

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KACHER Affaf

HANSALI Hana

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie appliquée

THÈME

**Etude de l'activité antimicrobienne
des extraits de *Syzygium aromaticum*
et *Linum usitatissimum*.**

Soutenue publiquement le 28/06/2020

DEVANT LE JURY

Président	M. MEDJAHED. M	M.A.A	U. Mostaganem
Encadreur	M. DJIBAOUI. R	Professeur	U. Mostaganem
Examineur	M. BEKADA. A	Professeur	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie, université de Mostaganem.

Remerciement

Nous remercions Allah le tout puissant qui nous a donné la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce travail à terme.

Nous tenons à exprimer tout d'abord notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre cher professeur M. DJIBAOUI.R d'avoir accepté de nous encadrer, pour la confiance qu'il nous a accordé, pour son suivi et pour son énorme soutien, qu'il n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la période du travail.

Nous voudrions aussi témoigner de notre reconnaissance à tous ceux qui ont offert leurs collaborations professionnelles entant que membre de Jury :

Nous tenons à remercier M. MEDJAHED. M, vous nous faites un très grand bonheur en acceptant de présider notre jury du mémoire.

Nous tenons à remercier également M. BEKADA. A pour avoir accepté de faire partie des membres du jury de notre travail.

Nous tenons à remercier toute l'équipe du département de biologie et toutes les personnes avec qui nous avons partagées des bons moments.

Nous remercions tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Nous adressons aussi un grand merci à Dr. MELLOUK, S pour son aide et ses conseils.

Enfin, nos remerciements les plus chaleureux s'adressent à toutes les personnes qui nous ont aidés de pré ou de loin à la réalisation de ce document.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail de fin d'études :

A la mémoire de mon amie SEDDOUKI Radia, que dieu garde son âme dans son vaste paradis.

A ma très chère mère MELLOUK Yamina, source de vie, d'amour et d'affection.

A ma très chère sœur Hadjer et son mari Djelloul.

A mon très cher frère Abdellah. , A ma très chère belle sœur Halima, que j'aime beaucoup.

A mon neveu Mouad et mes nièces Abir et Loudjain, source de joie et de bonheur.

A HANSALI Hana, chère amie avant d'être binôme, pour son entente et sa sympathie.

A toute ma famille. A tous mes autres amis. A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

De la part de KACHER Affaf

Je dédie ce travail :

A ma chère mère KEBIR Amina

A mon cher père HANSALI Lakhdar

Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes frères Mokhtar, Laouni, Mansour et Chouaib.

A ma chère sœur Souhila et son mari Hamza.

A mes belles sœurs Dalila, Hafida et Ahlem.

A mes neveux Boumediene, Youcef et Mohamed, A mes nièces Sabrina et Maria.

A ma grand-mère, mes oncles et mes tantes, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mon chère amie Nouria, que j'aime beaucoup.

A toute ma famille, A tous mes autres amis.

Sans oublier mon binôme KACHER Affaf pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.

De la part de HANSALI Hana

Résumé

L'utilisation excessive d'antibiotiques est un facteur important qui contribue à l'apparition de différents types de microbes résistants. En conséquence ce phénomène conduit à une augmentation de la gravité des maladies causées par ces microbes ce qui nécessite la recherche de solutions à cette problématique.

Le but de cette étude était d'évaluer et d'étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales : clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) et les graines de lin (*Linum usitatissimum*) et d'exposer leur rôle médicale sur la santé de l'Homme.

Dans la partie expérimentale : différents travaux scientifiques ont été présentés. Dans ces travaux, les chercheurs ont effectué des tests d'activités antimicrobiennes des deux épices : clous de girofle et graines de lin par méthode de diffusion sur disque en milieu solide.

Ces tests ont été réalisés sur différents germes microbiens dont les principaux sont : *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Bacillus cereus*.

Plusieurs extraits végétaux ont été préparés à partir des deux plantes dont les plus efficaces étaient : l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique, l'extrait éthanolique, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de butanol.

Les résultats ont montré un effet inhibiteur important de l'extrait méthanolique de clou de girofle contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 24 mm.

Les résultats ont montré également une activité antimicrobienne très importante par l'extrait aqueux de graines de lin contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 1.8 cm.

Syzygium aromaticum et *Linum usitatissimum* présentent une impressionnante activité antimicrobienne naturelle qui peut entraver de manière significative le développement microbien et qui peut être une alternative efficace des antibiotiques.

L'effet inhibiteur de ces deux plantes sur le développement bactérien et fongique laisse entrevoir des perspectives d'application dans le domaine médical.

Mots clés : *Syzygium aromaticum*, *Linum usitatissimum*, Microbes, activité antimicrobienne, effet inhibiteur.

Abstract

The excessive use of antibiotics is an important factor that contributes to the appearance of different types of resistant microbes. Consequently, this phenomenon leads to an increase in the severity of the diseases caused by these microbes, which necessitates the search for solutions to this problem.

The aim of present study was to evaluate the antimicrobial activity of two medicinal plants : cloves (*Syzygium aromaticum*) and flax seeds (*Linum usitatissimum*) and to expose their medical role on the health of Man.

In the experimental part : various scientific works were presented and which carried out antimicrobial tests of the two spices : cloves and flax seeds by method of diffusion on disc in solid medium.

These tests were carried out on various microbial germs, the main ones being : *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*.

Several plant extracts were prepared from the two plants, the most effective of which were : aqueous extract and methanolic, ethanolic, ethyl acetate and butanol extracts.

The results showed a strong inhibitory effect of the methanolic extract of cloves against *Staphylococcus aureus* with a zone inhibition of 24 mm.

The results also showed a very important antimicrobial activity by the aqueous extract of flax seeds against *Staphylococcus aureus* with a zone inhibition of 1.8 cm.

Syzygium aromaticum and *Linum usitatissimum* exhibit impressive natural antimicrobial activity which can significantly impede microbial development and which can be an effective alternative to antibiotics.

The inhibitory effect of these two plants on bacterial and fungal development suggests prospects for application in the medical field.

Key words : *Syzygium aromaticum*, *Linum usitatissimum*, Microbes, Antimicrobial activity, inhibitory effect.

الملخص

يساهم الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية في ظهور أنواع مختلفة من الميكروبات المقاومة. ونتيجة لذلك ، تؤدي هذه الظاهرة إلى زيادة شدة الأمراض التي تسببها هذه الميكروبات ، مما يستدعي البحث عن حلول لهذه المشكلة. نهدف من خلال هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لنبتتين طبيبتين هما القرنفل (*Syzygium aromaticum*) وبذور الكتان (*Linum usitatissimum*) وكشف الدور الطبي لهما على صحة الإنسان. تم في الجزء التجريبي من هذا العمل تقديم العديد من الأعمال التي أجري فيها اختبارات مضادة للميكروبات باستعمال القرنفل وبذور الكتان بطريقة الانتشار على القرص في وسط صلب. أجريت هذه الاختبارات على العديد من الأنواع الميكروبية ، أهمها: *Staphylococcus* ، *Candida albicans* ، *Bacillus cereus* ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *aureus* تم تحضير العديد من المستخلصات النباتية انطلاقاً من النبتتين ، وكان أكثرها فاعلية: المستخلص المائي ، المستخلص الميثانولي ، المستخلص الإيثانولي ، المستخلص أسيتات إيثيل ومستخلص البوتانول. أظهرت النتائج تأثير مثبط قوي لمستخلص الميثانول من القرنفل ضد المكورات العنقودية الذهبية بمنطقة تثبيط تقدر ب 24 مم. وأظهرت النتائج أيضاً نشاطاً مضاداً للميكروبات فعالاً بواسطة المستخلص المائي لبذور الكتان ضد *Staphylococcus aureus* بمنطقة تثبيط مقدرة ب 1.8 سم. وعليه فيمكن القول أن كل من *Syzygium aromaticum* و *Linum usitatissimum* قد أظهر نشاطاً ملحوظاً مضاداً للميكروبات والذي يمكن أن يعيق نموها بشكل كبير بالتالي يكون بديلاً فعالاً للمضادات الحيوية. كما يشير التأثير المثبط لهذين النباتين للبكتيريا والفطريات إلى إمكانية تطوير هذا البحث وتطبيقه في المجال الطبي.

الكلمات المفتاحية: *Syzygium aromaticum* ، *Linum usitatissimum* ، الميكروبات ، نشاط مضاد للميكروبات ، تأثير مثبط.

Table de matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

Partie I

Synthèses bibliographiques

Chapitre I : Description et Intérêts de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*

I. <i>Syzygium aromaticum</i>	01
I.1. Définition.....	01
I.2. Histoire de l'épice.....	01
I.3. Description botanique de la plante.....	04
I.4. Pharmacologie de la plante.....	05
I.5. Propriétés et utilisations.....	05
1.5.1. Activité anti inflammatoire, anti cancérigène et soin buccale.....	05
I.5.2. Activité anti nociceptive.....	06
1.6. Toxicité des huiles essentielles de clou de girofle.....	06
II. <i>Linum usitatissimum</i>	07
II.1. Définition.....	07
II.2. Historique de la plante.....	07
II.3. Description botanique de la plante.....	08
II.4. Propriétés et utilisations.....	09
II.5. Effets thérapeutiques du lin.....	11
II.5.1. Effets laxatifs et émoullients.....	11
II.5.2. Effets anti inflammatoires, antioxydants et anticancéreux.....	12
II.5.3. Effets sur le système respiratoire et immunitaire.....	12
II.6. Toxicité et effet indésirable de la graine de lin.....	12

Chapitre II : Composition chimique et pouvoir antimicrobien de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*

I. <i>Syzygium aromaticum</i>	14
I.1. Composition chimique des clous de girofle.....	14
I.2. Activités biologiques des clous de girofle.....	16
I.2.1. Activité antioxydante.....	17
I.2.2. Activité antimicrobienne.....	18
I.2.3. Cytotoxicité de l'eugénol.....	19
II. <i>Linum usitatissimum</i>	20
II.1. Composition chimique de la graine de lin.....	20
II.1.1. l'huile de lin.....	20
II.1.2. Protéines.....	21
II.1.3. Composés glucidiques.....	21
II.1.4. Composés antioxydants du lin.....	21
II.1.4.1. Les tocophérols.....	21
II.1.4.2. Les polyphénols.....	22
II.1.4.2.1. Les lignanes du lin.....	23
II.1.4.2.1.1. Molécule bioactive.....	24
II.1.4.2.1.2. Voie de biosynthèse des lignanes.....	25
II.1.4.2.1.3. Intérêts pharmacologiques des lignanes.....	25
II.1.4.2.1.4. Les lignanes et les lignines.....	26
II.2. Activité antimicrobienne des graines de lin.....	26
II.2.1. Activité antifongique du lin.....	28
II.2.2. Activité antibactérienne.....	28
Chapitre III : Microorganismes cibles	
I.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
I.1.1. Présentation.....	29
I.1.2. Classification.....	29
I.1.3. Caractéristiques.....	30
I.1.4. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	30
I.1.5. Résistance aux antibiotiques.....	31
II. <i>Escherichia coli</i>	31
II.1. Découverte.....	31
II. 2. Caractéristiques.....	31
II.3. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	32

II.3.1. Facteurs de virulence.....	32
II.3.2. Mécanisme de pathogénicité.....	33
II.4. Résistance aux antibiotiques.....	33
III. <i>Staphylococcus aureus</i>	33
III.1. Caractéristiques.....	33
III.2. Taxonomie.....	34
III.3. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	34
III.4. Résistance aux antibiotiques.....	36
IV. <i>Bacillus cereus</i>	37
IV.1. Caractéristiques.....	37
IV.2. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	37
IV.2.1. Pouvoir pathogène.....	37
IV.2.2. Facteurs de virulence.....	38
IV.2.3. Résistance aux antibiotiques.....	39
V. <i>Candida albicans</i>	39
V.1. Généralités sur le <i>Candida</i>	39
V.2. Taxonomie.....	40
V.3. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	41
V.3.1. Pouvoir pathogène.....	41
V.3.2. Facteurs de virulence.....	41
V.4. Résistance aux antibiotiques.....	42

Partie II

Partie expérimentale

1. Obtention des souches bactériennes.....	43
2. Collecte des échantillons.....	43
3. Préparation du Matériel végétal.....	44
3.1. Préparation de l'extrait de clous de girofle.....	44
3.2. Préparation de l'extrait de graines de lin.....	45
I/ Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Syzygium aromaticum</i>.....	46
Protocole expérimentale A (selon Amit Panday <i>et al.</i>, (2011)).	46
➤ Matériels et méthodes.....	46
1. Préparation d'extrait végétal éthanolique (Eté) et méthanolique (Em).....	46
2. Microorganismes testés.....	46

3. Criblage des composés bioactifs.....	46
4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits.....	46
➤ Résultats et discussions	47
Protocole expérimentale B (selon Saeed <i>et al.</i>, (2013))	51
➤ Matériels et méthodes	51
1. Préparation et extraction des échantillons	51
2. Isolement des bactéries.....	51
3. Examen morphologique des bactéries.....	51
4. Purification des isolats.....	52
5. Détermination de l'activité antibactérienne.....	52
6. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	52
➤ Résultats et discussions	53
Protocole expérimentale C (selon Zeeshan <i>et al.</i> , (2014)).	55
➤ Matériels et méthodes	55
1. Microorganismes testés.....	55
2. Préparation du bouillon de culture.....	55
3. Préparation d'extrait de l'épice.....	55
4. Test de sensibilité antimicrobienne en utilisant la méthode du papier filtre.....	55
➤ Résultats et discussions	56
II/ Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Linum usitatissimum</i>.....	60
Protocole expérimentale A (selon Raja Narendra <i>et al.</i> , (2016))	60
➤ Matériels et méthodes	60
1. Collecte des échantillons.....	60
2. Cultures microbiennes.....	60
3. Milieux de culture.....	60
4. Préparation d'extrait brut.....	60
5. Activité antimicrobienne.....	61
6. Analyses statistiques.....	61
➤ Résultats et discussions	62
Protocole expérimentale B (selon El Bayati., (2007))	
➤ Matériels et méthodes	64
1. Matériel végétal.....	64
2. Procédure d'extraction.....	64

3. Préparation des concentrations d'extraits.....	64
4. Cultures microbiennes.....	64
5. Préparation de l'inoculum.....	64
6. Activité antibactérienne.....	64
➤ Résultats et discussions	66
Protocole expérimentale C (selon Bakht <i>et al.</i>, (2011)).	67
➤ Matériels et méthodes	67
1. Préparation de l'extrait brut.....	67
2. Fractionnement de l'extrait brut.....	67
3. Milieux de culture.....	67
4. Préparation des milieux de culture.....	67
5. Microorganismes utilisés.....	68
6. Méthode de sensibilité à la diffusion du disque.....	68
➤ Résultats et discussions	69
Conclusion	73
Références bibliographiques	

Liste des Abréviations

ALA :	Acide Alpha Linoléique
AGPI :	Acide Gras Poly insaturé
AGMI :	Acide Gras Mono insaturé
AGS :	Acide Gras Saturé
SDG :	Sécoisolacirésinol Diglucoside
PE :	Phyto- œstrogènes
AEP :	Acide eicosapentaenoïque
ADH :	Acide décosahexaenoïque
AGE :	Acide Gras essentiel
SECO :	Sécoisolacirésinol
LDC :	Lésine Décarboxylase
ODC :	Ornithine Décarboxylase
PVL :	Leucocidine de Pantonvalentine
Em :	Extrait méthanolique
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
DMSO :	Diméthylsulfoxyde

Liste des Tableaux

Tableau 1 :	Classification botanique du giroflier.....	05
Tableau 2 :	Les principaux constituants chimiques de <i>S. aromaticum</i>	09
Tableau 3 :	Classification botanique de la plante.....	11
Tableau 4 :	Bienfaits potentiels du lin pour la santé.....	15
Tableau 5 :	Récapitulatif des structures, quantités, familles chimiques et propriétés des principaux composants de clous de girofle.....	16
Tableau 6 :	Composition en acides gras de l'huile de lin.....	20
Tableau 7 :	Concentration en Sécoisolacirésinol et Matairesinol ($\mu\text{g}/100$ g matière sèche) d'extraits des divers graines comestibles.....	24
Tableau 8 :	Activités antimicrobiennes de lin.....	27
Tableau 9 :	Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
Tableau 10 :	Espèces de <i>Pseudomonas</i> sp appartenant aux groupes fluorescent et non fluorescent.....	30
Tableau 11 :	Classification d' <i>Escherichia coli</i>	32
Tableau 12 :	Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Tableau 13 :	Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Tableau 14 :	Classification de <i>Bacillus cereus</i>	37
Tableau 15 :	Classification de <i>Candida albicans</i>	40
Tableau 16 :	Les souches de référence à utiliser comme souches cibles.....	43
Tableau 17 :	Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de clou de girofle contre les bactéries Gram positif et Gram négatif associées aux aliments.....	48
Tableau 18 :	Activité antibactérienne de l'Em de clou de girofle contre les bactéries Gram positif et Gram négatif associées aux aliments.....	48
Tableau 19 :	CMI des Ems de clou de girofle contre les bactéries gram positives et gram négatives associées aux aliments.....	50
Tableau 20 :	Effet des extraits aqueux et méthanoliques de clou de girofle sur l'activité antibactérienne.....	54
Tableau 21 :	Effet des extraits aqueux et méthanoliques sur la CMI.....	54
Tableau 22 :	Analyse comparative d'extrait de clou de girofle sur différentes souches	57

	de bactéries.....	
Tableau 23 :	Activité antifongique de <i>Linum usitatissimum</i>	62
Tableau 24 :	Activité antibactérienne de <i>Linum usitatissimum</i>	63
Tableau 25 :	Activité antibactérienne des différents extraits des graines de lin.....	66

Liste des Figures

Figure 1 :	Situation géographique des îles Moluques dans l'archipel indonésien.....	02
Figure 2 :	Boutons floraux du girofle.....	04
Figure 3 :	Fleur de lin (a), Capsules à maturité (b), et leur contenu en graines (c).....	07
Figure 4 :	Fresques égyptiennes	08
Figure 5 :	Utilisation du lin.....	10
Figure 6 :	Formule chimique des tocophérols.....	23
Figure 7 :	Structure des lignanes.....	27
Figure 8 :	Facteurs de virulence de levures du genre <i>Candida</i>	42
Figure 9 :	Echantillon de clous de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	43
Figure 10 :	Echantillon de graines de lin (<i>Linum usitatissimum</i>).....	44
Figure 11 :	Poudre de clous de girofle après broyage.....	44
Figure 12 :	Poudre de graines de lin après broyage.....	45
Figure 13 :	Activité antibactérienne de l'Eté de clou de girofle.....	48
Figure 14 :	Activité antibactérienne de l'Em de clou de girofle.....	49
Figure 15 :	Effet de l'Em de clou de girofle en fonction des zones d'inhibition (en mm).....	49
Figure 16:	Etude comparative des effets des deux extraits éthanolique et méthanolique en fonction des zones d'inhibition (en mm).....	50
Figure 17 :	Analyse comparative d'extrait de clous de girofle sur différentes souches bactériennes en fonction des zones d'inhibition.....	57
Figure 18 :	Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur <i>Bacillus cereus</i>	58
Figure 19 :	Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Figure 20 :	Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur <i>Salmonella typhi</i>	59
Figure 21 :	Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur <i>Escherichia coli</i>	59
Figure 22 :	Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle contre <i>S.aureus</i> ...	69
Figure 23 :	Activité antibactérienne de l'extrait de butanol contre <i>S. aureus</i>	69
Figure 24 :	Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle contre <i>Bacillus</i>	70

	<i>cereus</i>	
Figure 25 :	Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre <i>S.typhi</i>	70
Figure 26 :	Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre <i>K. pneumoniae</i>	71
Figure 27 :	Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'ethyle contre <i>K. pneumoniae</i>	71
Figure 28 :	Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre <i>P.aeruginosa</i>	72
Figure 29 :	Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre <i>E.coli</i>	72
Figure 30 :	Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'ethyle contre <i>E.coli</i>	72

Introduction

INTRODUCTION

Les bactéries pathogènes sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques. Dès lors, la quête des substances anti- infectieuses est devenue un intérêt de santé publique.

