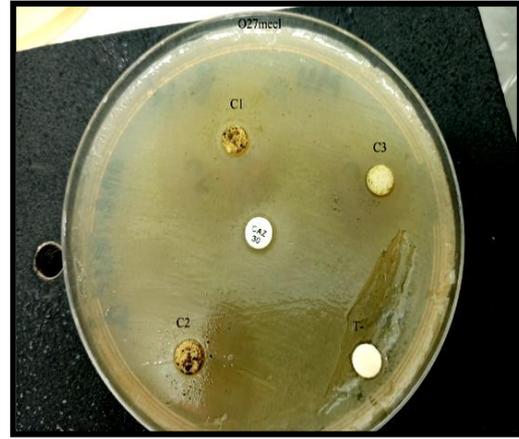


C : *Escherichia coli* O29 mcrI.

**Figure 19** : Résultats du test des puits.



D : *P. aeruginosa* 893.



E : *E. coli* O29mcrI.



F : *S. Typhi* ATCC 14028.

Figure 20 : Résultats du test des disques

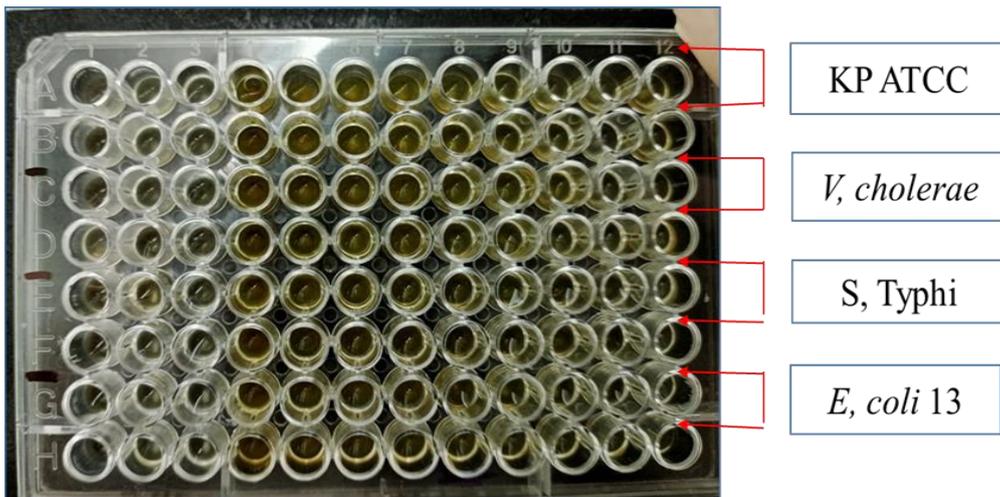
### III.2.2. Sur milieu liquide

Les résultats du test de micro dilution sur milieu liquide des souches cibles pour l'extrait éthanolique (100mg/ml) sont reportés dans le tableau VIII et dans la figure (21).

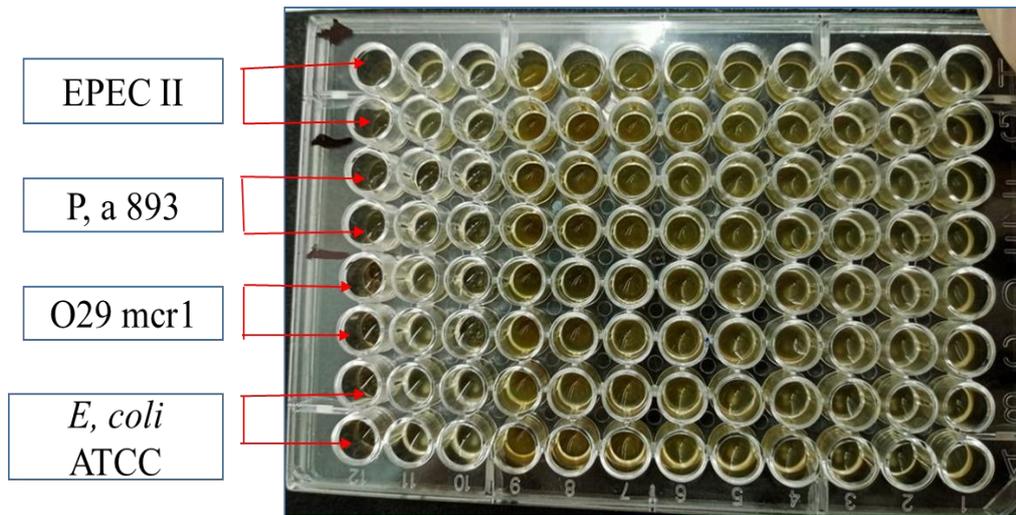
On constate que de même pour le test des puits et des disques, l'extrait éthanolique est doté d'une activité contre les souches, *Staphylococcus aureus* LGA 251 avec une CMI de 3.125 Mg/L. suivie de *Pseudomonas aeruginosa* 893, *Salmonella Typhi* ATCC 14028, *E. coli* O29mcrI avec une CMI de 6.25 Mg/L.

**Tableau VIII** : Résultats des CMI des souches cibles pour l'extrait éthanolique (100mg/ml).

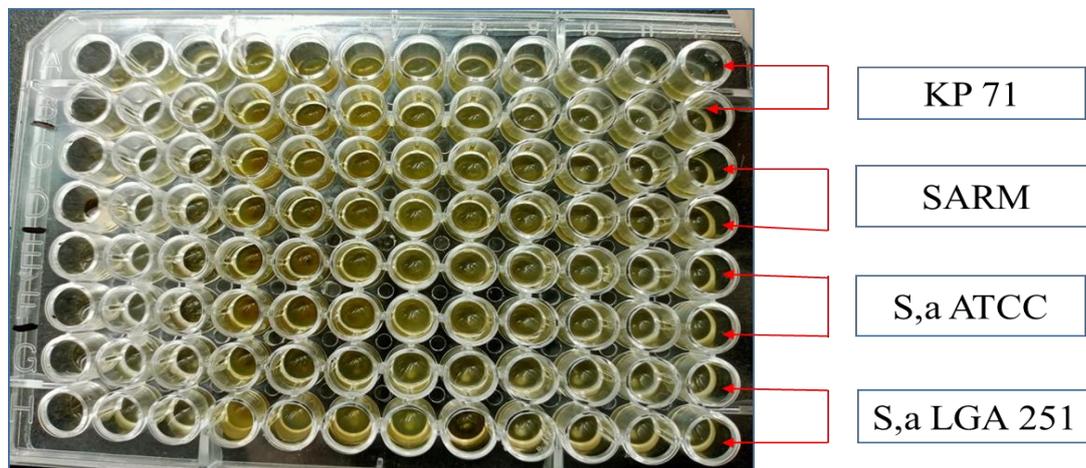
Souches	CMI (mg/L)	Souches	CMI (mg/L)
<i>P. aeruginosa</i> 893	6.25	<i>EpecII</i>	50
<i>K.pneumoneae</i> 71	25	<i>S.Typhi</i> ATCC 14028	6.25
<i>E-coli</i> 13	25	<i>S aureus</i> ATCC 29212	25
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12.5	<i>k.pneumoneae</i> ATCC 700603	25
<i>V.cholerea</i> ATCC 14035	50	<i>E-coli</i> O29mecl	6,25
<i>S.aureus</i> lga251	3.125		



A : CMI de *K. p* ATCC 700603; *V. cholerae* ATCC 14035; *S. Typhi* ATCC 14028; *E. coli* 13.



**B** : CMI de EPECII ; *P. aeruginosa* 893, *E. coli* O29mcrI ; *E. coli* ATCC25922.



**C** : CMI de *Kp 71*, SARM, *S.aureus* ATCC 29212, *S.aureus* LGA 251.

**Figure 21** : Résultats du test de micro dilutions sur microplaque.

## II. Discussion

*Myrtus communis l* est une plante médicinale appartenant à la famille des *Myrtaceae*. C'est l'une des plantes les plus populaires utilisées en médecine traditionnelle (**Bouzabata, 2016**), Les composants les plus dominants dans sa structure sont l'eucalyptol, linalol a pinène, a terpène, limonène et l'acétate de géranyle. (**Ozcan, 2020**).

D'une part, l'effet anti-inflammatoire intestinal de l'extrait éthanolique des feuilles de *Myrtus communis l* a été examiné après l'induction de la colite par l'acide di nitrobenzène sulfonique (DNBS) qui permet d'étudier la pathogénèse des déclencheurs associés aux MICI. Ainsi, le DNBS induit un degré substantiel d'inflammation et des lésions tissulaires dans le colon ressemblant à la maladie de Crohn humaine, en terme de divers caractéristiques histologiques y compris l'infiltration des macro polynucléaires et l'activation Th1 prédominante ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité épithéliale (**Morapmpudi, 2014**).

Dans notre étude, l'observation macroscopique de la forme des colons a montré que l'administration du DNBS provoque une inflammation caractérisée par la rougeur, la douleur, la chaleur et le gonflement. Ceci est dû à la formation de foyer inflammatoire qui se traduit par une succession d'événements dont une vasodilatation permettant un flot sanguin massif vers le site inflammatoire ce qui est responsable de la chaleur et la rougeur, l'adhésion des leucocytes a l'endothélium vasculaire, une augmentation de la perméabilité des capillaires permettant aux macromolécules de s'épancher conduisant la douleur, progression des leucocytes vers le foyer inflammatoire par diapédèse, une fois arrivées aux site de l'inflammation les cellules phagocytaires sont activées et produisent massivement des médiateurs pro inflammatoires permettant le recrutement cellulaire (**Marta et al., 2017**). Ce qui explique les observations des dégâts macroscopiques engendrés par le DNBS (comme le gonflement des colons et la rougeur) sur les colons des souris traitées et l'augmentation du rapport P/L.

Par ailleurs, chez les souris traitées avec l'extrait éthanolique de myrte, on a constaté une amélioration de leur état clinique avec des lésions moins importantes, et leur poids corporel qui augmente au cours de l'étude. De plus, après le sacrifice, l'aspect macroscopique de leurs colons a montré une atténuation de l'inflammation avec un P/L plus proche de celui du lot témoin.

L'étude statistique a montré que l'extrait éthanolique de myrte a un effet anti-inflammatoire intestinal très significatif pour les doses 50mg/kg et 200mg/kg et significatif

pour la dose 100mg/kg. On pourrait alors dire que le traitement avec la dose 200mg/kg a une meilleure activité anti-inflammatoire. Cette activité associée à l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* pourrait être expliquée par la présence des flavonoïdes, tanins hydrosolubles, et les acylphloroglucinols non prénylés (Ozcan, 2020). Des travaux ont montré que cette plante pourrait avoir un effet stabilisateur de membrane qui réduit la perméabilité des capillaires et/ou des effets inhibiteurs sur la libération des médiateurs (Hosseinzdah, 2011).