À partir d'une succession d'observations et de travaux de nombreux chercheurs dont Pasteur, Joubert, Duchesne puis Fleming. La quête a abouti à la découverte des antibiotiques.

L'évènement de ces nouvelles molécules au lendemain de la seconde guerre mondiale fut un avantage important pour l'homme dans cette lutte contre les maladies infectieuses. Elles ont permis de sauver de nombreuses vies. Ainsi l'introduction des antibiotiques en thérapeutique a fait progresser l'espérance de vie de l'Homme de plus de dix années, sans doute plus qu'aucun autre traitement médical (**Aboya, 2013**).

La découverte des antibiotiques a révolutionné les pratiques de la médecine et nous a laissé croire que le combat contre les infections bactériennes était gagné. Toutefois, l'avancée médicale extraordinaire de l'ère des antibiotiques est aujourd'hui mise en danger par l'adaptation rapide des bactéries et la propagation de leurs résistances, associées à une innovation thérapeutique stagnante, nous obligent à repenser les faits et à concevoir de nouveau l'augmentation de la mortalité par des infections bactériennes (**El Abdani, 2016**).

Depuis plusieurs années, les effets indésirables et toxiques induits par les traitements médicamenteux, tels que les traitements immunosuppresseurs, la corticothérapie à long terme, l'antibiothérapie à large spectre, les radiothérapies aplasiantes prescrits dans les affections dermatologiques deviennent largement considérables. Face à ce constat, afin de contrecarrer aux effets négatifs des médicaments, les chercheurs scientifiques tentent d'explorer d'autres moyens thérapeutiques plus naturels, en particulier ceux issus des plantes (**Bellamine, 2017**).

C'est dans les plus anciennes civilisations qu'est né, puis s'est répandu et transmis l'usage de recourir aux propriétés curatives de certains végétaux. Depuis, le recours aux plantes à des fins médicales rencontre un succès grandissant. Plus qu'un effet mode, il traduit une volonté profonde de retour vers la nature.

De nos jours, l'identification de nouveaux principes actifs et la découverte de nouvelles propriétés pharmacologiques, en balance avec les effets néfastes de certains médicaments de synthèse, ont contribué à faire de la phytothérapie une médecine à part entière et à faire comprendre que les plantes pouvaient être d'authentiques médicaments (**Bouzouita, 2016**).

Parmi les plantes médicinales qui pouvaient être d'authentiques médicaments et qui jouent un rôle important dans la médecine traditionnelle, on cite le cas de clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) et les graines de lin (*Linum usitatissimum*) qui ont des propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes impressionnantes et qui ont un large spectre d'utilisation :

Syzygium aromaticum est un anesthésiant local, notamment pour les douleurs dentaires. Il soulage les douleurs musculaires, les rhumatismes et il a des propriétés anti-inflammatoires, redonne de l'énergie et permet de lutter contre la fatigue. C'est également un antidépresseur. Le clou de girofle est connu dans les écrits ayurvédiques, où il est utilisé contre les douleurs, la sciatique, les problèmes rhumatologiques, comme antibactérien, antifongique et anesthésiant local dans le soin des plaies et dans les odontalgies (**Barbelet, 2015**).

Linum usitatissimum L. fait partie des plantes les plus employées en médecine traditionnelle en raison des diverses propriétés de ses différentes parties notamment sa graine qui est documenté pour avoir un rôle bénéfique contre l'inflammation. La graine de lin englobe de nombreux composés et éléments biologiquement actifs, y compris les alcaloïdes, l'acide linoléique, les lignanes, les peptides cycliques et les polysaccharides (**Ganorkar et Jain, 2013**).

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne de différents extraits de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum* L sur quelques germes pathogènes.

Pour atteindre cet objectif, nous avons suivi les étapes suivantes:

- Tout d'abord nous présentons une recherche bibliographique composée de trois chapitres : **Le premier chapitre**, Description et Intérêts de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*, **Le deuxième chapitre** est sur la composition chimique et le pouvoir antimicrobien de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum* et enfin un **troisième** sur les microorganismes cibles.
- Nous exposons par des travaux expérimentaux réalisés par des chercheurs où nous présentons le matériel et les méthodes et les résultats pour chaque plante étudiée.
- Finalement, ce manuscrit se termine par une discussion -conclusion qui souligne les résultats marquant de ce travail et présente des comparaisons des résultats et quelques critiques et enfin souligne les perspectives de cette étude.

Partie I

Synthèses bibliographiques

Chapitre I

Description et Intérêts de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*

Description et Intérêts de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*

I. *Syzygium aromaticum*

I.1. Définition

Syzygium aromaticum, communément appelé clou de girofle est un bouton floral non ouvert poussant sur un arbre appartenant à la famille des Myrtacées.

C'est une épice couramment consommée qui est utilisée pour la préparation de plusieurs mets délicats dans de nombreux foyers, ce qui en fait une épice précieuse du monde. Le bourgeon de clou de girofle est de couleur marron foncé et possède une odeur intense et légèrement astringente. Les clous de girofle sont consommés sous forme d'épices entières ou moulus en poudre et mélangés à des régimes contenant des céréales, des légumineuses, des noix, des fruits, des légumes, du lait et des produits laitiers, outre son utilisation culinaire, il est également utilisé dans le folklore pour la gestion et le traitement de l'inflammation, des dommages au foie, du cancer, du diabète et d'autres maladies induites par le stress oxydatif pendant plusieurs siècles, probablement en raison de l'abondance de composés bioactifs tels que les constituants volatils et non volatils (**Adefegha et al., 2016**).

Le clou de girofle est une épice aromatique, cultivée en Inde, à Madagascar, au Sri Lanka, en Indonésie, dans le sud de la Chine et dans certaines régions d'Afrique.

L'huile de clou de girofle est médicinale et principalement utilisée pour aromatiser des pâtisseries, des sauces spéciales et des condiments, les utilisations courantes du girofle ont été attribuées à certaines de ses activités biologiques, insecticides et antioxydantes (**Oluwasina et al., 2019**).

Cette plante est considérée comme une plante exerçant un large éventail d'activités antibactériennes et antioxydantes (**Osanloo et al., 2018**).

I.2. Histoire de l'épice

Le clou de girofle était très bien connu des Chinois et cela bien avant l'ère chrétienne. À cette époque, il fallait se rafraîchir l'haleine en mâchant quelques clous avant de pouvoir parler à l'empereur. Il a apparut en Europe vers le IV^{ème} siècle, lorsque l'empereur Constantin, offrit au pape Sylvestre des richesses d'or, d'argent, d'encens et d'épices parmi lesquelles plus de 50 kg de clous de girofle.

Au Portugal, Vasco de Gama passa par le cap de bonne espérance et réussit à atteindre l’océan indien. Tout au long du XVIème siècle les portugais détinrent le monopole du clou de girofle. Celui –ci passa aux mains des hollandais en 1605.

A cette époque, les hollandais fournissaient main d’œuvre et bateaux aux grandes expéditions européennes. Ils ont su profiter de leur position dominante dans les transports maritimes pour prendre le contrôle des îles Moluques. Bientôt, ils contrôlèrent aussi le commerce du poivre et de la cannelle.

Suite à une chute des prix, les hollandais brûlèrent les girofliers en vue de concentrer les plantations dans un petit groupe d’îles et notamment à Amboine, pour empêcher leurs rivaux d’acheter les graines et de cultiver leurs propres arbres.

Il était alors interdit d’en exporter les graines ou les plantules sous peine de mort. Les indigènes se révoltèrent dans une bataille sanglante car dans les îles Moluques, un giroflier était planté à chaque naissance. Les indigènes pensaient que le destin de l’arbre était lié au destin de l’enfant.

Finalement, afin de mieux contrôler le monopole, les hollandais décidèrent que les îles devaient restées inhabitées, et 60000 personnes furent massacrées.

Malgré tout ces efforts pour garder l’exclusivité du commerce du clou de girofle, un compatriote, Pierre Poivre, intendant des îles de France et de Bourbon, réussit au terme de plusieurs années à faire sortir clandestinement le giroflier des îles Moluques en 1769. Parmi les cinq girofliers introduits à Bourbon, quatre périrent, et le survivant devient l’ancêtre de tous les girofliers présents aujourd’hui sur l’île. C’est par ce chemin que le giroflier fut introduit dans d’autres régions chaudes comme Cayenne, Saint Domingue et à la Martinique. Par la suite Zanzibar deviendra l’un des plus importants centres de production, puis viendra le tour de Madagascar et de l’Indonésie.

Fin XVII ème les anglais s’emparèrent de l’Inde et de Ceylan (ancien Sri- Lanka). Les états unis se lancèrent eux aussi dans la course aux territoires, un peu plus tard mais ont fait de Salem un grand centre de commerce du poivre.

Si les épices étaient très onéreuses, les cultivateurs locaux étaient exploités. Mais ces prix élevés étaient perçus comme un dédommagement en contre partie des capitaux engagés, des vies sacrifiées, des longs et périlleux voyages en mer, et de l’insécurité des pays d’outre –mer.

De nos jours, les clous de girofle sont disponibles dans toutes les grandes surfaces, à des prix accessibles, après avoir bouleversé des civilisations entières et couté la vie à de nombreux hommes (Barbelet, 2015).

I.3. Description botanique de la plante

Les clous de girofle sont des boutons floraux séchés de l'arbre tropical *Eugenia caryophyllata* communément appelé « Giroflier » qui est un arbre à feuilles persistantes atteignant une hauteur allant de 7 à 13 m (Lakshmeesha *et al.*, 2019).

Cet arbre appartient à la famille des Myrtacées qui comprend des arbustes et des arbres avec environ 145 genres et plus de 500 espèces trouvées dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier.

Le genre *Syzygium* comprend environ 500 espèces de plantes à fleurs à feuilles persistantes et les fruits de nombreuses plantes sont comestibles (Famuyide *et al.*, 2019).



Figure 2 : Boutons floraux du girofle (Adli, 2015).

Tableau 1 : Classification botanique du giroflier (Adli, 2015).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous- classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Syzygium</i>
Espèce	<i>S.aromaticum</i>

I.4. Pharmacologie de la plante

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la mauvaise haleine. En usage externe contre le rhumatisme, les myalgies (douleurs musculaires), la sciatique et anesthésiant local dans les soins des plaies. Les clous de girofle sont aussi utilisés dans le traitement des troubles digestives : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations et flatulences.

En agriculture, l'huile de *Syzygium aromaticum* possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons (Benzeggouta, 2015).

I.5. Propriétés et utilisations

I.5.1. Activité anti inflammatoire, anti cancérigène et soin buccale

Le clou de girofle provoque une réduction de l'inflammation, inhibition des prostaglandines, leucotriènes, de chimiotactisme des leucocytes ainsi une inhibition de la synthèse des radicaux libres par les leucocytes. Il a été étudié comme un agent potentiel anti cancérigène et il a la capacité d'éliminer les sarcomes, les métastases intra maxillaires, les tumeurs bénignes et les

ostéites des maxillaires, il est même utilisé en médecine dentaire pour ses propriétés analgésiques (**Ghedira et al., 2010**).

I.5.2. Activité antinociceptive

L'emploi du clou de girofle comme analgésique est rapporté depuis le 13^{ème} siècle, pour les maux de dents, la douleur et les antispasmodiques, l'eugénol étant le principal composé responsable de cette activité. Le mécanisme évolué a été attribué à l'activation des canaux calcium et chlorure dans les cellules ganglionnaires. Les effets dépendant de la tension de l'eugénol dans les canaux sodiques et calciques et dans les récepteurs exprimés dans les ganglions du trijumeau ont également contribué à l'effet analgésique du clou de girofle. D'autres résultats montrent que l'effet analgésique de cette épice est du à son action en tant qu'agoniste de la capsaïcine (Irritant de l'épithélium des cellules des mammifères) (**Daniel et al., 2009**).

I.6. Toxicité des huiles essentielles de clou de girofle

Les huiles essentielles issues du giroflier peuvent contenir du Méthyleugénol (en faible quantité). Il s'agit d'une substance classée comme génotoxique. Les mécanismes sont mal connus, mais l'hypothèse suggère que le méthyleugénol pourrait induire une endoreduplication et inhiber la topoisomérase II. Ces phénomènes endommagent le matériel génétique des cellules.

Ce n'est pas la seule cause de cette toxicité. Un des facteurs principaux est la présence d'eugénol, ou plutôt la formation de son métabolite. En effet, l'eugénol est métabolisé en quinone méthide qui est lui toxique pour l'organisme. L'eugénol, en se métabolisant en quinone méthide produit un effet antioxydant (bénéfique), mais le métabolite ainsi formé est lui pro-oxydant (donc néfaste).

Le principal organe où se produit le métabolisme des médicaments (ou autre principe actif) est le foie. L'eugénol est donc métabolisé dans le foie. Le quinone méthide y provoque une toxicité, donc une hépatotoxicité (**Barbelet, 2015**).

II. *Linum usitatissimum*

II.1. Définition

Le lin est une des plantes cultivées pour son huile et ses fibres, son nom botanique est *Linum usitatissimum* qui a été donné par Linné en 1857. C'est une plante rare à l'état spontané, elle est cultivée en qualité de plante textile ou oléagineuse en fonction de la variété considérée, il y a plus de 200 variétés cultivées dans la liste de l'organisation du commerce international. Dans le monde, il y a environ 10000 lignées pures ou écotypes conservés dans des collections. La production annuelle de lin est de 3.06 millions de tonnes. Le Canada est le plus grand producteur, environ 38% de la production, suivie par la Chine, les Etats-Unis, l'Inde et l'UE (Beroual, 2014).

Linum usitatissimum est une plante à fleurs bleues qui produit de petites graines plates dont la couleur va du jaune doré au brun rougeâtre. Le lin est utilisé généralement sous forme de graines entières, de graines broyées, ou d'huile (Abidi et al., 2019).



Figure 3 : Fleur de lin (a), capsules à maturité (b) et leur contenu en graines (c)

(Alachaher, 2018).

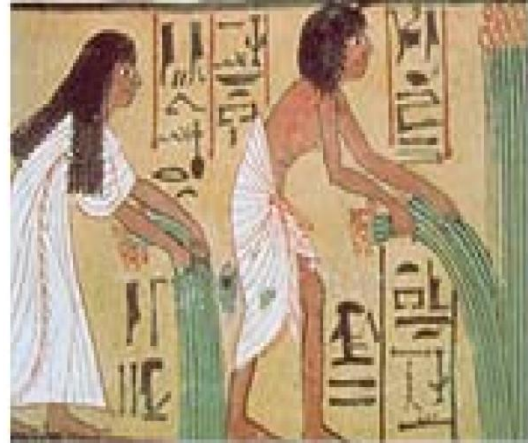
II.2. Historique de la plante

Le lin, plante de la famille des Linacées, fut l'une des premières plantes cultivées par l'Homme. Des traces de son existence datant de -8000 ans avant J.C. ont ainsi été découvertes dans des cités lacustres suisses. Néanmoins son origine (probablement des hauts plateaux d'Asie) n'est pas connue. Son utilisation a été étendue par l'Egypte des pharaons où

les momies étaient entourées de bandelettes de lin. De plus, des fresques retrouvées dans les pyramides illustrent la culture du lin.