A notre connaissance, ces travaux constituent une première étude sur l'effet inflammations intestinales d'extrait éthanolique *Myrtus communis*.

D'autres des travaux réalisés par Ozcan, 2020 suggèrent que l'extrait éthanolique des feuilles de *Myrtus communis* a un effet sur les tissus de l'intestin grêle et des poumons après une blessure par brûlure, après analyse biochimique, tous les effets indésirables de la blessure thermique se sont inversés de façon remarquable sur les dommages oxydatifs et la réponse antioxydante, ceci est dû aux composés phénoliques trouvés dans cette plante.

L'effet anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanoliques des parties aériennes de *Myrtus communis l* a été étudié par Hosseinzadeh *et al.*, 2011, en utilisant des tests d'œdème d'oreille et de boulettes de coton induits par le xylène, les extraits ont montré une activité significative contre l'inflammation aiguë. Les extraits éthanoliques (0.05g/kg) ont montré des effets anti-inflammatoires contre l'inflammation chronique. Cette activité a été mesurée par la production de métabolites de la 6-céto-prostaglandines F1 et l'acide arachidonique dans les kératinocytes stimulés pour l'inflammation, a révélé que l'extrait diminuait significativement toute production de métabolites provenant des voies cyclooxygénase et de la lipooxygénase. La myrtucommulone (MC) et la semi-myrtucommulone (S-MC) présents dans les feuilles du myrte empêchent la mobilisation du calcium et suppriment la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) qui sont pertinentes pour l'initiation et le maintien des processus inflammatoires (Alipour, 2014).

Les problèmes liés à l'application des antibiotiques, notamment la résistance bactérienne peut conduire à des impasses thérapeutiques et peut provoquer des effets secondaires tels que le déséquilibre du microbiote intestinal. De nouveaux agents antimicrobiens, en particulier ceux qui sont efficaces contre les souches multirésistantes, sont aujourd'hui recherchés, selon ces données, *Myrtus communis l* pourrait donc être une piste intéressante pour une étude plus approfondie en tant qu'agent alternatif potentiel dans le traitement des infections bactériennes. Toutefois, la major partie des études ont été réalisées sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Myrtus communis l*.

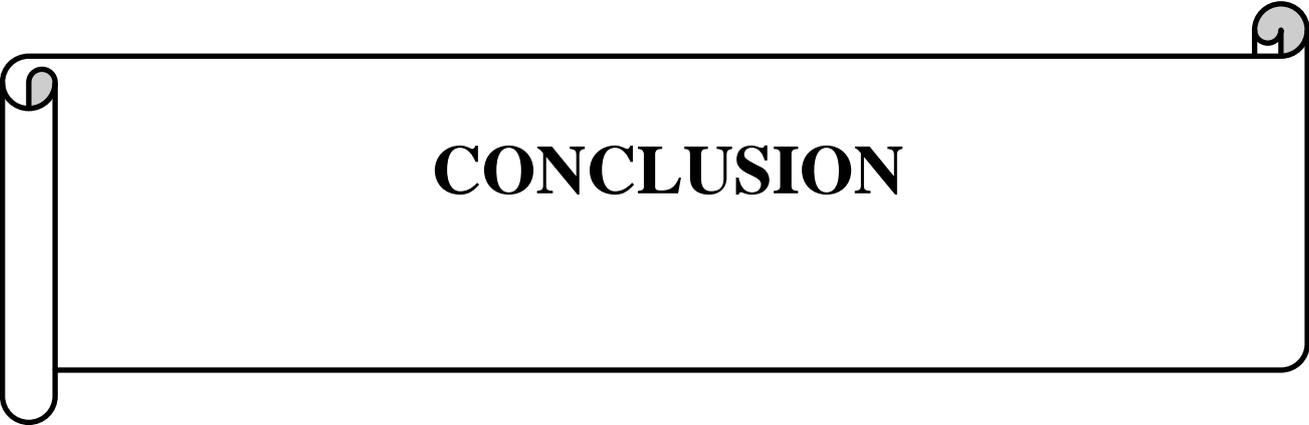
Dans nos travaux, l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique des

feuilles de *Myrtus communis l*, a permis de constater l'inhibition de la croissance de certaines souches bactériennes à savoir *Staphylococcus aureus* LGA251 résistante à la méticiline suivie de *P.aeruginosa 893* et *E.coli O29mcrI*, qui sont des souches cliniques et multirésistantes et de *Salmonella Typhi ATCC 10428* avec des diamètres de 20mm, 14mm, 10mm, 12mm respectivement obtenus par la méthode des puits. Ces résultats ont été confirmés par le test des disques avec des zones d'inhibition plus claires 15mm, 14mm, 13mm, respectivement pour la dose 100mg/ml et pour la dose 50mg/ml (13mm ; 10mm). Cette activité a été approuvée par la méthode de micro-dilution avec une CMI de 3.125mg/l pour *S.aureus* LGA251 et de 6.25mg/l pour les 3 autres souches.