(a) Détail d'un relevé de fresque par Cailliaud



(b) Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem. Der el Medinah.

Figure 4 : Fresques égyptiennes (Savoire, 2008).

La culture du lin a été introduite en Europe par Charlemagne au cours du premier millénaire après J.C. Sa génération quant à elle date du XI^{ème} siècle. Il était cultivé principalement en vue de l'utilisation de ses fibres pour la fabrication de textiles (industrie linière). La conquête du nouveau monde a vu son introduction outre atlantique et fut également la cause de son déclin. En effet le développement de la culture du coton en Amérique et l'amélioration des conditions de transport a conduit à la diminution progressive des surfaces cultivées. Au cours des années 1970, la culture a connu un renouveau en France grâce à l'apparition d'aides européennes pour sa culture (Savoire, 2008).

II.3. Description botanique de la plante

Le lin est une angiosperme dicotylédone annuelle de la famille des Linaceae du genre *Linum* qui comporte environ 200 espèces. Sur la base de critères morphologiques, Linné (1753) a distingué quatre variétés de lin cultivé parmi lesquelles *Linum usitatissimum* est la plus cultivée aujourd'hui. L'espèce *usitatissimum* regroupe deux grandes variétés destinées à la production de graines ou de fibres. Les variétés de lins graines ont une tige relativement

courte à ramifications secondaires nombreuses, tandis que les variétés de lins fibres possèdent une tige plus élevée et moins ramifiée (Nolin, 2009).

Tableau 2 : Classification botanique de *Linum usitatissimum* (Raja Narender *et al.* , 2016).

Kingdom	Plantae
Order	Malpighiales
Family	Linaceae
Genus	<i>Linum</i>
Species	<i>L.usitatissimum</i>
Binominal Name	<i>L.usitatissimum.L</i>

II.4. Propriétés et utilisations

Les graines de lin sont une source riche en acide alpha linoléique (ALA), lignanes et fibres alimentaires, les lignanes sont des phytoestrogènes, composés qui agissent comme des œstrogènes chez les animaux et l'homme. De plus, le lin abaisse les concentrations en cholestérol total sérique et contribue à réduire le risque des maladies cardio et cérébro – vasculaires, en partie grâce aux actions de l'ALA.

Par ailleurs, la consommation quotidienne du lin augmente l'apport en ALA, les fibres alimentaires du lin exercent un effet laxatif et aident au bon fonctionnement de l'intestin.

Le gout de noisette agréable du lin le rend un ajout idéal aux céréales chaudes et froides, au lait frappé, aux biscuits et autres produits de boulangerie, au pain de viande, aux pâtes et à la soupe (Alachaher, 2018).

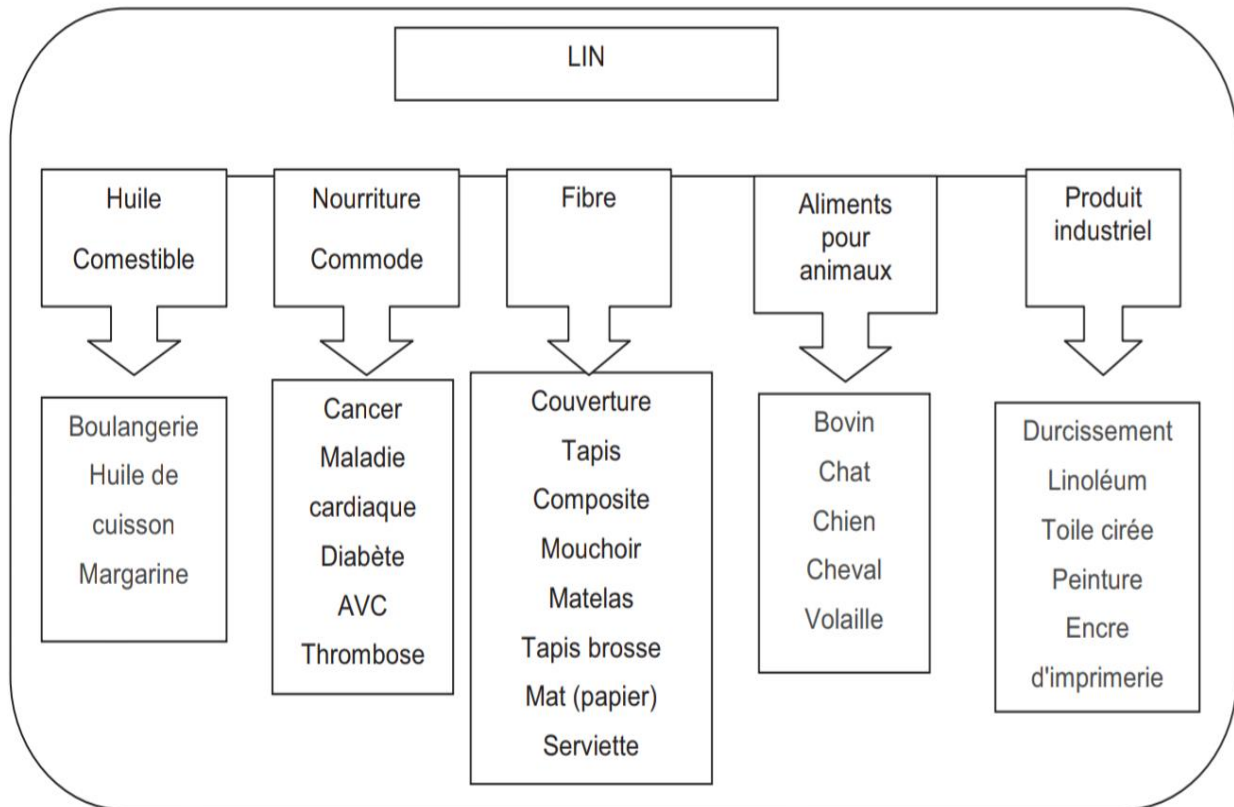


Figure 5 : Utilisation du lin. (Beroual, 2014).

L'acide disponible dans les acides gras de lin a une activité antioxydante et un effet protecteur contre certaines maladies telles que les maladies cardiaques et l'athérosclérose. Certaines cires sont extraites de la transformation des fibres de *Linum usitatissimum*. Ses composés sont traditionnellement utilisés pour traiter les problèmes de peau, soulager la douleur, en particulier les maux de tête, et pour ses propriétés sédatives. Les lignanes des phytoestrogènes ont une structure similaire à celle de l'œstrogène humain et protègent l'organisme de certaines maladies comme le diabète, les maladies cardiovasculaires, le cancer de la poitrine, le trouble du gros intestin, la prostate, les maladies de l'appareil digestif, la migraine et l'ostéoporose (Rafieian-Kopaei *et al.*, 2017).

Tableau 3 : Bienfaits potentiels du lin pour la santé (Alachaher, 2018).

Composés de graines de lin	Bienfaits potentiels pour la santé
Graine entière ou broyée	-Réduction du cholestérol total et du cholestérol (LDL). -Réduction de la réponse glycémique postprandiale -Diminution de l'inflammation et du risque du cancer
Fibres solubles Fibres insolubles	-Réduction de la cholestérolémie et de la glycémie -Régulation de la fonction intestinale
Acides alpha- linoléique (ALA)	-Réduction de la cholestérolémie et des concentrations de biomarqueurs inflammatoires -Réduction du risque de coronaropathie, d'accident vasculaire cérébral et de cancer
Lignanes (SDG)	-Traitement de l'hypertrophie de la prostate -Prévention du cancer (cancer du sein, du colon, et du poumon, leucémie) -Maîtrise de la néphropathie lupique (insuffisance rénale) - Réduction des risques liés aux maladies cardiovasculaires, aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, à la polyarthrite rhumatoïde et au diabète -Effet antitumorigène sur certains cancers -Effets hypocholestérolémiants

II.5. Effets thérapeutiques du lin

Les acides gras oméga-3 ont deux axes de valorisation ; le premier réside dans leur importance quantitative et leur rôle dans le cadre de la mise en place et du maintien de divers organes, surtout le cerveau. Le second réside dans la prévention de diverses pathologies et des maladies cardiovasculaires. L'huile de lin et les graines de lin sont considérées comme de véritables aliments indispensables pour la santé. Elles méritent d'être classées parmi les aliments bons pour la vie. Le lin n'est pas un nouvel aliment. Il est en fait un des plus anciens et peut être un des aliments originaux précieux en raison de ses propriétés de guérison. C'est une plante millénaire aux vertus médicinales (Halligudi, 2012)

II.5.1. Effets laxatifs et émoullients

Les mucilages sont des polysaccharides qui possèdent une très importante capacité de gonflement en milieu humide, c'est à eux que la graine doit ses capacités laxatives et émoullientes citées dans de nombreux traités. Notamment en cas de constipation chronique

sous forme concassée, les graines de lin absorbent les liquides intestinaux. Les mucilages favorisent le drainage du colon et contribuent à ramollir les selles et à faciliter leur évacuation (Blumenthal *et al.*, 2000)

II.5.2. Effets anti inflammatoires, antioxydants et anti cancéreux

Aussi grâce aux mucilages, les graines de lin prodiguent un effet calmant et anti inflammatoire réduisant l'irritation du colon dans les infections comme les colites, l'inflammation intestinale et les hémorroïdes. Il est sans doute pertinent de souligner ses propriétés, à une époque où la mode consiste parfois à utiliser les graines de lin pour bénéficier d'allégations nutritionnelles de type riche en oméga-3. Même si la digestibilité de ces graines crues est extrêmement faible, le lin contient également des lignanes qui appartiennent à la famille des phytoestrogènes ; ces lignanes sont douées de propriétés anti oxydantes et anticancéreuses (Chun *et al.*, 2012).

L'ingestion de la graine comme prévention du cancer du sein, de l'utérus et de la prostate est éventuellement une protection contre une récurrence (Halligudi, 2012).

II.5.3. Effets sur le système respiratoire et immunitaire

La graine de lin est efficace en cas de troubles respiratoires et urinaires. Elle calme les douleurs pulmonaires et à un moindre degré l'irritation de l'appareil urinaire. Elle s'avère efficace contre la toux chronique ou aiguë, la bronchite, l'emphysème et la cystite chronique, également comme une prévention utile contre l'angine de poitrine, le rhume et l'artériosclérose. Egalement pour réduire les taux de glycémie postprandiale et du cholestérol (Abidi *et al.*, 2019).

II.6. Toxicité et effet indésirable de la graine de lin

Les graines de lin doivent être utilisées avec précaution, puisqu'il existe un risque d'occlusion intestinale ou œsophagienne en particulier si elles sont avalées sans quantité de liquide suffisante (d'au moins 150 ml d'eau) ou associé à des substances diminuant la motilité intestinale telles que le loperamide et d'autres dérivés opioïdes .

Ces graines sont contre-indiquées en cas d'antécédents personnels ou familiaux de cancer hormonaux dépendants tels que le cancer du sein ou des ovaires, car la lignane contenue dans

le lin fait partie des phytoestrogènes et par conséquent peut alimenter directement une tumeur oestrogéno-dépendante.

Ces graines sont également contre –indiquées dans toutes les maladies liées à la thyroïde puisqu’elles contiennent les cyanogènes qui sont convertis dans l’organisme en plusieurs étapes en thyocyanate, un composé qui inhibe l’utilisation de l’iode par la glande thyroïde **(Hanou, 2018)**.

Chapitre II

Composition chimique et Pouvoir
antimicrobien de *Syzygium aromaticum*
et *Linum usitatissimum*

Composition chimique et pouvoir antimicrobien de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*

I. *Syzygium aromaticum*

I. 1. Composition chimique des clous de girofle

Le clou de girofle est constitué principalement de l'eugénol, le carvacrol, le thymol et le cinnamaldéhyde.

Il permet d'enrichir le goût de divers aliments, sa saveur et son arôme sont dus à la présence d'eugénol (70-85%), les deux autres principaux composés sont l'acétate d'eugényle (15%) et le β caryophyllène (5-12%) , il est proclamé que l'eugénol est utilisé comme analgésique dans les traitements dentaires et qu'il est généralement associé à l'oxyde de zinc pour être utilisé comme plombage dentaire .

L'eugénol révèle des propriétés antimicrobiennes contre de nombreux agents pathogènes présents dans les aliments. En outre, il présente une forte propriété antifongique contre les espèces de *Candida*, *d'Aspergillus* et de dermatophytes (**Arunava Das et al., 2018**).

Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) représente l'une des principales sources végétales de composés phénoliques sous forme de flavonoïdes, d'acides hydroxybenzoïques, d'acides hydroxycinamiques et d'hydroxyphényl propènes. L'eugénol est le principal composé bioactif du clou de girofle, qui se trouve à des concentrations allant de 9381.70 à 14650 mg pour 100 g de matière végétale fraîche. Parmi les acides phénoliques, l'acide gallique est le composé trouvé en concentration élevée (783.5 mg /100 g de poids frais). Cependant, d'autres dérivés d'acide gallique sous forme de tanins hydrolysables sont présents à des concentrations élevées (2375.8 mg /100 g). Les autres acides phénoliques trouvés dans *Syzygium aromaticum* sont des acides caféique, férulique, élagique et salicylique. Les flavonoïdes comme le Kaempférol, la Quercétine et ses dérivés (glycosylés) se trouvent également dans le clou de girofle à des concentrations faibles (**Shan et al., 2005**).

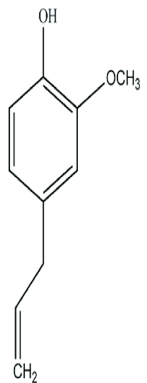
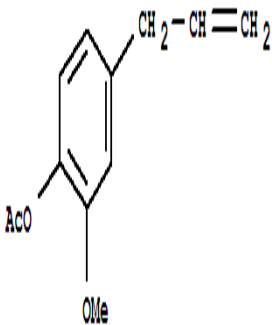
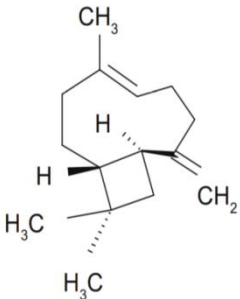
Des concentrations allant jusqu'à 18 % d'huile essentielle se trouvent dans les boutons floraux de girofle. En gros, 89% de l'huile essentielle de clou de girofle est de l'eugénol et 5% à 15% de l'acétate d'eugényle et du β -caryophyllène (**tableau 5**). Un autre composé important trouvé dans l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* dans des concentrations allant jusqu'à

2.1 % est l' α -humulène. D'autres composés volatils présents à des concentrations plus faibles dans l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sont le β -pirène, le limonène, le farnésol, le benzaldéhyde, la 2- heptanone et l'hexanoate d'éthyle (Jirovetz *et al.*, 2006).

Tableau 4: les principaux constituants chimiques de *S. aromaticum* (Adli, 2015).

Famille de constituants	Détail des constituants
Huile essentielle	Eugénol (80 à 90%) Acétate d'eugénol (5 à 10%) Alpha et Béta caryophyllène (5 à 12 %) Cétones aliphatiques
Tanins (12%)	Tanin galique et ellagique, acide gallique, acide protocatéchique, eugéniine Casuarictine, tellimagrandine.
Flavonoïdes (0.4%)	Quercétine, kaempférol, rhamnétine, eugénitine
Chromones	Biflorine, isobiflorine, hétérosides de chromone
Corps gras	Stérols, glycosides stéroliques, huile grasse (10%)
Autres	Phénols, triterpènes

Tableau 5: Récapitulatif des structures, quantités, familles chimiques et propriétés des principaux composants de clous de girofle (**Barbelet, 2015**).

Nom de la molécule	Structure	Quantité	Famille chimique	Propriétés
Eugénol		75-88%	Phénylpropanoïdes (phénols)	Anti infectieux (bactéricide, Virucide, fongicide) Anesthésiant Antiagrégant Plaquettaire
Acétate d'eugényle		4-15%	Ester aromatique	Antispasmodique Musculotrope et neurotrope Stimulant général
β -caryophyllène		5-14%	Sesquiterpènes	Calmant et anti inflammatoire

I.2. Activités biologiques des clous de girofle

Le clou de girofle est une plante médicinale importante en raison de la large gamme d'effets pharmacologiques consolidés à partir d'une utilisation traditionnelle pendant des siècles et rapportés dans la littérature. Un examen de plusieurs rapports scientifiques sur les activités

biologiques les plus importantes du clou de girofle et de l'eugénol a montré l'importance de ce produit végétal dans ce domaine.

I.2.1. Activité antioxydante

Le département américain de l'Agriculture, en collaboration avec des universités et des entreprises privées, a créé une base de données sur la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante de différents types d'aliments. Sur la base de cette base de données, Pérez-Jiménez et ses collaborateurs ont classé les 100 sources alimentaires les plus riches en polyphénols. Les résultats indiquent que les plantes à épices sont le type d'aliment à plus forte teneur en polyphénols suivi des fruits, des graines et des légumes. Parmi les épices, le clou de girofle a montré la teneur la plus élevée en polyphénols et en composés antioxydants (**Pérez-Jiménez et al., 2010**).

Les antioxydants sont des composés importants pour le traitement des déficits de mémoire causés par le stress oxydatif. Le prétraitement à l'huile de *Syzygium aromaticum* diminue le stress oxydatif évalué par le malondialdéhyde et réduit les niveaux de glutathion dans le cerveau des souris. Cette étude a conclu que l'huile de clou de girofle pourrait rétablir la mémoire et les déficits d'apprentissage causés par la scopolamine à court et à long terme en raison de la réduction du stress oxydatif. Des améliorations de la mémoire et de l'apprentissage par l'huile de clou de girofle ont été observées chez les souris traitées à la scopolamine à des doses de 0.025, 0.05 et 0.1 ml/kg par rapport au groupe témoin de solution saline dans un test de labyrinthe. Ces travaux prouvent les bienfaits de l'emploi du clou de girofle comme riche source d'antioxydants pour le traitement des déficits de mémoire causés par le stress oxydatif (**Halder et al., 2011**).

Des extraits de bourgeons de girofle pourraient également être utilisés comme antioxydants alimentaires. La durée de conservation et la stabilité à la friture des extraits de l'épice *Syzygium aromaticum* encapsulés et non encapsulés riches en eugénol ont été testées dans l'huile de soja. La libération contrôlée d'antioxydants pourrait être obtenue de la poudre de girofle obtenue par séchage encapsulée ou par pulvérisation en utilisant de la maltodextrine et de la gomme arabique (**Chatterjee et al., 2013**).

I.2.2. Activité antimicrobienne

Des études ont été faites sur l'effet de l'eugénol sur la croissance des bactéries Gram positif (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Pseudomonas aeruginosa*) utilisant la méthode de diffusion, l'eugénol inhibe la croissance de toutes ces bactéries, il possède aussi une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candida albicans*, le *Cryptococcus neoformans* ou l'*Aspergillus fumigatus*. Il a un effet inhibiteur sur : le virus de l'Herpes simplex, il exerce aussi des effets sur les virus à plusieurs niveaux : sur la fusion des cellules virales, sur la protéase de VCH, dans le traitement de l'hépatite, et dans l'inhibition de la synthèse de l'ADN viral (Adli, 2015).

Les activités antimicrobiennes du clou de girofle ont été prouvées contre plusieurs bactéries et souches fongiques. L'activité antimicrobienne de différentes plantes d'épices indiennes comme la menthe, la cannelle, la moutarde, le gingembre, l'ail et le girofle a été évaluée. Le seul échantillon qui a montré un effet bactéricide complet contre tous les agents pathogènes d'origine alimentaire testés (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) était l'extrait aqueux de clou de girofle à 3%. A la concentration de 1%, cet extrait a également montré une bonne action inhibitrice (Sofia et al., 2007).

L'activité antibactérienne du poivre noir, du géranium, de la muscade, de l'origan, du thym et du clou de girofle a été testée contre 25 souches de bactéries Gram positif et Gram négatif. Les huiles ayant le spectre d'activité le plus large étaient respectivement le thym, l'origan et le clou de girofle (Rojas et al., 2014).

L'activité antibactérienne de l'huile de clou de girofle, d'origan (*Origanum vulgare*), de baie (*Pimenta racamosa*) et de thym (*Thymus vulgaris*) a été testée contre *E.coli* O157:H7 montrant les différents degrés d'inhibition de ces huiles essentielles. De même, des formulations contenant de l'eugénol et du carvacrol encapsulés dans un tensioactif non ionique ont été testées contre quatre souches de deux agents pathogènes d'origine alimentaire importants *E.coli* O157:H7 et *Listeria monocytogenes*, les résultats renforcent l'emploi de l'eugénol pour inhiber la croissance de ces microorganismes dans les surfaces en contact avec de la nourriture (Pérez -Conesa et al., 2006).

De l'huile de clou de girofle pure ou des mélanges avec de l'huile de romarin (*Rosmarinus officinalis* spp) ont été testés contre *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*,

Bacillus subtilis, *E.coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* et les résultats ont montré des concentrations minimales inhibitrices entre 0.062% et 0.5% (v/v) qui est prometteur en tant qu'agent anti nuisible ou en tant que conservateur alimentaire (Fu *et al.*, 2007).

L'activité anticandidale de l'eugénol et du carvacrol a été testée dans un modèle de candidose vaginale, des techniques microbiennes et histologiques ont été utilisées pour comparer les échantillons avec les témoins. Les résultats suggèrent que l'eugénol et le carvacrol pourraient être un agent antifongique prometteur pour le traitement et la prophylaxie de la candidose vaginale (Chami *et al.*, 2004).

En plus du large spectre d'activité de l'eugénol contre les bactéries, une étude a montré que l'eugénol et le cinnamaldéhyde à 2 µg/ml inhibaient la croissance de 31 souches de *Helicobacter pylori*, après 9 h et 12 h d'incubation, respectivement, étant plus puissant que l'amoxicilline et sans développer de résistance. L'activité et la stabilité de ces composés ont été vérifiées à de faibles valeurs de pH car *Helicobacter pylori* réside dans l'estomac (Ali *et al.*, 2005).

I.2.3. Cytotoxicité de l'eugénol

Après plusieurs années de recherches intensives, différents cibles moléculaires pour la prévention et le traitement du cancer ont été identifiées. L'eugénol a été sélectionné comme molécule potentielle pouvant interférer avec plusieurs voies de signalisation cellulaire, en particulier le facteur nucléaire Kappa B (NF-KB). Ce facteur est activé par les radicaux libres et se traduit par l'expression de gènes qui suppriment l'apoptose et induisent entre autres la transformation cellulaire, la prolifération, l'invasion et les métastases (Aggarwal et Shishodia, 2006).

Les effets antioxydants, cytotoxiques et génotoxiques de l'eugénol et du bornéol ont été testés pour leur capacité à moduler la résistance contre les effets néfastes du H₂O₂ sur l'ADN de différentes souches de cellules humaines. Les résultats ont montré que l'eugénol présentait un potentiel antioxydant notable à toutes les concentrations testées. Il a également été démontré que les effets cytotoxiques de l'eugénol étaient plus forts que ceux du bornéol (Slamenova *et al.*, 2009).

II. *Linum usitatissimum*

II. 1. Composition chimique de la graine de lin

La graine de lin contient environ 40 % de lipides, 30% de fibres alimentaires et 20% de protéines. Elle est riche essentiellement des huiles insaturées dont l'acide alpha linoléique (**ALA**) ou oméga 3, l'appellation linoléique provient de l'allemand Lein oïl (huile de lin). L'huile de lin est unique parce qu'elle est composée de 73 % d'acides gras polyinsaturés (**AGPI**), de 18 % d'acides gras mono -insaturés (**AGMI**) et de 9% d'acides gras saturés (**AGS**). La composition chimique varie considérablement entre les variétés et dépend aussi des conditions de l'environnement dans lesquelles la plante est cultivée (**Beroual, 2014**).

II.1.1. l'huile de lin

Les graines de lin contiennent de 35 à 45 % d'huile, ce qui permet de classer le lin dans la catégorie des oléagineux. Une partie de l'huile se trouve dans la cuticule (10%). Cependant la majorité de l'huile est localisée au niveau des cellules des cotylédons (78%) et dans l'endosperme (12%) sous forme de globules lipidiques ou oléosomes qui contiennent des lipides neutres (triglycérides, de 96% à 98%), des lipides polaires (phospholipides et glycolipides, de 1 à 1.6 %) et des oléosines (1.3 %) (**Daun et al., 2003**).

Tableau 6: composition en acides gras de l'huile de lin (**Daun et al., 2003**).

Nom commun de l'acide gras	Nomenclature	Répartition (%)
Acide palmitique	C16 :0	4-6
Acide stéarique	C18 :0	2-3
Acide oléique	C18 :1 ω 9	10-22
Acide linoléique	C18 :2 ω 6	12-18
Acide α -linoléique	C18 :3 ω 3	50-62

Les variations de teneur en acide α -linoléique sont principalement dues au génotype du lin, ainsi qu'à ses conditions de culture. Certaines études ont montré que le lin cultivé à basse température contenait une huile de haute insaturation (**Labalette et al., 2011**).

II.1.2. Protéines

Le taux de protéines dans les graines de lin varie entre 10.5 et 31 %. Ces variations sont tributaires du génotype, cependant les conditions pédoclimatiques ont également un impact sur l'accumulation des protéines du lin qui se répartissent majoritairement dans les cotylédons (76%) et dans l'endosperme (16%). Les deux principales protéines identifiées sont les protéines de stockage : l'albumine et la globuline. La protéine d'albumine dans la graine varie entre 26 et 41 % du total des protéines, cette proportion dépendant des variétés de lin

(**Hall et al., 2006**).

II.1.3. Composés glucidiques

Deux types de composés glucidiques sont identifiés dans la graine mature : l'amidon, présent en faible quantité (1 à 2 %) et le mucilage (3.4 à 9.4 %) qui est un polysaccharide hétérogène, composé d'oses neutres et acides. Les oses majoritaires identifiés dans le mucilage sont, le D-xylose, l'acide D-glucuronique, le L-galactose et le L-rhamnose. Les oses minoritaires sont le L-arabinose, le L-fucose et le D-glucose. Cependant la composition du mucilage dépend des variétés de lin et des conditions de culture (**Daun et al., 2003**).

II.1.4. Composés antioxydants du lin

Deux catégories de molécules possédant une activité antioxydante sont présentes dans la graine de lin : les tocophérols et les polyphénols.

II.1.4.1. Les tocophérols

Les tocophérols appartiennent à la classe des vitamines liposolubles. La solubilité dans l'huile des tocophérols est due à la présence d'une chaîne aliphatique à 16 atomes de carbone (**figure 6**). Celle-ci est greffée sur un noyau chromanol qui est à l'origine de l'activité antioxydante des tocophérols qui sont localisés en majorité dans l'amande de la graine (à 74%), les 26 % restant sont situés dans la cuticule (**Fisk et al., 2006**).

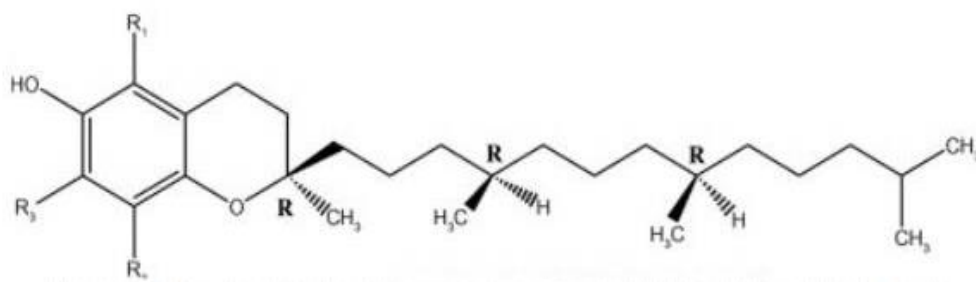


Figure 6: Formule chimique des tocophérols (**Rombaut, 2013**).

Les tocophérols exercent leur action antioxydante en inhibant les réactions de dégradation radicalaires des acides gras insaturés, et préviennent ainsi la dégradation des lipides de réserve dans la graine. L'activité antioxydante est spécifique à chaque tocophérol. On distingue une activité antioxydante plus importante dans l'huile de lin pour le delta-tocophérol. Cette activité a été constatée, par rapport aux autres tocophérols, jusqu'à une concentration de 100 mg /100 g de graines. Au delà de cette concentration, un effet pro-oxydant du delta-tocophérol a été constaté. Par ailleurs, le ratio de tocophérols semble avoir une importance sur la cinétique d'oxydation de l'huile de lin, sans que ce mécanisme soit pour l'instant élucidé. Les études des mécanismes d'action antioxydante des tocophérols suggèrent l'existence d'un optimum de teneur et de ratio en tocophérol nécessaire pour stabiliser l'huile (**Boschin et Arnoldi, 2011**).

Les variations des teneurs en tocophérols rencontrées dépendent de la variété, et des conditions de culture (lieu et climat). Il semble que la température lors de la culture soit un des principaux facteurs influençant la teneur en tocophérols des graines oléagineuses. Plus la température est élevée, plus la teneur en tocophérols est élevée. Cette tendance n'a pas été mise en évidence pour toutes les espèces (**Rombaut, 2013**).

II.1.4.2. Les polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes, qui sont synthétisés par adaptation des plantes à plusieurs conditions de stress biotiques et abiotiques telles que le froid, l'eau, les sécheresses infectieuses, la température et les carences nutritionnelles. Ils sont largement présents dans les légumes, les fruits, les légumineuses, les céréales, les noix et les boissons qui lors de la consommation, réduiraient les développements de plusieurs maladies dégénératives humaines telles que les maladies coronariennes, le cancer, l'hypertension, le diabète, l'ostéoporose et les maladies neurodégénératives. Il existe des milliers de composés

phytochimiques phénoliques qui peuvent être divisés en au moins 10 groupes différents en fonction de leur structure chimique de base. Les flavonoïdes constituent un groupe très important en raison de leur capacité à protéger l'organisme vivant contre les radicaux libres et les espèces réactives oxygénées produites pendant le métabolisme de l'oxygène (**Adefegha et al., 2016**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires spécifiques au règne végétal, et sont caractérisés par la présence d'un cycle benzénique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou liés à un substituant (groupement alkyle, ester ou glucidique). Les lignanes et les acides phénoliques sont les deux catégories de polyphénols identifiés chez le lin. Le lignane caractéristique du lin est le Sécoisolaricirésinol Diglucoside (SDG), il est présent à une concentration de 1 à 1.9 g /100 g et est principalement localisé (66%) dans la pellicule de la graine. Ces molécules sont présentes sous forme glycosylée ou polymérisée. Leur quantification dépend donc essentiellement de la méthode d'extraction employée et de l'étape consécutive d'hydrolyse chimique effectuée, alcaline ou acide. Les principaux acides phénoliques identifiés dans les graines de lin sont l'acide para-hydroxybenzoïque, l'acide férulique, l'acide vanillique, l'acide p-coumarique, et l'acide sinapique.

Les polyphénols de type lignane sont présents dans l'amande de la graine à une concentration de 130 mg /100 g. Les acides phénoliques (vanilline, acide férulique, acide vanillique ainsi que leurs formes méthylées) y sont concentrés à 9 µg / 100 g d'huile et les lignanes (sécoisolaricirésinol, matairesinol et pinorésinol) à 1.1 µg / 100 g d'huile. Ces faibles concentrations peuvent être expliquées par la faible solubilité de ces composés dans l'huile.

Le principal intérêt des polyphénols réside dans leur réactivité chimique, due à la présence du cycle benzénique. Les polyphénols exercent leur action antioxydante selon plusieurs mécanismes. D'une part, ils inhibent des enzymes responsables des réactions enzymatiques d'oxydation (par exemple l'oxydoréductase, la lipoxygénase et la cyclooxygénase). D'autre part, les polyphénols chélatent les ions métalliques permettant de stopper les réactions d'oxydation, les métaux étant des catalyseurs de ces réactions enzymatiques (**Rombaut, 2013**).

II.1.4.2.1. Les lignanes du lin

Le lin est utilisé en pharmacie pour sa graine dont le mucilage agit comme laxatif de lest. L'huile de la graine renferme une forte proportion d'acide alpha linoléique qui joue un rôle

important dans la prévention des maladies cardio vasculaires, en régulant la cholestérolémie et en limitant la constitution des plaques d'athérome. La graine du lin oléagineux est à ce jour la matière première végétale contenant le plus de lignanes phyto-œstrogènes (**PE**), le sécoisolaricirésinol sous forme de diglucoside (**SDG**) y est largement plus abondant que dans toutes les autres graines comestibles (**tableau 7**). Les effets bénéfiques des lignanes du lin (**SDG** en particulier) dans la prévention de cancers hormono-dépendants (sein et prostate) ont été largement documentés ces dernières années par des études épidémiologiques identifiant une relation entre la présence de lignanes dans la ration alimentaire et le taux d'incidence de certains cancers (**Lamblin et al., 2008**).

Tableau 7 : Concentration en Sécoisolaricirésinol et Matairesinol (μg /100 g matière sèche) d'extraits de divers graines comestibles (**Lamblin et al., 2008**).

Graine	Sécoisolaricirésinol	Matairesinol
Lin	165759	529
Blé (son)	868	410
Seigle (son)	462	729
Sarrasin	350	39
Noix de cajou	316	55
Sésame	240	1137
Amande	159	24

II.1.4.2.1.1. Molécule bioactive

L'activité biologique des lignanes du lin est souvent attribuée à leur conversion à la lignane mammifères entérolactones et entérodiol. Les composés intermédiaires générés pendant la digestion et le métabolisme des lignanes du lin, tels que le sécoisolaricirésinol diglucoside (**SDG**), son aglycone et son sécoisolaricirésinol peuvent être la principale molécule bioactive. La plante contient des acides gras polyinsaturés (**AGPI**), dont l'acide alpha- linoléique (oméga 3) (**ALA**) et l'acide linoléique. Il est mal converti par le corps humain en l'acide eicosapentaenoïque (**AEP**) et en l'acide décosahexaenoïque (**ADH**). La graine de lin contient également des acides gras mono insaturés (**AGMI**), tels que l'acide oléique. L'ALA et l'acide linoléique sont tous deux des acides gras essentiels (**AGE**), ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme humain et doivent provenir de l'alimentation, l'ALA est

un précurseur de l'AEP. Il a été démontré que l'ingestion de graines de lin augmentait les niveaux cellulaires AEP d'une manière linéaire.

Toutefois, le composant de lin en acide linoléique (oméga -6) a un effet antagoniste pour la conversion de l'ALA en AEP. Le lin est une source de nourriture concentrée du SDG de Lignanes. La graine de lin contient également de petites quantités de lignanes matairesinol qui peuvent être convertis par les bactéries du colon en lignanes mammifères telles que l'entérodiol et l'entérolactones.

En dehors de son utilisation comme plante oléagineuse, la composition des graines de lin est prometteuse pour son utilisation dans différents produits alimentaires. Les graines de lin est l'une des épices les plus riches en acide alpha linoléique (oméga-3) et en mucilage soluble **(Beroual, 2014)**.