Récemment, Mir *et al.*, 2020, ont étudié l'effet de l'extrait éthanolique des feuilles de *Myrtus communis l* obtenu par la méthode de Soxhlet, sur des souches Gram positives et Gram négatives. Cet extrait a montré un fort effet inhibiteur contre les bactéries Gram positives tel que *S. aureus* traduit par un diamètre de la zone d'inhibition de 9 à 25 mm, d'une CMI de 4.87 à 78 ug/ml ainsi que la CMB de 0.3 à 20 mg/ml. Cependant aucun effet n'a été observé sur les Gram négatives, contrairement aux résultats de notre étude. Selon l'étude de Mir, l'inhibition de la croissance s'est avérée être associée à l'endommagement de la paroi cellulaire, de plus, l'analyse GC-MS utilisée par Mir a confirmé la présence de nouveaux composés, notamment, 1,1,8a-triméthyl-octa-hydro-2,6-naphtalène-dione et le pyrogallol ou leur combinaison avec d'autres métabolites secondaires qui pourraient contribuer à la destruction spécifique des Gram positifs.

Des travaux réalisés par Aabed *et al.*, 2020, sur l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de myrte ont montré inhibition envers *P. aeruginosa* et *S. aureus* et à plus fort degré à l'égard de *E. coli* et ce par la méthode de diffusion sur gélose. Cette activité est liée à la composition chimique de l'extrait aqueux (par exemple, flavonols, terpinéol, acétate, tanins...) qui ciblent principalement les protéines impliquées dans la membrane externe, le stress oxydatif et le métabolisme.

Plusieurs études ont indiqué que la teneur élevée en hydrocarbures monoterpéniques tels que l'alpha-pinène (Owlia *et al.*, 2010, Djenane *et al.*, 2011), le limonène (Djenane *et al.*, 2011), l'eucalyptol, le linalol et terpinéol semble contribuer à la forte activité antimicrobienne de *Myrtus communis* (Akin *et al.*, 2012). Ces résultats pourraient être la source de composés à utiliser pour les traitements des infections bactériennes.



**CONCLUSION**

## Conclusion

Au terme de notre étude qui a porté sur l'activité anti-inflammatoire intestinale (*in vivo*) et antibactérienne (*in vitro*) de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis*, nous pouvons, au vu des résultats obtenus, tirer un certain nombre de conclusions :

- L'extrait éthanolique de feuilles de *Myrtus communis* présente une propriété anti-inflammatoire intestinale très significative avec les doses de 50mg/kg et de 200mg/kg et significative avec la dose de 100mg/kg (dose-indépendante) et cela se traduit par la diminution du rapport P/L en comparaison avec le lot malade.
- L'extrait éthanolique de myrte possède une activité antibactérienne sur 4 souches (*Staphylococcus aureus* Iga 251, *Pseudomonas aeruginosa* 891, *Salmonella* Typhi, *E. coli* O29mcr1) parmi les 10 souches cibles étudiées. Toutefois, l'extrait a révélé une meilleure activité à l'égard de *Pseudomonas aeruginosa* 891, une souche clinique multirésistante.

A la lumière de ces résultats préliminaires obtenus, nous pouvons dire que l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* peut être considéré comme un agent thérapeutique potentiel dans le traitement des MICI et de certaines infections bactériennes éventuellement en les associant avec des antibiotiques pour des effets secondaires et une résistance moindre.

En perspective, il serait donc important d'approfondir des recherches sur le plan pharmacologique et microbiologique et cela par :

- Isolement et caractérisation des principaux composés chimiques impliqués dans l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire.
- La réalisation de coupes histologiques afin de confirmer les résultats de l'effet anti-inflammatoire intestinal.
- Étude de l'activité anti-inflammatoire de cet extrait sur le microbiote intestinal par une analyse de la matière fécale par PCR quantitative et méta-analyse.
- Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de myrte sur d'autres souches (Gram positives et Gram négatives).



**LISTE DES REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## LISTE DES RÉFÉRENCES

### A

- Aabed, K., Mohammed, A. E., Benabdelkamel, H., Masood, A., Alfadda, A. A., Alanazi, I. O., & Alnehmi, E. A. (2020). Antimicrobial Mechanism and Identification of the Proteins Mediated by Extracts from *Asphaltum punjabianum* and *Myrtus communis*. *ACS omega*, 5(48), 31019-31035.
- Akin M, Aktumsek A, Nostro A. (2012). Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. And *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *Afr J Biotechnol*, 9 531–535.
- Altwegg, R., & Michon, A. L. (2020). La dysbiose intestinale dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(527), 47-54.
- Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits et huiles essentielles de *Myrtus communis* L. *Recherche microbiologique*, 169 (4), 240-254.
- Alipour, G., Dashti, S., & Hosseinzadeh, H. (2014). Review of pharmacological effects of *Myrtus communis* L. and its active constituents. *Phytotherapy research*, 28(8), 1125-1136.

### B

- Bashiardes, S., Godneva, A., Elinav, E., & Segal, E., (2018). Towards utilization of the human genome and microbiome for personalized nutrition. *Curr. Opin. biotechnol.* 51,57-63.
- Beaugrerie L, Skol H. (2014). Les fondamentaux de la pathologie digestive : Enseignement intégré, appareil digestif. Issyles-moulineaux : Elsevier Masson.
- Biribi, N., Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Garrido-Mesa, J., Utrilla., M. P., *et al.* (2016). International anti-inflammatory effects of total alkaloid extract from *fumaria capreolata* in the DNBS of mice colitis and intestinal epithelial CMT93 cells. *phytotherapy*, 23(9),901-913.
- Bouchenak, Ouahiba, Yahiaoui, Karima, Benhabyles, Narimen, *et al.* (2020). Criblage phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *myrtus communis* l. et *rhamnus alaternus* l.

- Bouzabata, A., Casanova, J., Bighelli, A., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Tomi, F. (2016). The genus *Myrtus* L. in Algeria: composition and biological aspects of essential oils from *M. communis* and *M. nivellei*: a review. *Chemistry & biodiversity*, 13(6), 672-680.

## C

- Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B. M., & Owen, L. J. (2015). Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial ecology in health and disease*, 26(1), 26191.
- Caselli, M. (2013). Actual concept of « probiotics » : is it more functional to science or business ? *world journal of gastroenterology*, 19(10), 1527.
- Cazals-Hatem, D. (2015). La cicatrisation muqueuse dans la rectocolite hémorragique (RCH).
- Conrad, K., Roggenbuck, D and Laass, M.W. (2014). Diagnosis and classification of Ulcerative colitis. *Autoimmun Rev*, 4-5(13) : 463-466.
- Cruciani, S., Santaniello, S., Garroni, G., Fadda, A., Balzano, F., Bellu, E., & Maioli, M. (2019). *Myrtus* polyphenols, from antioxidants to anti-inflammatory molecules: exploring a network involving cytochromes P450 and vitamin D. *Molecules*, 24(8), 1515.

## D

- Dalal, S. R., & Chang, E. B. (2014). The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *The Journal of clinical investigation*, 124(10), 4190-4196.
- Doré, J., & Corthier, G. (2010). Le microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 34, S7-S15.
- Djenane D, Yangüela J, Amrouche T, Boubrit S, Boussad N, Roncalés, P. (2011). Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157 : H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Sci Technol Inte*, 17 505–515.

## E

- Enam, F., & Mansell, T. J. (2019). Prebiotics: tools to manipulate the gut microbiome and metabolome. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 46(9-10), 1445-1459.

**G**

- **Gachkar.L.**, Yadegrari. D., Rezaei.M.B., Taghzadeh. M., Astaneh. S.A & Rasooli.I. (2006). Chemical and biological charactersitics of Cuminum and Rosmarinus officinalis essential oils.food Chemistry.102 :898-904.
- **Gong, J.**, Chehrazi-Raffle,A., Placencio-Hickok,V., Guan,M.,Hendifar,A., & Salgia,R.(2019). The gut microbiome and response to immune checkpoint inhibitors :preclinical and clinical strategies. Clin. Transl. Med. 8,9
- **Goulet O.** (2009). La flore intestinale : un monde vivant à préserver. Journal de pédiatrie et de puériculture, 22 102-106.
- **Gratama, S.**, Smedts, F., & Whitehead, R. (1995). Obstructive colitis: an analysis of 50 cases and a review of the literature. Pathology, 27(4), 324-329.
- **Graham, D. B.**, & Xavier, R. J. (2013). From genetics of inflammatory bowel disease towards mechanistic insights. Trends in immunology, 34(8), 371-378.

**H**

- **Huttenhower, C.**, Kostic, A.D., Xavier,R.J. (2014). Inflammatory bowel disease as a model for translating the microbiome. Immunity, 40,843-845.
- **Hosseinzadeh H**, Khoshdel M, Ghorbani M. (2011). Antinociceptive, Anti-inflammatory Effects and Acute Toxicity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Myrtus communis L. Aerial Parts in Mice. J Acupunct Meridian Stud, 4 242–247

**J**

- **Jabri, MA**, Marzouki, L., & Sebai, H. (2018). Effets ethnobotaniques, phytochimiques et thérapeutiques des graines de baies de Myrtus communis L. sur les maladies du tractus gastro-intestinal : une revue. Archives de physiologie et biochimie, 124 (5), 390-396.
- **Jantchou. P.**, Monnet. E., Carbonnel. F (2006). Les facteurs d’environnement dans la maladie decrohn et la rectocolite hémorragique (tabac et appendicectomie exclus). Gastroentérologie clinique et Biologie, 30(6-7), pp : 859-867
- **Jens Rasenack.** Practice manual, inflammatory bowel disease. Falk Pharma.GMBH,10th edition (2010). p8-p9.

**K**

- **Kataoka, K.** (2016). The intestinal microbiota and its role in human health and disease. *The Journal of Medical Investigation*, 63(1.2), 27-37.
- **Klotz, C., Barret, M., Dhooge, M., Oudjit, A., Chaussade, S., Coriat, R., & Abitbol, V.** (2015). Rectocolite hémorragique: conduite diagnostique et prise en charge thérapeutique. *La Presse Médicale*, 44(2), 144-149.
- **Kökten, T., Hansmannel, F., Melhem, H., & Peyrin-Biroulet, L.** (2016). Physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). *Hegel*, (2), 119-129
- **Kolho, K. L., Korpela, K., Jaakkola, T., Pichai, M. V., Zoetendal, E. G., Salonen, A., & De Vos, W. M.** (2015). Fecal microbiota in pediatric inflammatory bowel disease and its relation to inflammation. *Official journal of the American College of Gastroenterology/ ACG*, 110(6), 921-930.

**L**

- **Laine, A., Laurent, A., Mariage, A., Boschetti, G., Charlois, A. L., Roblin, X., & Flourie, B.** (2016). Facteurs psychosociaux et risque de rechute au cours de la maladie de Crohn. In *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique* (Vol. 174, No. 6, pp. 461-467). Elsevier Masson.
- **Landman, C., & Quévrain, E.** (2016). Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de médecine interne*, 37(6), 418-423.
- **Dong, L. N., Wang, M., Guo, J., & Wang, J. P.** (2019). Role of intestinal microbiota and metabolites in inflammatory bowel disease. *Chinese medical journal*, 132(13), 1610.