II.1.4.2.1.2. Voie de biosynthèse des lignanes

Les lignanes constituent une classe abondante de métabolites secondaires, qui suscitent un intérêt croissant, en raison de leurs activités, anti-tumorale, antimittotique et antivirale, et de leurs propriétés physicochimiques uniques. Des travaux ont permis d'avancer dans la connaissance de la biosynthèse des lignanes. Cette voie est étroitement liée à celle des autres phénylpropanoïdes, tels que la lignine, un polymère avec lequel ils partagent un précurseur commun : l'alcool coniférylique. Leur voie de biosynthèse en grande partie est similaire à celles des autres phénylpropanoïdes et leur diversité structurale présente un intérêt scientifique réel pour l'étude de l'évolution de la synthèse de métabolites secondaires chez les plantes vasculaires. Contrairement à la lignine, les lignanes ne sont pas ubiquitaires, mais ils sont cependant largement représentés chez les plantes vasculaires. Les lignanes sont localisés principalement dans les tissus ramifiés, et peuvent être isolés à partir d'écorces, de tiges, de racines, mais aussi de graines **(Renouard, 2011)**.

II.1.4.2.1.3. Intérêts pharmacologiques des lignanes

Les lignanes jouent un grand rôle dans le traitement de plusieurs maladies. Les plantes riches en lignanes sont utilisées pour traiter diverses maladies comme le cancer, l'arthrite, l'ulcère et les douleurs. Ces composés possèdent une large gamme d'activités biologiques incluant : l'activité anti tumorale, anti œstrogène, bactéricide, antifongique, anti inflammatoire, cytotoxique, antivirale et antimicrobienne. La recherche scientifique a aussi démontré que les

lignanes sont transformés par les bactéries intestinales en composés qui protègent des maladies hormonales. De nombreux composés appartiennent à cette famille, font l'objet d'exploitation dans un but thérapeutique, par exemple : la podophyllotoxine est utilisé pour le traitement du condylome (Mekhelfi, 2016).

II.1.4.2.1.4. Les lignanes et les lignines

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropanes. Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool coniférique, alcool p-coumarique et alcool sinapique. Le sécoisolaricirésinol et le matairésinol constituent les principales lignanes d'origine végétale. La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine. Il est à noter que la composition de la lignine diffère d'une espèce à une autre (Ghnimi, 2015).

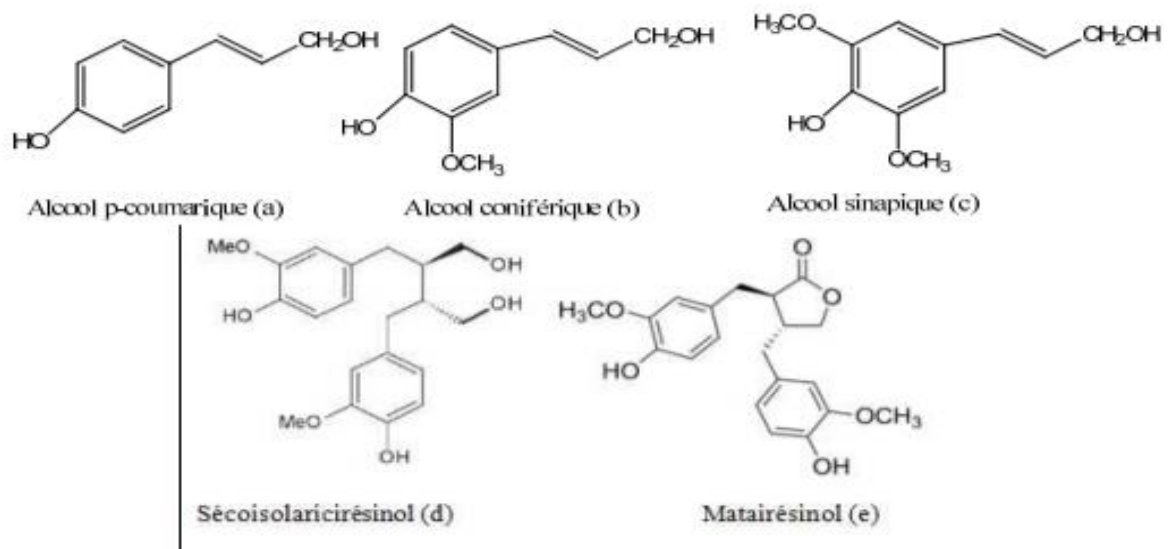


Figure 7: Structure des lignanes

(a), (b) et (c) structures des alcools formant les lignanes et les lignines, (d) et (e) exemples de lignanes (Ghnimi, 2015).

II.2. Activité antimicrobienne des graines de lin

Les activités antimicrobiennes des graines de lin ont été associées à diverses activités antifongiques et antibactériennes. De nombreuses études ont associé les activités antimicrobiennes des graines de lin à la présence de polyphénols naturels en général, ainsi que de lignanes glycosylés (SDG-SMG) et d'aglycones en particulier (SECO ou anhydro-SECO)

(Pag *et al.*., 2014). En outre, des études ont également indiqué que les acides gras agissaient sur les microorganismes indésirables en retardant leur croissance et servaient donc de composant principal des additifs alimentaires antimicrobiens. Des études ont également révélé qu'au lieu de l'huile et des fibres, les résidus du processus d'extraction de l'huile de lin connue sous le nom de tourteau de graines peuvent contribuer aux activités antimicrobiennes car ils sont associés à des acides phénoliques élevés qui présentent des propriétés antimicrobiennes (**tableau 8**). Cependant, à notre connaissance, aucune étude antivirale sur les graines de lin n'a été signalée auparavant (Zuk *et al.*, 2014).

L'huile de lin a une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* (Kaithwas *et al.*, 2011).

Tableau 8 : Activités antimicrobiennes de lin (Fadzir *et al.*., 2018).

Propriétés antimicrobiennes du lin	Microorganismes inhibés
Antibactérienne	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i> et <i>Bacillus pumilus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Vibrio sp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Lactobacillus sporogenes</i>
Antifongique	<i>Candida albicans</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Aspergillus flavus</i> et <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium chrysogenum</i>

II.2.1. Activité antifongique du lin

Des études sur les graines de lin ont montré que *Linum usitatissimum* présentaient d'excellentes activités antifongiques contre plusieurs types de champignons, ceux-ci incluent le *Candida albicans* pathogène humain, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Penicillium chrysogenum* et *Fusarium graminearum*. Des résultats précédents ont rapporté que les oligosaccharides extraits de graines de lin peuvent contrôler la croissance d'agents pathogènes tels que *Alternaria alternata*, *Alternaria solani* et *Candida albicans*, ce qui est en accord avec une étude précédente qui a rapporté que le *Candida albicans* était très susceptible aux huiles de lin fixes (non volatiles) par rapport à la Céfopérazone avec une zone d'inhibition de 10.33 mm et 4.33 mm respectivement (**Kaithwas et al., 2011**). En outre, les graines de lin ont également un potentiel élevé en tant que bon contrôleur fongique dans le domaine de la production et de la technologie alimentaires, car des études précédentes ont montré qu'une activité fongistatique est capable de réguler la dégradation des denrées alimentaires par les champignons *Fusarium graminearum*, *Penicillium chrysogenum* et *Aspergillus flavus*. Une autre étude a rapporté que l'extrait de lignanes de graines de lin a une activité antifongique modérée à 2.5 et 3 mg / l pour *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* respectivement. Le potentiel notable des graines de lin en tant qu'agent antifongique pourrait être dû à leur riche teneur en acides alpha linoléique et en acide linoléique qui sont efficaces pour le traitement des infections fongiques (**Fadzir et al., 2018**).

II.2.2. Activité antibactérienne

Par rapport aux antibiotiques synthétiques tels que la Céfopérazone, l'huile fixe de *Linum usitatissimum* a montré une bonne activité antibactérienne, y compris sur *Streptococcus agalactiae*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus pumilus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, et *Escherichia coli*. Une autre étude a révélé que les lignanes de graines de lin étaient moins efficaces contre les bactéries à Gram négatif telles que *Klebsiella* sp et *Shigella* sp par rapport aux bactéries Gram positif telles que *Staphylococcus aureus*. En outre, des études récentes ont également indiqué l'efficacité des extraits de tourteaux de type lin génétiquement modifiés dans la lutte contre la croissance de *Staphylococcus aureus* et *E. coli*. Une autre étude a également suggéré l'extrait de tourteau comme alternatif pour inhiber la croissance microbienne d'une large gamme et avec une sélectivité partielle (**Zuk et al., 2014**).

Chapitre III

Microorganismes cibles

Microorganismes cibles

I. *Pseudomonas aeruginosa*

I.1. Présentation

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif omniprésent impliqué dans diverses infections nosocomiales et acquises dans la communauté. Grâce à sa capacité à résister à différentes conditions physiques, cette bactérie peut survivre en milieu communautaire et hospitalier. Elle est responsable de plusieurs infections nosocomiales comme la pneumonie, les infections des voies urinaires, les infections du site opératoire et certaines infections d'origine communautaire telles que l'otite externe, la kératite ulcéreuse et les infections des tissus mous (El mouaden *et al.*, 2019). *P. aeruginosa* vit aussi à l'état saprophyte dans l'eau, le sol et les surfaces des végétaux. Ce bacille pyocyanique peut également survivre occasionnellement en commensal dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux (Jonathan, 1999).

I.2. Classification

Le genre *Pseudomonas* appartient au phylum des Protéobactéries, à la classe des Gammaprotéobactéries, de l'ordre des Pseudomonadales, et la famille des Pseudomonadaceae (tableau 9). D'autres genres sont inclus dans cette famille comme les genres *Azomonas*, *Azotobacter*, *Chryseomonas*, *Flavimonas*, et *Rhizobacter* (El Meskini, 2011).

Tableau 9 : Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (El Meskini, 2011).

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>P.aeruginosa</i>

I.3. Caractéristiques

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, droits et fins (0.5 à 1.3 µm de diamètre), mobiles par une ciliature polaire (un ou plusieurs flagelles), non sporulés, aérobies strictes, non exigeants. *P.aeruginosa* ne possède qu'un seul flagelle polaire.

Les espèces de *Pseudomonas* peuvent produire des pigments fluorescents ou non fluorescents (**tableau 10**). Certaines produisent un pigment fluorescent appelé Pyoverdine (jaune-vert) jouant le rôle de sidérophore. Ces espèces sont classées dans le groupe des *Pseudomonas* fluorescents : *P.aeruginosa*, *P.chlororaphis* subsp. *Chlororaphis*, *P.fluorescens*, *P.monteilii*, *P.putida*, *P.plecoglossidica*, *P. simiae*, *P.syringae*. Ces pigments ont un rôle dans la virulence de la bactérie. Les *Pseudomonas* du groupe non fluorescent sont notamment les espèces *P.alcaligenes*, *P.fragi*, *P. mendocina*, *P.stutzeri*, *P.pseudoalcaligenes* (**Tournus, 2016**).

Tableau 10 : Espèces de *Pseudomonas* sp appartenant aux groupes fluorescent ou non fluorescent (**Tournus, 2016**).

Groupe fluorescent	Groupe non fluorescent
<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.alcaligenes</i>
<i>P.chlororaphis</i>	<i>P.fragi</i>
<i>P.fluorescens</i>	<i>P.fulva</i>
<i>P.monteilii</i>	<i>P.mendocina</i>
<i>P.mosselii</i>	<i>P.pseudoalcaligenes</i>
<i>P.putida</i>	<i>P.stutzeri</i>
<i>P.syringae</i>	
<i>P.simiae</i>	
<i>P.tawainensis</i>	

I.4. Pathogénicité et facteurs de virulence

La pathogénicité de *Pseudomonas aeruginosa* est liée à la production d'un arsenal de facteurs de virulence classés en cellules associées et secrétées. L'un de ces facteurs de virulence qui jouent un rôle principal dans la lyse des tissus et l'invasion bactérienne est l'exotoxine A (exo A). L'hémolysine phospholipase H (plc H) agit pour détruire les lipides et la lécithine contribuant à l'invasion tissulaire. *P. aeruginosa* produit également de l'exoenzyme S (exo S),

c'est la cytotoxine responsable des dommages à de nombreux types de cellules hôtes et l'élastase B (las B) qui jouent un rôle important lors de l'infection aigüe. Certaines souches produisent de l'alginate qui forme la matrice du biofilm qui protège la bactérie de la défense de l'hôte pendant l'infection chronique. Le GDP-mannose 6-déshydrogénase (alg D) est l'une des trois protéines impliquées dans la production d'alginate (El mouaden *et al.*, 2019).

I.5. Résistance aux antibiotiques

Le traitement des infections nosocomiales et communautaires dues à *P. aeruginosa* est devenu une préoccupation sérieuse en raison de sa résistance intrinsèque et de sa capacité à acquérir de nouveaux mécanismes de résistance à de nombreux groupes d'antibiotiques tels que les fluoroquinolones, les β lactames et les aminosides. Par conséquent, une meilleure compréhension des profils de résistance et de la virulence de cette bactérie est indispensable. Des informations concernant les profils de sensibilité aux antimicrobiens des isolats sont nécessaires si nous voulons réduire le risque de propagation de souches résistantes de *P. aeruginosa* (Matar, 2018).

II. *Escherichia coli*

II.1. Découverte

En 1885, l'allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli*, bactérie isolée à partir de selles de nourrissons, qu'il nomma tout d'abord *Bacterium coli commune*. Ce n'est que 70 ans plus tard que le nom d'*Escherichia coli* (*E.coli*) est réellement retenu en hommage aux travaux de T. Escherich (Zhar, 2011).

II.2. Caractéristiques

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des Entérobactériaceae, appartenant à la classe des Protéobactéries (tableau 10). Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à Gram négatif, aero-anaérobie facultatif, non halophile possédant une nitrate réductase et une catalase et dépourvue d'oxydase. *E.coli* est une bactérie mobile avec une structure flagellaire péritriche (quelques souches rares sont devenues immobiles) et non sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires. *E.coli* est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC) et l'ornithine décarboxylase (ODC). La majorité des souches fermentent le sorbitol. La plupart des

caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des *E.coli* en dehors du sérotype O157 :H7 qui ne fermente pas le sorbitol (**Baliere, 2016**).

E.coli constitue une espèce bactérienne sous-dominante du microbiote aéro-anaérobie facultatif intestinale de l'Homme et des animaux. Cette bactérie représente 80 à 90 % des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux (capables de fermenter le lactose à 44.5°C).

L'espèce *E.coli* est une bactérie versatile qui comprend à la fois les bactéries commensales du tube digestif, des bactéries pathogènes et des bactéries adaptées à l'environnement (**Diallo, 2013**).

Tableau 11 : Classification d'*Escherichia coli* (**Soumaila, 2012**).

Règne	Procaryote
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacterales
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	Escherichia
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

II.3. Pathogénicité et facteurs de virulence

II.3.1. Facteurs de virulence

Lors d'un processus infectieux, les pathogènes doivent pouvoir pénétrer dans l'organisme hôte, s'y établir de façon durable en échappant aux mécanismes de défenses de l'hôte et s'y reproduire. Durant l'évolution, les souches pathogènes d'*E.coli* ont acquis de nombreux déterminants de pathogénicité. Des facteurs de virulence intervenant à toutes les étapes du processus infectieux, de même que dans différents types, peuvent être décrits chez les diverses souches de *E.coli*. Les adhésines ou facteurs de colonisation, les toxines et les plasmides de virulence sont des éléments importants pour la pathogénicité d'une souche virulente d'*E.coli* (**Toe, 2018**).

II.3.2. Mécanisme de pathogénicité

Chez les souches d'*E.coli* responsables de diarrhées, le mécanisme de pathogénicité se déroule de façon générale selon les étapes suivantes : après l'entrée des bactéries, une adhésion à la surface des cellules épithéliales se fait, grâce à des fimbriae et des adhésines.

Il se produit ensuite une colonisation de la muqueuse iléale, expression de la virulence qui mobilise le système de l'hôte et favorise une multiplication cellulaire abondante. A partir de cette étape, la suite du mécanisme dépend du type de pathovars. Certaines souches détruisent les cellules de la bordure en brosse de la muqueuse intestinale, d'autres produisent une enterotoxine cytotoxique, provoquant une diarrhée aqueuse. Les pathovars dotés de cette propriété, envahissent la muqueuse et /ou produisent des toxines destructrices de tissus cellulaires suscitant une dysenterie et le plus souvent une réaction inflammatoire chez l'hôte (Toe, 2018).

II.4. Résistance aux antibiotiques

E.coli est l'un des microorganismes les plus fréquemment isolés dans les échantillons cliniques. La résistance à plusieurs médicaments chez *E.coli* est devenue un problème bouleversant observé chez l'homme et a été reconnu comme contribuant à la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques. Le contrôle de la dissémination des souches multirésistantes est problématique en raison du très petit nombre d'antibiotiques disponibles. En raison de la résistance croissante aux Céphalosporines, aux fluoroquinolones et aux aminoglycosides, les Carbapénèmes sont progressivement devenus le dernier agent de résistance aux infections potentiellement mortelles d'*E.coli* en raison de leur agent antimicrobien à large spectre. Néanmoins, avec une consommation croissante de Carbapénèmes, l'émergence d'*E.coli* résistants aux Carbapénèmes est devenue un grave problème de santé publique dans le monde entier (Tian *et al.*, 2020).

III. *Staphylococcus aureus*

III.1. Caractéristiques

Staphylococcus aureus est un pathogène humain majeur qui a été mis en évidence en 1881 par Alexander Ogston. Après une analyse microscopique d'infections purulentes, Ogston a découvert des bactéries rondes, groupées en forme de grappes de raisin d'où l'association des termes grecs staphyle, grappe de raisin et kokkos, grain. Il est maintenant établi que *S. aureus*

est une bactérie Gram-positif, aéro-anaérobie facultative qui produit une catalase et une coagulase, et qui peut tolérer une activité en eau très réduite ($A_w=0.83$). Dans des conditions optimales, la division cellulaire se produit approximativement tous les 20 min avec un diamètre de cellule allant de 0.5 à 1.5 μm . *S.aureus* est capable de croître sur une large gamme de milieux de culture, sélectifs ou non sélectifs. Sur une gélose au sang les colonies de *Staphylococcus aureus* sont souvent hémolytiques (α ou β hémolyse). Les souches « typiques » de *S.aureus* donnent des colonies lisses, convexes avec des diamètres de 1 à 3 mm, de couleur jaune dorée due aux caroténoïdes, et sont souvent hémolytiques (α -hémolysine) (Alioua, 2015).