**M**

- **Maignant, S., Pélatan, C., Breton, E., Cagnard, B., Chaillou, E., Giniès, J. L., & Dabadie, A.** (2015). Connaissances des adolescents atteints de maladie inflammatoire chronique intestinale : résultats d'une enquête transversale multicentrique. *Archives de Pédiatrie*, 22(5), 468-475.
- **Mangiola, F., Nicoletti, A., Gasbarrini, A., & Ponziani, F. R.** (2018). Gut microbiota and aging. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22(21), 7404-7413.
- **Machado-Pereira, M., Santos, T., Ferreira, L., Bernardino, L., & Ferreira, R.** (2017). Anti-inflammatory strategy for M2 microglial polarization using retinoic acid-loaded

nanoparticles. *Mediators of inflammation*, 2017.

- Magaldi S, Mata-Essayag S, Hartung de Capriles C, Perez C, Colella MT, Olaizola C, *et al.* (2004). Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *Int Infect Dis.* ; 8(1) :39–45.
- Marteau, P., & Doré, J. (2017). Le microbiote intestinal.
- Matricon, J. (2010). Immunopathogénèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Médecine/sciences*, 26(4), 405-410.
- Martelli, L., Ragazzi, E., Di Mario, F., Martelli, M., Castagliuolo, I., Dal Maschio, M., & Brun, P. (2007). A potential role for the vanilloid receptor TRPV1 in the therapeutic effect of curcumin in dinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in mice. *Neurogastroenterology & Motility*, 19(8), 668-674.
- Mir, M. A., Bashir, N., Alfaify, A., & Oteef, M. D. (2020). GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 1-9.
- Morampudi, V., Bhinder, G., Wu, X., Dai, C., Sham, H. P., Vallance, B. A., & Jacobson, K. (2014). DNBS/TNBS colitis models: providing insights into inflammatory bowel disease and effects of dietary fat. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (84).

## N

- Nenci. A., Becker. C., Wullaert. A., Garreus. R., Van Loo. G., Danese. S., Huth. M., Nikolaev. A., Neufert. C., Madison. B., Gumucio. D., Neurath. M., Pasparakis. M (2007). Epithelial NEMO links innate immunity to chronic intestinal inflammation. *Nature*, 446, pp : 557-560.
- Ni, J., Wu, G. D., Albenberg, L., & Tomov, V. T. (2017). Gut microbiota and IBD : causation or correlation ? *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 14(10), 573-584.
- NCCLS M7 A5 ED.5. (2000). methods of dilution Antimicrobial suceptibility tests for bacteria that Grow Aerobically Clinical laboratory standards Institute. 26(2).

## O

- Osaka Toshifumi, Eri Moriyama, Shunichi Ari, Yasuhiro Date, Junji Yagi, Jun Kikuchi & Satoshi Tsuneda. (2017). Meta-analysis of fecal microbiota and metabolites in Experimental Colitic Mice during the inflammatory and healing Phases. *Nutrients*, 9,139.

- Orliaguet, G., Gall, O. & benabess-Lambert, F. (2013). Nouveauté concernant les anti inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. *Le Praticien en anesthésie réanimation*, 17(5) :228-237.
- Owlia P, Saderi H, Rasooli I, Sefidkon F. (2010). Antimicrobial characteristics of some herbal Oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions. *Iran J Pharm Res* 8 : 107–114.
- Özcan, O., Ipekci, H., Alev, B., Ustundag, U. V., Sen, A., Emekli-Alturfan, E., & Tunali-Akbay, T. (2020). The effect of *Myrtus communis* L. ethanol extract on the small intestine and lungs in experimental thermal burn injury. *Journal of Thermal Biology*, 93, 102685.

## Q

- Quévrain, E., & Seksik, P. (2013). Microbiote intestinal : de la diarrhée post-antibiotique aux maladies inflammatoires intestinales. *La Presse Médicale*, 42(1), 45-51.

## R

- Rahmouni, O., Dubuquoy, L., Desreumaux, P., & Neut, C. (2016). Microbiote intestinal et développement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Médecine/sciences*, 32(11), 968-973...
- Ray, C., & Sagar, P. (2017). Management of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Surgery (Oxford)*, 35(8), 439-442.