III.2. Taxonomie

Selon la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les Staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif, leur ADN est faible en % GC, dans le phylum des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Bacillales et de la famille de Staphylococcaceae. (Belkacem, 2017).

Tableau 12 : Classification de *Staphylococcus aureus* (Belkacem, 2017).

Règne	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	Staphylococcus
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

III.3. Pathogénicité et facteurs de virulence

Les infections à *S.aureus* sont dans la majorité de cas causées par les souches commensales du patient suite à l'expression d'un ensemble de facteurs qui lui procure son pouvoir pathogène et sa virulence. Les infections suppuratives superficielles dues à ce germe sont causées par les facteurs d'adhésion et des protéines de surface afin de s'adhérer aux cellules et aux tissus de l'hôte causant ainsi des impétigos et infections de plaies. L'infection peut aller à un stade plus grave grâce aux enzymes dont le rôle est la dégradation des tissus pour atteindre la circulation sanguine, elles peuvent être plus profondes et même graves (septicémie,

endocardites) en cas d'absence ou de non efficacité du traitement. De plus, *S.aureus* synthétise des toxines responsables du syndrome du choc toxique, des entérotoxines causant des toxi-infections alimentaires et d'autres facteurs dans le but d'échapper aux systèmes immunitaires de l'hôte (Davido, 2010).

Le tableau ci-dessous résume les principaux facteurs de virulence de ce germe pathogène opportuniste.

Tableau 13 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Davido, 2010).

Facteur de virulence	Mécanisme d'action
Composants de l'enveloppe	
Capsule	Résiste à la phagocytose et diminue l'accès des neutrophiles à la bactérie, lui donnant le pouvoir de persistance dans le tissu infecté.
Facteurs d'adhésion	
Protéine A(FnbpA)	Cette protéine s'adhère au fibrinogène et au plasma de l'hôte ce qui favorise l'attachement de <i>S. aureus</i> . D'autre part la protéine A se lie sur la région Fc des Ig G dans une mauvaise orientation ce qui perturbe l'opsonisation et la phagocytose.
Biofilm	La formation du biofilm par les souches de <i>S.aureus</i> procure à cette dernière une persistance et une dispersion dans l'environnement et une meilleure résistance.
Enzymes	
Coagulase	La liaison du Clumping factor au fibrinogène du plasma et sa transformation en fibrine coagule le plasma de l'hôte ce qui favorise la dissémination du germe et sa résistance à la phagocytose.
Toxines	
	S'insère sur la membrane cytoplasmique des leucocytes et forme des pores. Elle est

Leucocidine de Pantovallentine (PVL)	responsable de pneumonies nécrosantes et des infections cutanées contagieuses.
Hémolysines	Des toxines ayant la capacité de former des pores sur la membrane des cellules eucaryotes provoquent une fuite osmotique. Comme elles ont aussi une activité cytolytique vis-à-vis des plaquettes et des monocytes.
Super antigènes	Ce sont des immuno-stimulateurs de nature protéique résistant à la chaleur et aux protéases, impliqués dans le syndrome du choc toxique et des gastro-entérites. Ils ont la faculté de déclencher la synthèse rapide des cytokines (IL2, IFN α , IFN β) à des niveaux toxiques ce qui cause une altération des organes.

III.4. Résistance aux antibiotiques

Staphylococcus aureus est à l'origine de diverses infections d'origine communautaire et associées aux soins. De plus, *S.aureus* présente la capacité de former un biofilm sur les tissus natifs ou les dispositifs médicaux implantés, ce qui entraîne une tolérance aux concentrations élevées d'antimicrobiens. Les infections causées par des bactéries intégrées au biofilm sont difficiles à éradiquer en raison d'une matrice polymère extracellulaire, qui les protège des antimicrobiens et des cellules immunitaires de l'hôte. En effet, l'hétérogénéité des populations de cellules de biofilm, y compris les cellules persistantes tolérantes aux antibiotiques caractérisées par un état lent ou non croissant, rend les bactéries intégrées au biofilm nettement moins sensibles aux antimicrobiens que leurs homologues planctoniques. De plus, l'émergence de la propagation de souches de Staphylocoques résistantes à différents agents antimicrobiens, dont la méthicilline, la vancomycine, la daptomycine et /ou la rifampicine, représente une menace sérieuse pour la santé mondiale. Ce scénario est encore compliqué par le fait que les pipelines de production pour le développement de nouveaux antibiotiques se sont taris au cours des dernières décennies, entraînant une exigence cruciale pour identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques pour contrôler les infections

bactériennes principalement dues à des bactéries multirésistantes intégrées dans un biofilm (Tkhilaishvili *et al.*, 2020).

IV. *Bacillus cereus*

IV.1. Caractéristiques

Bacillus cereus est un pathogène opportuniste Gram positif, en forme de bâtonnet, mobile et sporulé, que l'on trouve couramment dans le sol, l'air, les céréales, le riz, les légumes, la viande et le lait en raison de la capacité bactérienne à se développer à températures de 4 °C à 50°C et résistent à la chaleur et aux produits chimiques. Certaines espèces du groupe *Bacillus cereus sensu lato*, provoquent des épidémies d'origine alimentaire chez l'homme (Vidic *et al.*, 2020).

Le groupe *B. cereus* appartient à l'embranchement des Firmicutes, à la classe des Bacilli, à l'ordre des Bacillales, à la famille des Bacillaceae et au genre *Bacillus* (tableau 13). Le groupe *Bacillus cereus* est composé de huit espèces : *B. mycoïdes*, *B. pseudomycoïdes*, *B. weihenstephanensis*, *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. cereus sensu stricto* (*B. cereus*), *B. cytotoxicus* et *B. toyonensis*. Les bactéries du groupe *B. cereus* sont ubiquitaires. En dehors du sol qui est leur réservoir primaire, elles peuvent coloniser des insectes et des mammifères. (Glasset, 2016).

Tableau 14 : Classification de *Bacillus cereus* (Glasset, 2016).

Embranchement	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillaceae
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>Bacillus cereus</i>

IV.2. Pathogénicité et facteurs de virulence

IV.2.1. Pouvoir pathogène

Bacillus cereus est reconnu comme un pathogène du groupe de risque 2. C'est un pathogène qui peut causer des maladies, mais en temps normal, ne devrait pas constituer un danger pour

l'homme. Il représente une situation qui pourrait avoir sur la santé de l'homme des répercussions indésirables temporaires, sans menacer sa vie. La probabilité de répercussions indésirables graves est jugée éloignée. *Bacillus cereus* peut aussi être associé à la présence d'un indicateur de contamination tel que *Escherichia coli*. Cette bactérie tire son pouvoir pathogène de sa capacité d'adaptation aux conditions environnementales et de sa capacité à sécréter des toxines. Alors que le syndrome émétique a pour agent étiologique une toxine unique, le syndrome diarrhéique est probablement causé par la combinaison et l'action synergique de plusieurs toxines et enzymes de dégradation (Yobouet, 2016).

Les toxi-infections alimentaires à *Bacillus* sont presque exclusivement dues à *B. cereus*. Elles représentent près de 5 % de l'ensemble des toxi-infections alimentaires dans certaines statistiques anglo-saxonnes. Deux aspects cliniques différents peuvent être observés :

- La première forme, la période d'incubation est de 8 à 16 heures et le symptôme exclusif ou principal est une diarrhée persistant de 12 à 14 heures. De nombreux aliments peuvent être à l'origine d'un tel syndrome : viandes, légumes, sauces... etc.
- La seconde forme, la période d'incubation n'est que de 1 à 5 heures et les vomissements, cédant en 6 à 24 heures, sont au premier plan. Les intoxications alimentaires provoquées par *B. cereus* ne s'accompagnent pas de fièvre. L'évolution est toujours bénigne et ne nécessite le plus souvent aucun traitement particulier.

Des spores de *B. cereus* peuvent contaminer de nombreux produits : viandes, légumes. En cas de cuisson insuffisante, les spores restent viables et donnent naissance aux formes végétatives de la bactérie. Celles-ci peuvent ainsi se multiplier à une température située entre 15 à 50 °C et élaborer leurs toxines. Les symptômes diarrhéiques sont liés à la sécrétion d'une enterotoxine, constituée de plusieurs composés protéiques agissant probablement en synergie (Mami, 2013).

IV.2.2. Facteurs de virulence

La consommation d'aliments contaminés par *B. cereus* peut entraîner des maladies gastro-intestinales, notamment des diarrhées et des vomissements. La diarrhée est causée par différentes entérotoxines, y compris l'enterotoxine non hémolytique, l'hémolysine BL et la cytotoxine K, et les vomissements sont dus à un peptide non ribosomal thermiquement stable et acide, le céréulide, qui est codé par le cluster de *ces* gènes. De plus, *B. cereus* peut provoquer d'autres infections non gastro-intestinales qui peuvent être mortelles et qui sont

enregistrées chez les nouveau-nés, les toxicomanes par voie intraveineuse, chez les patients souffrant de blessures traumatiques ou chirurgicales et ceux qui ont des cathéters à demeure. Le spectre des infections comprend la bactériémie fulminante, l'atteinte du système nerveux central (méningite et abcès cérébraux), la pneumonie et des infections cutanées, l'endophtalmie et l'endocardite (Yu *et al.*, 2019, Edward, 2010).

IV.3. Résistance aux antibiotiques

Bacillus cereus est une bactérie pathogène d'origine alimentaire gram positive, formant des endospores, et provoque des éclosions de maladies d'origine alimentaire dans le monde entier. Ce pathogène peut également provoquer des maladies gastriques, des vomissements, de la diarrhée et même la mort, et il a été signalé qu'il avait un taux de contamination élevé dans les produits laitiers. La haute résistance à la chaleur des souches de *B. cereus* augmente leur taux de survie après traitement thermique, entre-temps, une résistance accrue aux antibiotiques est généralement considérée comme un obstacle à l'efficacité des antibiotiques et des désinfectants, qui sont probablement les raisons les plus importantes pour lesquelles *B. cereus* a un taux de contamination plus élevé que d'autres agents pathogènes d'origine alimentaire dans les produits laitiers. Dans des études récentes, la principale préoccupation des chercheurs est le danger et le contrôle de *B. cereus* dans les produits laitiers, alors que la contamination de ce pathogène dans les produits laitiers a été ignorée. L'utilisation d'antibiotiques est toujours considérée comme le moyen le plus efficace de traiter l'infection à *Bacillus cereus* chez l'homme. Des souches de *B. cereus* résistantes aux antibiotiques ont été trouvées en raison de l'utilisation imprudente à long terme d'antibiotiques ou de l'émergence de gènes résistants, entraînant un transfert horizontal de gènes. En particulier, l'émergence de souches multirésistantes augmente les risques d'infection, entraînant un échec du traitement antibiotique (Zhao *et al.*, 2020).

V. *Candida albicans*

V.1. Généralités sur le *Candida*

Les *Candida* sont responsables d'atteintes cutanées, unguéales et muqueuses dont le principal agent pathogène est *Candida albicans* : il représente plus de 60 % de toutes les levures isolées chez l'homme. C'est un commensal des cavités naturelles (buccale, digestive, muqueuse vaginale de l'homme et de l'animal) (Kamil, 2015).

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Cette levure diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) formant ainsi des colonies blanches crémeuses. Elle est caractérisée par un polymorphisme remarquable. En effet, elle peut exister sous quatre formes morphologiques différentes dont les blastospores ou blastoconidies se présentant sous forme de petites cellules ovoïdes de 3.5 à 6 µm sur 6 à 10 µm. C'est la forme la plus courante de multiplication de *Candida albicans* saprophyte. Cette cellule peut émettre à son tour un bourgeon qui peut donner une cellule fille identique à la cellule mère. *Candida albicans* peut se présenter aussi sous forme d'un pseudo-mycélium mesurant de 500 à 600 µm de longueur et de 3 à 5 µm de largeur, composé d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien (Ait Chabane, 2018).

V.2. Taxonomie

Sur le plan phylogénétique le genre *Candida* appartient au phylum des Ascomycota, et au sous-phylum des Saccharomycotina. Ce sous-phylum contient 18 classes dont la classe des Saccharomycetes contenant l'ordre des Saccharomycetales. Cet ordre se compose de 16 familles. La famille des Saccharomycetales incertae sedis contient le sous-groupe connu sous le nom de clade CTG. Chez ce dernier, le codon CTG est en effet traduit dans la majorité des cas en une sérine au lieu d'une leucine. Ce clade contient la majorité des espèces de *Candida* d'importance médicale. Une autre famille dans l'ordre des Saccharomycetales se compose principalement du genre *Saccharomyces*, qui contient des espèces pour lesquelles ont subi une duplication complète appelée clade WDG dont l'espèce *S. cerevisiae* (Sitterlé, 2018).

Tableau 15 : Classification de *Candida albicans* (Sitterlé, 2018).

Règne	Fungi
Phylum	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordre	Saccharomycetales
Famille	Saccharomycetales incertae sedis
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

V.3. Pathogénicité et facteurs de virulence

V.3.1. Pouvoir pathogène

Candida albicans est la levure pathogène la plus répandue chez l'être humain. Elle est présente chez plus de 62 % des personnes saines, comme l'ont montré plus de 40 études publiées entre 1960 et 1986. La plupart des individus développent une infection à *C. albicans* sans caractéristiques cliniques. Cette levure a la particularité de pouvoir passer de la forme levure (cellules arrondies ou ovoïdes, groupées en petits amas) à la forme de moisissure (les cellules s'allongent alors et se développent pour prendre l'aspect de filaments, de pseudo-hyphes, de pseudo-mycéliums). Grâce à ce polymorphisme, elle se soustrait aux mécanismes de défense liés à l'immunité cellulaire. Rarement une seule forme existe. On peut dire que la forme levure est la forme saprophyte, et vit en symbiose avec l'organisme hôte, alors que la forme moisissure mycélienne est la forme parasite et donc pathogène et susceptible de provoquer des symptômes (**Belahcen El Ouali, 2016**).

V.3.2. Facteurs de virulence

Au cours d'une infection fongique, la phagocytose par les cellules immunitaires de l'hôte expose les levures à des enzymes lysosomales, à un stress oxydatif et une carence nutritionnelle. Les *Candida*, comme beaucoup d'autres pathogènes, possèdent des facteurs de virulence multiples qui leur permettent d'échapper au système immunitaire et d'infecter les tissus. La plupart des études réalisées concernent la caractérisation des facteurs impliqués dans la pathogénicité de *C. albicans* et sa capacité à survivre et à croître dans un environnement hostile. L'adhérence aux cellules ou aux tissus de l'hôte permet la colonisation et l'infection. La sécrétion d'enzymes hydrolytiques et la possibilité de la levure de changer de morphologie jouent un rôle important dans la virulence. La capacité des *Candida* à s'adapter à leur environnement, notamment à résister aux antifongiques est également déterminante. Le métabolisme, en fournissant l'énergie et les ressources nécessaires au développement chez l'hôte, occupe aussi une place prépondérante dans la virulence de cette levure (**Sabra, 2013**).

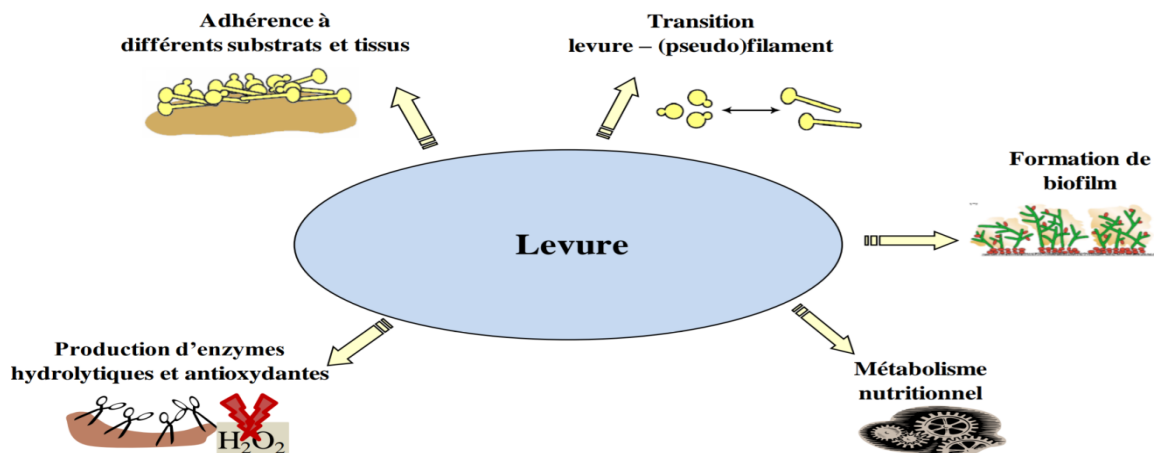


Figure 8 : Facteurs de virulence des levures du genre *Candida* (Sabra, 2013).

V.4. Résistance aux antibiotiques

Le traitement des candidoses utilise l'amphotéricine B, et les antifongiques azolés comme le fluconazole, l'itraconazole et le voriconazole. La gestion des infections à *Candida* est souvent confrontée à un certain nombre de problèmes incluant le nombre limité de médicaments antifongiques usuels, les rechutes des infections à *Candida*, ainsi que le coût élevé des médicaments antifongiques. Par ailleurs, l'utilisation abusive de ces molécules a conduit à une augmentation de l'incidence des résistances aux antifongiques. Une étude réalisée a trouvé des taux de résistance de *C. albicans* de 2.2 % au fluconazole, 11.1% au voriconazole et 22.2% à l'itraconazole. Ailleurs dans le monde, des résistances élevées de *C. albicans* aux azolés ont été signalées par plusieurs auteurs. Ces résistances élevées aux antifongiques justifient une surveillance régulière de la sensibilité de *C. albicans* à ses médicaments afin d'assurer l'efficacité du traitement des lésions candidosiques (Yapo-Kouadio *et al.* , 2017).

Partie II

Partie expérimentale

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Obtention des souches bactériennes

Nous avons commencé à effectuer cette partie expérimentale dans le laboratoire de microbiologie n° 3 de l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (UMAB) en fin du mois de février 2020. D'abord, nous avons obtenu des souches microbiennes à utiliser comme souches cibles dans le test de l'activité antimicrobienne. A cet effet, sept souches de référence ont été obtenues des laboratoires de recherche de l'UMAB (**tableau 16**).

Tableau 16: les souches de référence à utiliser comme souches cibles.

Souches	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659

2. Collecte des échantillons des plantes

Dans cette étude deux types d'échantillons ont été choisis pour tester leurs effets antimicrobiens et antioxydants. Les plantes utilisées sont les clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) et les graines de lin (*Linum usitatissimum*).

Ces deux échantillons ont été achetés sur le Marché local de la wilaya de Mostaganem.

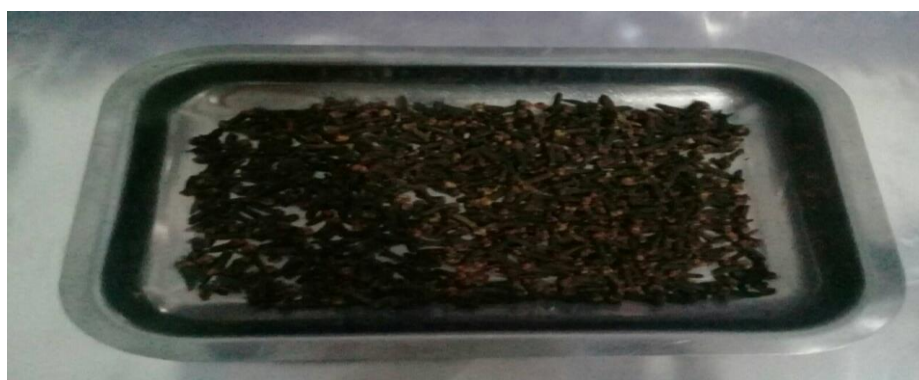


Figure 9 : Echantillon de clous de girofle (*Syzygium aromaticum*).



Figure 10 : Echantillon de graines de lin (*Linum usitatissimum*)

3. Préparation du matériel végétal

3.1. Préparation de l'extrait de clous de girofle

Les clous de girofle ont été séchés dans un incubateur à 37°C pendant 5 jours, et ont été broyés en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique.



Figure 11 : Poudre de clous de girofle après broyage.

Ensuite une quantité de 2 g du matériel végétal obtenus a été dissoute dans 15 ml de Méthanol pour la préparation de l'extrait méthanolique. Pour la préparation de l'extrait éthanolique 2 g de poudre de girofle ont été ajoutés à 15 ml d'Ethanol.

Les deux préparations ont été maintenues à l'obscurité à température ambiante dans un endroit sec.

3.2. Préparation de l'extrait de graines de lin

Les graines de lin ont été lavées, nettoyées, séchées à l'ombre et à température ambiante pendant une semaine, ensuite les graines complètement séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine.



Figure 12 : Poudre de graines de lin après broyage.

A ce niveau là, cette étude s'est arrêtée vu l'impossibilité de continuer le travail expérimental au niveau du Laboratoire en raison de la pandémie qui a touché le monde entier et qui est causée par le Coronavirus Covid 19. Donc pour pouvoir compléter et achever le travail incomplet, nous présentons dans ce mémoire de fin d'études une synthèse des travaux scientifiques qui ont déjà abordé le sujet concerné (Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum*) et qui expliquent mieux le protocole expérimentale approprié pour l'étude de l'effet des extraits de plantes médicinales sur l'activité antimicrobienne et qui ont pour rôle de présenter l'importance médicale des extraits de *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum* sur la santé de l'Homme.

I/ Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Syzygium aromaticum*

Protocole expérimentale A (selon Amit Pandey *et al.*, (2011)).

➤ Matériels et méthodes

1. Préparation d'extrait végétal éthanolique (Eté) et méthanolique (Em)

Le clou de girofle acheté sur le marché local a été séché dans un incubateur à 37°C pendant 3-4 jours et broyé en poudre fine. Le matériel végétal a été dissous dans deux solutions : 70% d'Ethanol et 80% de Méthanol (2-15) (p/v). Chaque mélange a été maintenu à l'obscurité pendant 3 jours à température ambiante dans un Bêcher stérilisé. Ensuite, Chaque mélange a été filtré à travers du papier filtre Whatman n°1 et conservés dans un incubateur à 37°C jusqu'à ce que l'Ethanol ou le Méthanol se soient complètement évaporés. Les échantillons de girofle éthanolique et méthanolique ont été dissous dans du Tris-HCl, pH≈8 (à double quantités de mélanges restants respectivement).

2. Microorganismes testés

Trois espèces bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* toutes d'origine alimentaire ont été utilisées dans cette étude.

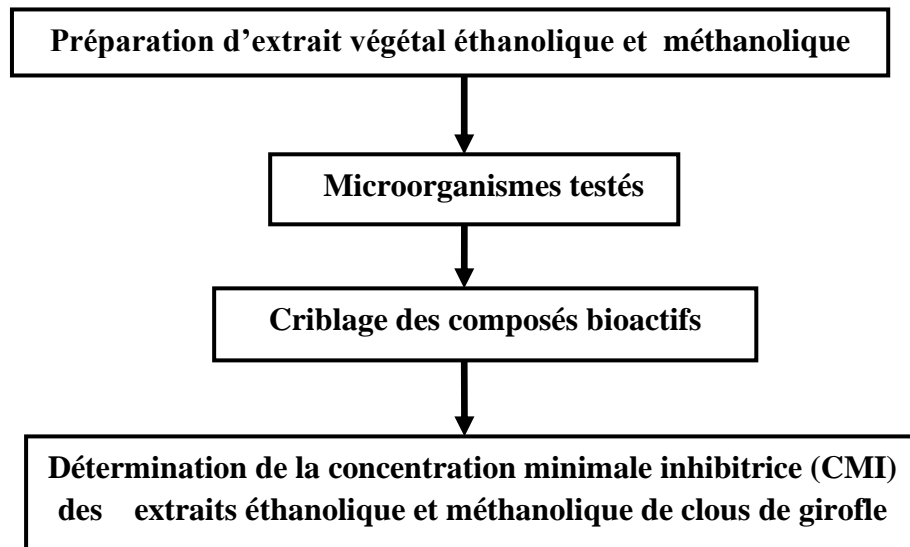
3. Criblage des composés bioactifs

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et méthanoliques de clou de girofle a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion de puits d'agar. Des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive ont été préparées. Un inoculum de 50 µl de chaque bactérie sélectionnée a été réparti uniformément sur la gélose nutritive à l'aide d'un épandeur en verre, après 5 minutes trois puits d'environ 5 mm de diamètre ont été forés dans chaque boîte à l'aide d'un foreur, un volume de 50 µl d'extrait de plante a été versé dans un puits. L'antibiotique Tétracycline et l'eau distillée ont été versées dans les deux autres puits en tant que témoin. Ensuite les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits

La concentration inhibitrice minimale est définie comme la concentration la plus faible de l'agent antibactérien qui empêchera la croissance visible d'un microorganisme après une incubation d'une nuit.

La CMI des extraits méthanoliques de clou de girofle a été déterminée par la méthode de dilution en bouillon. Un double de dilution en série des extraits méthanoliques de clou de girofle a été préparé.

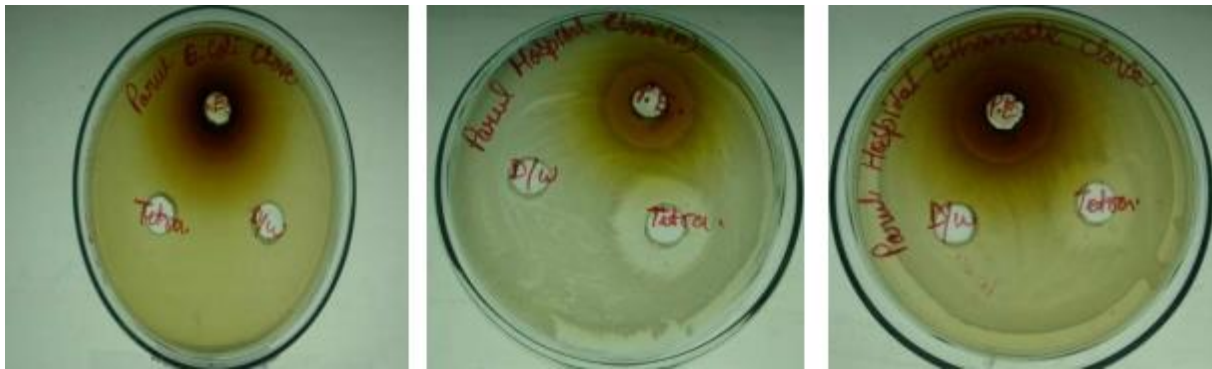


➤ Résultats et discussions

Selon le travail présenté par **Amit Pandey et al ., (2011)**. Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Syzygium aromaticum* montrés dans le **tableau 17** et **figure 13** indiquent que cet extrait a inhibé les trois bactéries cibles et que cette activité est plus remarquable chez *Pseudomonas aeruginosa*. Pour l'extrait méthanolique de *Syzygium aromaticum* les résultats du **Tableau 18** et **figure 14** indiquent aussi un effet inhibiteur sur toutes les bactéries tests et que *Staphylococcus aureus* était plus sensible par rapport à *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. On peut noter également que le pouvoir inhibiteur de ces deux extraits était proche et parfois mieux que l'effet de la tétracycline (**Figure 15**) et que l'extrait méthanolique de clou de girofle avait une activité antibactérienne plus forte (**Figure 16**).

Tableau 17: Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de clou de girofle contre les bactéries Gram positif et Gram négatif associées aux aliments

Pathogènes	Zone d'inhibition (mm)		
	Tétracycline	Extrait de plante	Eau distillée
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	16	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	20	0
<i>E.coli</i>	0	18	0



Escherichia coli

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Figure 13 : Activité antibactérienne d'Eté de clou de girofle.

Tableau 18 : Activité antibactérienne d'Em de clou de girofle contre les bactéries Gram positif et Gram négatif associées aux aliments

Pathogènes	Zone d'inhibition (mm)		
	Tétracycline	Extrait de plante	Eau distillée
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	24	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	19	0
<i>E.coli</i>	15	20	0



Escherichia coli

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Figure 14 : Activité antibactérienne d'Em de clou de girofle

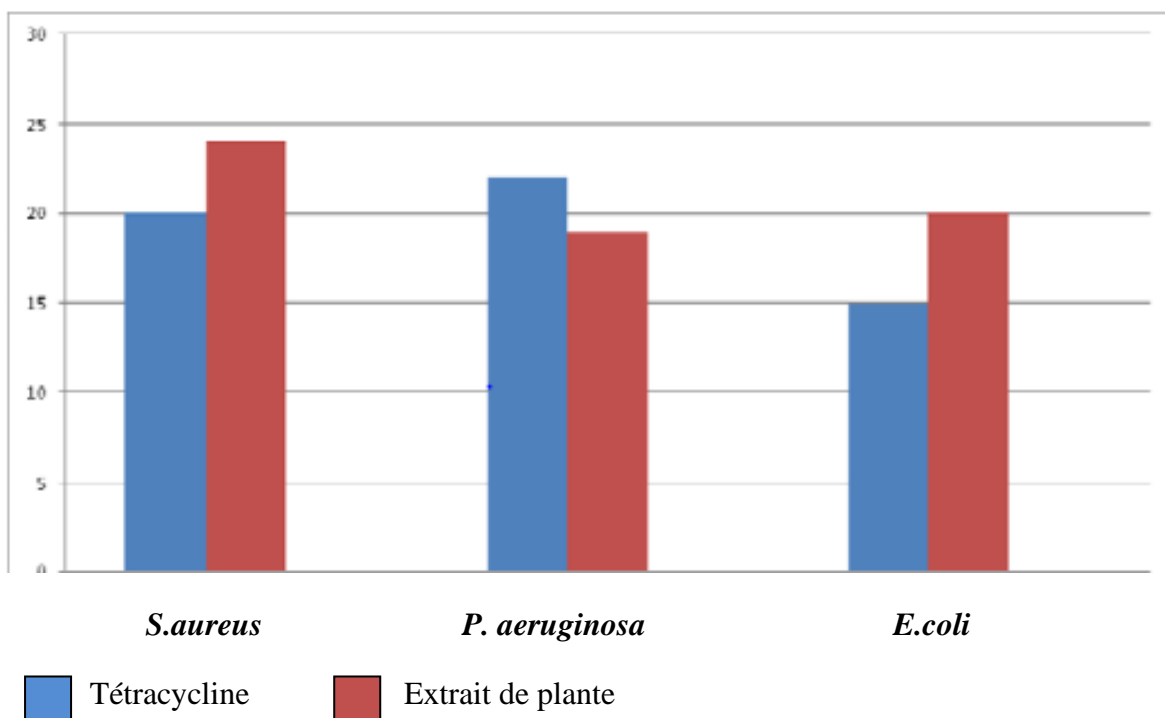


Figure 15 : Effet d'Em de clou de girofle en fonction des zones d'inhibition (en mm).

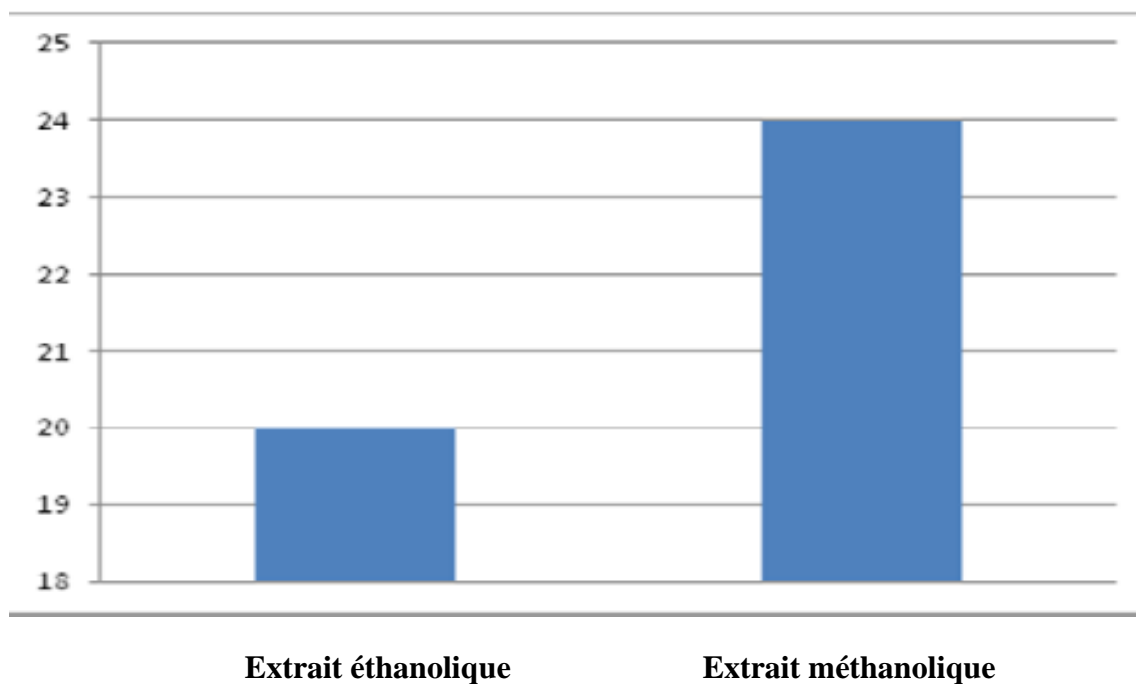


Figure 16 : Etude comparative des effets des deux extraits éthanolique et méthanolique en fonction des zones d'inhibition (en mm).

Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait méthanolique de clou de girofle (**tableau 19**) montrent que les valeurs des CMI étaient de **2.31 mg/ml** pour *E.coli*, **0.385 mg/ml** pour *Staphylococcus aureus* et **0.01 mg/ml** pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 19 : CMI des Ems de clou de girofle contre les bactéries gram positives et gram négatives associées aux aliments

Tubes à essai	Concentration Ems (mg/ ml)	D.O contre <i>E. coli</i> (600 nm)	D.O contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (600 nm)	D.O contre <i>Staphylococcus aureus</i> (600 nm)
Contrôle	83.33	0.12	0.17	0.15
1	13.89	0.25	0.25	0.20
2	2.31	0.12	0.32	0.28
3	0.385	0.55	0.45	0.20
4	0.064	0.56	0.47	0.40
5	0.010	0.65	0.11	0.50

Protocole expérimentale B (selon Saeed *et al.*, (2013)).