## S

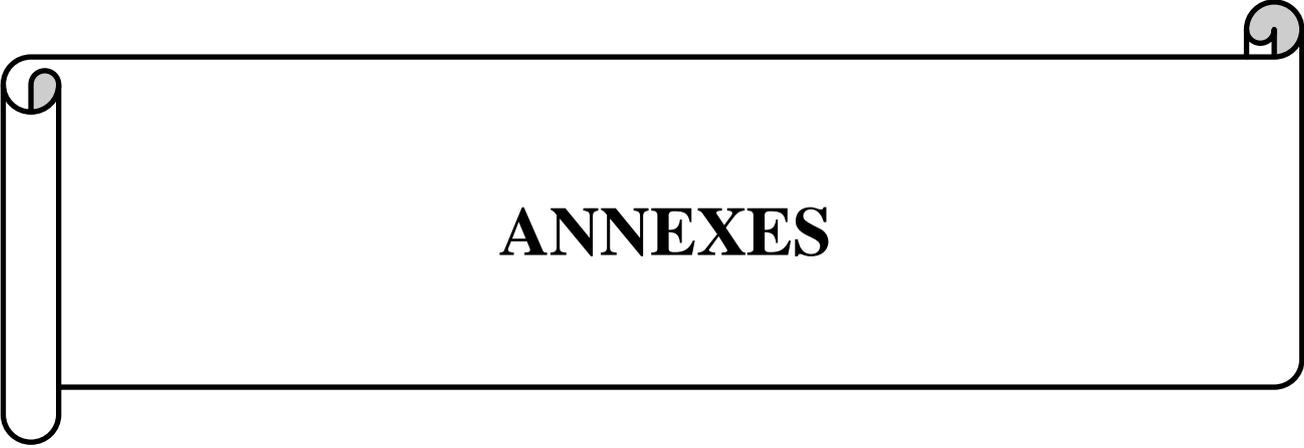
- Salonen, A., & de Vos, WM (2014). Impact de l'alimentation sur le microbiote intestinal humain et la santé. *Revue annuelle des sciences et technologies alimentaires* 5, 239-262.
- Seksik, P (2010). Gut microbiota and IBD. *gastroentérologie clinique et biologique* 34, suppl. 1, S44-S51.
- Stedman, A., Nigro, G., & Sansonetti, P. J. (2016). Le dialogue microbiote-cellules souches-Un élément clé pour la régénération intestinale. *Médecine/sciences*, 32(11), 983-990.
- Sumbul, S., Ahmad, MA, Asif, M., & Akhtar, M. (2011). *Myrtus communis* Linn. - Une revue.

## T

- Torres, J., Mehandru, S., Colombel, J. F., & Peyrin-Biroulet, L. (2017). Crohn's disease. *The Lancet*, 389(10080), 1741-1755

## Z

- Zhuang, L., Chen, H., Zhang, S., Zhuang, J., Li, Q., & Feng, Z. (2019). Intestinal microbiota in early life and its implications on childhood health. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, 17(1), 13-25.
- <https://www.encyclopedie-environnement.org/sante/les-microbiotes-humains-des-allies-pour-notre-sante/>.



**ANNEXES**

**Annexe I : Composition des milieux de culture**

<b>Gélose Mueller Hinton</b>	<b>g/l</b>
Hydrolysate acide de caséine	17,5
Infusion de viande	02
Amidon	1,5
Agar	17
pH	7.4
38g dans 1l de l'eau distillé	

<b>Gélose Mueller Hinton molle</b>	<b>g/l</b>
Hydrolysate acide de caséine	17,5
Extrait de viande	01
Amidon	1.5
Agar	10

pH = 7.4

on prend le bouillon MH et on ajout 10 g d'agar (25g de bouillon +10g d'agar/1l d'eau distillé)

<b>Bouillon Mueller Hinton</b>	<b>g/l</b>
Extrait de viande	01
Hydrolysate acide de caséine	17.5
Amidon	1.5

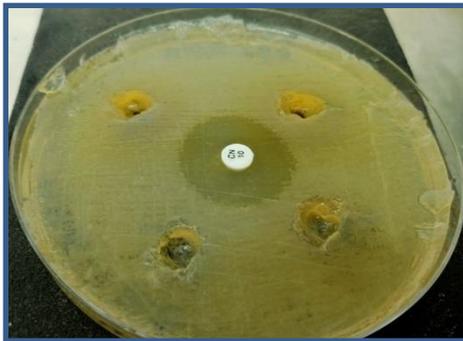
pH = 7.4

25g/1l d'eau distillé

Gélose Chapman	g/l
Peptone	11
Extrait de viande	1
Nacl	75
Manitole	10
Rouge de phénol	0.025
Agar	15

pH = 7.4

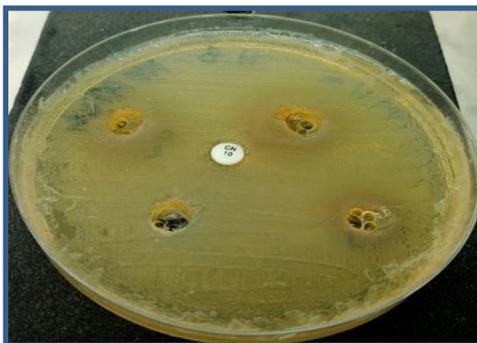
### Annexe II : Quelques résultats négatifs pour le test des puits



*Escherichia coli enteropathogène II*



*Vibrio cholerae*



*Klebsiella pneumoniae* ATCC

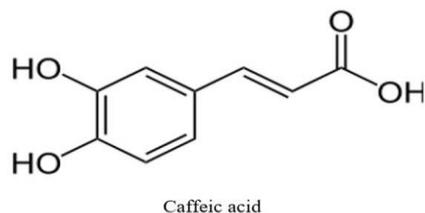
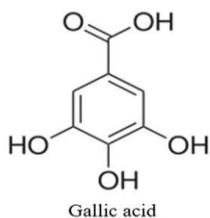
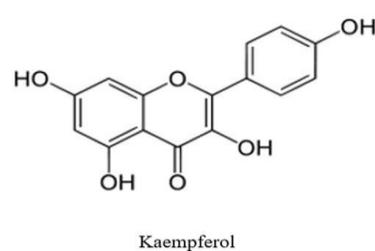
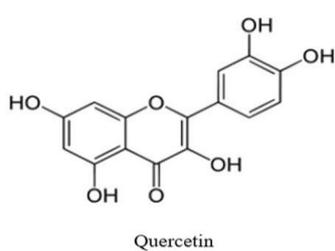
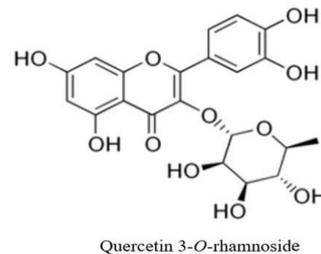
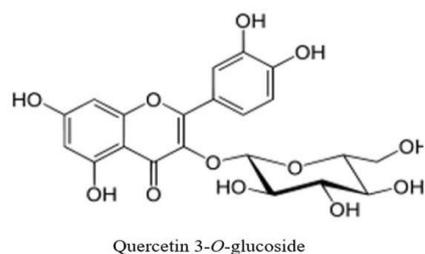
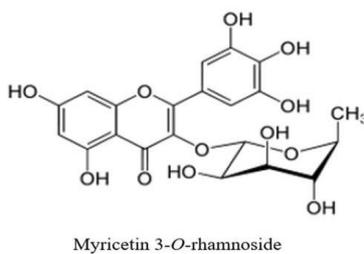


*Escherichia coli* 13

---

**Annexe III : Résultats du screening phytochimique effectué sur la poudre et l'infusé des feuilles de *Myrtus communis* (Bouchenak *et al.*, 2020)**

<b>Substances</b>	<b>Résultats</b>	<b><i>M. communis</i></b>
<b>Tanins totaux</b>	Couleur bleu noir	+++
<b>Tanins galliques</b>	Couleur bleu foncé	+++
<b>Tanins catéchiques</b>	Couleur rouge	-
<b>Anthocyanes</b>	Couleur rouge	-
<b>Leuco-Anthocyanes</b>	Couleur rouge	+++
<b>Flavonoïdes</b>	Couleur rouge orangé	++
<b>Coumarines</b>	Formation d'un trouble	+++
<b>Saponosides</b>	Formation d'un précipité blanc	+++
<b>Caroténoïdes</b>	Couleur vert- bleu	-
<b>Alcaloïdes</b>	Précipité rouge orangé ou brun rougeâtre	++
<b>Iridoides</b>	Couleur bleu	-
<b>Mucilage</b>	Formation d'un précipité	-
<b>Polyphénols</b>	Couleur bleue noirâtre ou vert foncé	+++
<b>Quinones</b>	Coloration rouge	-
<b>Protéines</b>	Couleur violette avec une teinte rougeâtre	-
<b>Stérols et Polyterpènes</b>	Couleur violette qui vire au bleu puis au vert	-
<b>Sucres réducteurs</b>	Formation d'un précipité rouge brique	+++
<b>Glucosides</b>	Couleur rouge brique ensuite violette	+++
<b>Amidon</b>	Couleur bleu violette	-

**Annexe IV : Structures chimiques des composés identifiés dans l'extrait éthanolique des feuilles de *Myrtus communis* (Snoussi, 2021)****Phenolic acids****Flavonoids**

## Résumé

Cette étude avait pour objectif l'évaluation de l'activité anti bactérienne (*in vitro*) et l'étude de l'activité anti inflammatoire (*in vivo*) des extraits ethanologique des feuilles de *Myrtus communis*. L'activité antiinflammatoire a été étudié sur des souris( BALB/C) colitique engendré par DNBS et traité par les différents dose d'extrait ethanologique (50,100 et 200 mg/kg).le rapport poids/longueur a été mesuré et un tests statistique a été réalisé par le graphe pad afin de comparer et d'évaluer l'effet de l'extrait ethanologique ;d'autre part des tests d'activité antibactérienne ont été réalisé sur milieux solides (tests des puits et tests des disque )et sur milieux liquides (méthodes de micr- dilution ).Les extraits ethanologique de *myrtus commmunis* ont présenter une activité antibactérienne vis-à-vis de 4 souches parmi les 10 souches testé (*Pseudomonas aeroginosa* ; *staphylococcus aureus* ; *salmonella typhi* ; *E-coli 029mecI*). Une réduction très significative du rapport P/l du colon traité avec la dose 200 mg/kg en comparaison avec lot malade non traité.

L'extrait ethanologique des feuilles de *myrtus communis* possède une activité antibactérienne et une activité anti inflammatoire qui pourrait être considéré comme un effet thérapeutique.

**Mots clés** : extraits ethanologique, activité antibactérienne, activité anti inflammatoire, maladies inflammatoire chronique de l'intestin, *Myrtus communis*.

## Abstract

The objective of this study was to evaluate the anti bacterial activity (in vitro) and to study the anti inflammatoire activity (in vivo) of ethanolic extracts of *Myrtus communis* leaves.

The anti-inflammatory activity was studied on mice (BALB/C) colitis generated by DNBS and treated by different dose of ethanolic extract (50, 100 and 200 mg/kg).The weight/length ratio was measured and a statistical test was performed by pad graph in order to compare and evaluate the effect of ethanolic extract; on the other hand, antibacterial activity tests were performed on solid media (wells tests and disc tests) and on liquid media (microdilution methods). The ethanolic extracts of *myrtus commmunis* presented an antibacterial activity against 4 strains among the 10 tested (*Pseudomonas aeroginosa* ; *Staphylococcus aureus* ; *Salmonella typhi* ; *E- coli 029mecI*). A very significant reduction of the P/l ratio of the colon treated with the 200 mg/kg dose in comparison with the untreated patient batch.

The ethanolic extract of *myrtus communis* leaves has antibacterial and anti inflammatory activity which could be considered as a therapeutic effect.

**Key words** : ethanolic extracts, antibacterial activity, anti inflammatory activity, chronic inflammatory bowel disease, *Myrtus communis*.