➤ Matériels et méthodes

1. Préparation et extraction des échantillons

Des échantillons de clous de girofle frais ont été achetés auprès du marché local de grain, le broyage était fait avec un broyeur de laboratoire, les échantillons ont été conservés dans des conteneurs fermés. Deux types d'extrait de clou de girofle ont été préparés pour les extraits aqueux et méthanoliques (EM) :

- Pour la préparation de l'extrait aqueux, 150 ml d'eau distillée a été ajouté à 25 g de clou de girofle haché et le mélange a été laissé en agitation dans l'incubateur agitateur pendant 8 h à 300 tour/ min à 39°C, ensuite il a été filtré. L'extrait de couleur foncée obtenu à la fin de cette opération a été utilisé pour une analyse ultérieure. L'extrait d'échantillon a été conservé au réfrigérateur (4°C) pour la réalisation d'une analyse plus approfondie.
- Pour la préparation d'extrait de solvant, 150 ml de méthanol ont été ajoutés à 25 g de clou de girofle haché et le mélange a été mis en agitation dans l'incubateur agitateur pendant 8 h à 300 tour/ min à 39°C, ensuite il a été filtré et le méthanol a été vaporisé dans un évaporateur rotatif (60°C). l'extrait huileux de couleur foncée obtenu à la fin de cette opération a été conservé au réfrigérateur (4°C).

2. Isolement des bactéries

L'isolement des bactéries a été effectué à partir de plusieurs échantillons de pain gâté, des dilutions en série pour chaque échantillon ont été effectuées. Dans chaque boîte de Pétri 10 ml de milieu de culture et 1 ml de dilution respective ont été ajoutés. Les boîtes de Pétri ont été placées dans l'incubateur à 37°C pendant 24 h à 48 h.

3. Examen morphologique des bactéries

Les colonies représentatives montrant une catalase négative et un Gram positif ont été choisis au hasard parmi une dilution plus élevée (10^{-5}) des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive. Les isolats de culture ont été observés morphologiquement sous microscope. La coloration de Gram a été effectuée.

4. Purification des isolats

Les colonies ont été apparues après 48 h d'incubation sur gélose nutritive. Les boîtes de Pétri ont été soumises à un examen morphologique, une colonie de *Bacillus subtilis* a ensuite été transférée sur milieu de culture, incubée à 37°C et conservée au réfrigérateur à 4°C.

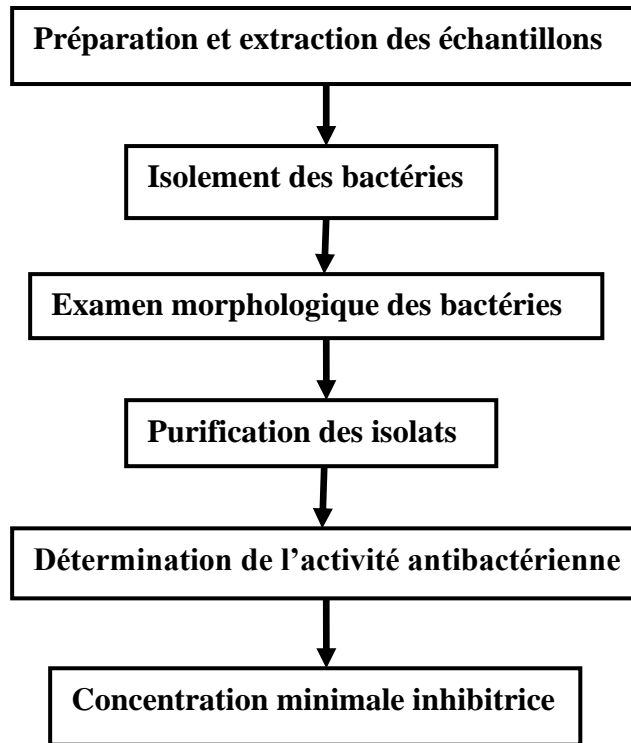
5. Détermination de l'activité antibactérienne

La méthode utilisée pour la détermination de l'activité antimicrobienne de l'extrait de clou de girofle était la méthode de diffusion du disque. Les traitements T1, T2, T3, T4 et T5 pour les extraits aqueux et les extraits méthanoliques ont été utilisés à la concentration 0, 1, 1.5, 2, 2.5% respectivement.

L'activité antimicrobienne a été déterminée par la méthode de diffusion de disque. La suspension d'inoculum de chaque souche bactérienne a été étalée sur toute la surface de la gélose Mueller Hinton, pH≈7. Des disques en papier filtre stériles de 6 mm immergés avec de l'extrait de clou de girofle a été placé aseptiquement sur des surfaces de la gélose Mueller Hinton. Les boîtes de Pétri ont été laissées à température ambiante pendant 15 minutes pour permettre une diffusion excessive des extraits avant incubation à 37°C pendant 24 h. Le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré.

6. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice a été déterminée par la méthode de diffusion sur des puits d'agar, les boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton ont été étalées avec 0.1 ml d'inoculum bactérien. Des puits (8 mm de diamètre) ont été coupés des boîtes de gélose en utilisant un foreur en acier inoxydable stérilisé et ont été remplies avec 0.1 ml d'extrait de clou de girofle. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 h et le diamètre de la zone d'inhibition résultante était mesuré. Les microorganismes présentant une zone claire de plus de 6 mm étaient considérés comme inhibés.



➤ Résultats et discussions

Les résultats de l'effet des extraits aqueux et Ems de clous de girofle sur l'activité antibactérienne présentés par **Saeed et al ., (2013) (tableau 20)** indiquent que l'extrait aqueux de clou de girofle a montré des variations importantes par rapport à l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique. La zone d'inhibition la plus élevée de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de clou de girofle était montré par T₅ (16.66 mm) suivi par T₄ (15.00 mm). L'activité antibactérienne minimale a été montrée par T₁ (12.33 mm).

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de clou de girofle ont indiqué que cet extrait a montré des résultats significatifs par rapport à l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux.

L'extrait méthanolique montre l'activité antibactérienne la plus élevée à T₅ (17.66 mm) et la zone minimale d'inhibition a été obtenue par T₁ (14.00 mm).

Les présents résultats ont montré que l'extrait méthanolique présentait la plus forte activité inhibitrice (14 à 17.66 mm) par rapport aux résultats d'extrait aqueux (12 à 16,66 mm). Il est évident d'après les résultats que le diamètre d'inhibition a augmenté de manière significative lorsque la concentration d'extrait a augmenté.

Tableau 20 : Effet des extraits aqueux et méthanoliques de clous de girofle sur l'activité antibactérienne.

Traitement	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
T₀ : Contrôle sans Em	-	-
T₁ : 0.5 % Em	12.33	14.00
T₂ : 1% Em	14.66	14.66
T₃ : 1.5 % Em	14.85	15.33
T₄ : 2 % Em	15.00	16.00
T₅ :2.5 % Em	16.66	17.66

Les résultats de l'effet des extraits aqueux et méthanoliques sur la CMI (**tableau 21**) ont indiqué que la CMI de l'extrait aqueux montre des différences très importantes entre l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique pour une concentration inhibitrice minimale. Les résultats ont montré que la valeur la plus élevée de CMI avec l'extrait aqueux était indiquée par T₅ (21.00 mm) et la valeur minimale 14 mm a été montrée par T₁. Les résultats de la CMI de l'extrait méthanolique ont montré des variations très importantes entre la CMI de l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique.

La valeur la plus élevée de la CMI d'extrait méthanolique a été montrée par T₅ (23 mm) et la valeur minimale 17 mm a été montrée par T₁.

Les résultats ont montré que la valeur CMI de l'extrait méthanolique est supérieure à celle de l'extrait aqueux parce que le méthanol agit également comme un agent antimicrobien naturel et augmente l'extraction des substances actives par rapport à l'eau

Tableau 21 : Effet des extraits aqueux et méthanoliques sur la CMI.

Traitement	Extrait aqueux	Extrait Em
T₀	-	-
T₁	14.00	14.66
T₂	16.00	15.66
T₃	17.00	17.00
T₄	19.00	20.00
T₅	21.00	23.00

Protocole expérimentale C (selon Zeeshan *et al.*, (2014)).

➤ Matériels et méthodes

1. Microorganismes testés

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail étaient :

Bacillus cereus MCCB-008

Staphylococcus aureus MCCB-0065

Escherichia coli MCCB-0018

Salmonella typhi MCCB-0022.

2. Préparation du bouillon de culture

Un bouillon nutritif a été préparé et a été inoculé avec la souche cible. Une trace bactérienne de chaque souche a été prélevée et inoculée dans le bouillon nutritif et a été incubée à 37°C pendant 24 heures pour obtenir une croissance visqueuse.

3. Préparation d'extrait de l'épice

L'épice fraîche (clou de girofle) utilisée dans la présente étude a été obtenue sur le marché local, elle a été recueillie et stérilisée en surface avec 0.1 % de HgCl₂. Les clous de girofle ont ensuite été écrasés en ajoutant de l'eau distillée en utilisant un mortier et un pilon.

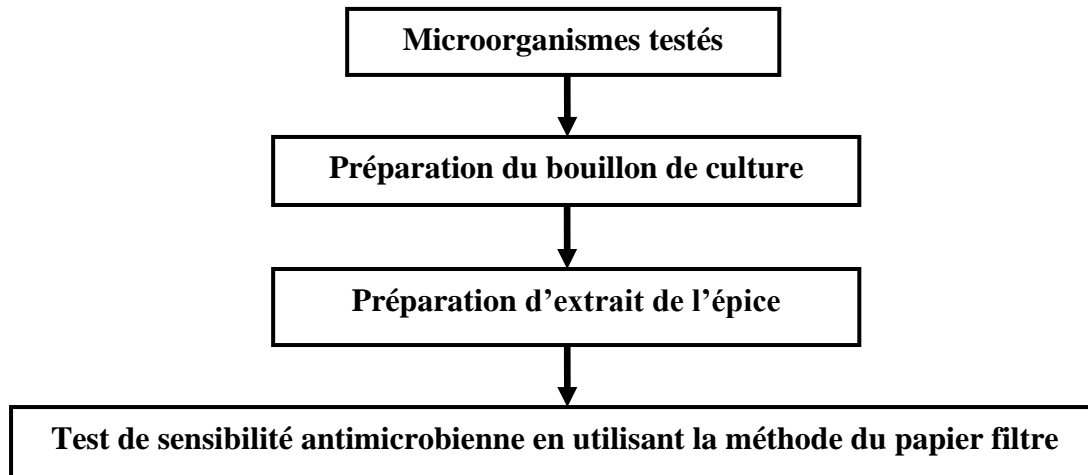
L'échantillon a été centrifugé à 3000 tours/ min pendant 15 minutes. Le surnageant a été prélevé et différentes concentrations (1000, 1500 et 2000 ppm) ont été réalisées en utilisant de l'eau distillée stérile.

4. Test de sensibilité antimicrobienne en utilisant la méthode du papier filtre

La gélose nutritive fraîchement préparée et autoclavée a été coulée dans les boîtes de Pétri, après refroidissement à 45°C. Des cotons-tiges ont été plongés dans le bouillon de culture et ont été tamponnés sur la surface du milieu solidifié. Des disques du papier filtre de 5 mm de diamètre ont été préparés et stérilisés en les plongeant dans du 95 % Ethanol à l'aide d'une pince stérile. Ces disques ont été plongés aseptiquement dans un extrait d'épice de concentration appropriée et placés sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritiveensemencées avec des agents pathogènes à l'aide d'un épandeur en verre stérile. Les boîtes de

Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Le diamètre des zones d'inhibition formées a été mesuré en mm et les résultats ont été enregistrés.

Des disques de 7 mm de diamètre étaient considérés comme n'ayant aucune activité antibactérienne. Le diamètre compris entre 7 et 12 a été considéré comme modérément actif et ceux avec > 12 ont été considérés comme très actifs.



➤ Résultats et discussions

Les résultats de **Zeeshan et al ., (2014)** de l'analyse comparative d'extrait de clou de girofle sur différentes souches de bactéries montrés dans le **tableau 22** et la **figure 17** ont indiqué que le clou de girofle montre un effet d'inhibition maximal sur *Salmonella typhi* et un effet minimal sur *E. coli* à différentes concentrations.

Toutes les dilutions de clou de girofle ont montré une bonne activité inhibitrice contre les quatre bactéries. Le meilleur effet a été observé sur *Salmonella typhi*, et le moins sur *Escherichia coli*.

Tableau 22 : Analyse comparative d'extrait de clou de girofle sur différentes souches de bactéries.

Microorganismes	Zone d'inhibition de clou de girofle à différentes concentrations (mm) incluant 5 mm diamètre du disque		
	2000 ppm	1500 ppm	1000 ppm
<i>Bacillus cereus</i>	23	14	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	19.5	12	8
<i>Salmonella typhi</i>	23	15	10
<i>Escherichia coli</i>	13	9	7

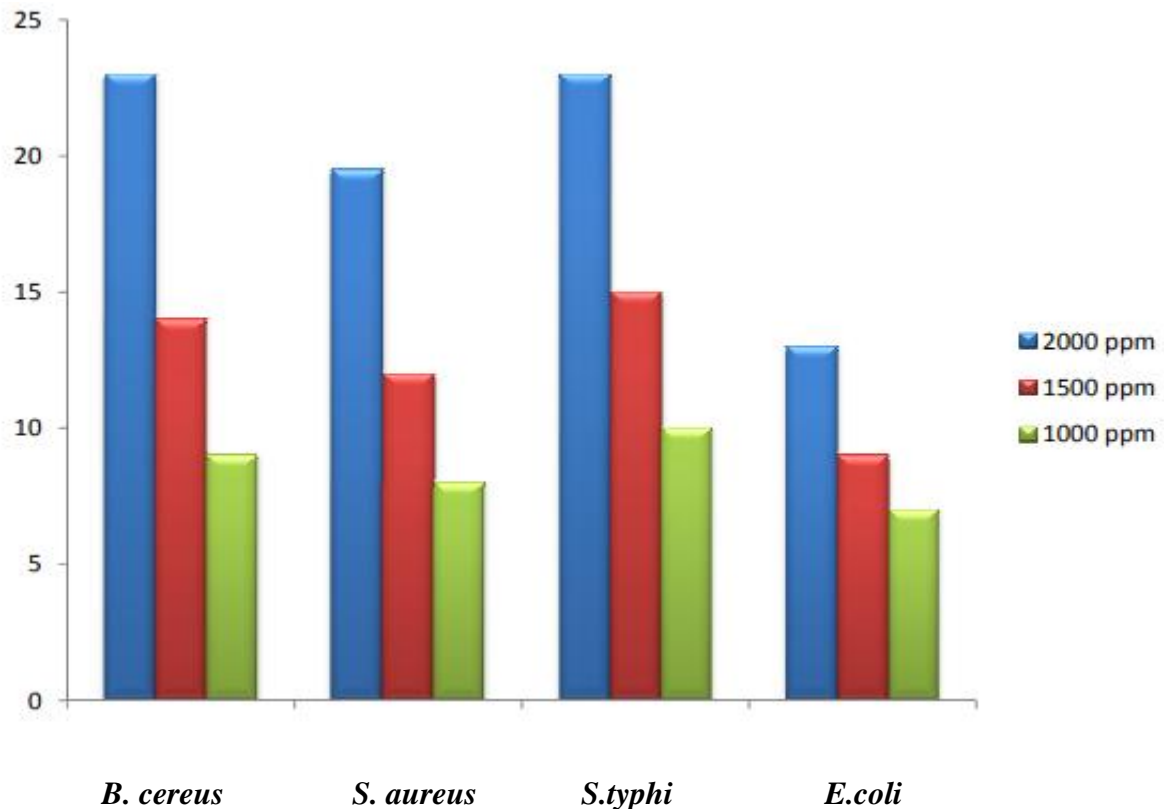


Figure 17 : Analyse comparative de d'extrait de clou de girofle sur différentes souches bactériennes en fonction des zones d'inhibition (en mm).

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Bacillus cereus* montrés par la **figure 18** indiquent une zone d'inhibition maximale de 23 mm à une concentration de 2000 ppm et zone minimale de 9 mm à une concentration de 1000 ppm.

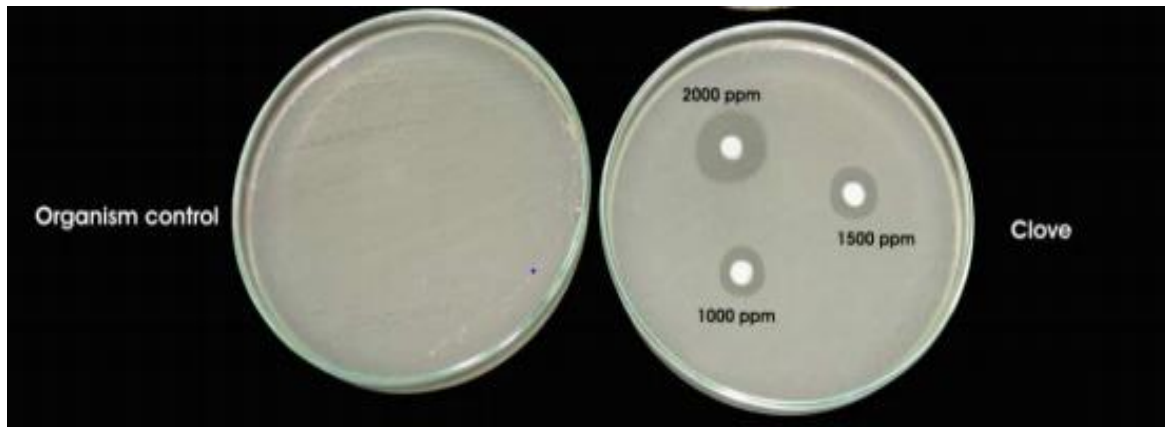


Figure 18 : Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Bacillus cereus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Staphylococcus aureus* montrés par la **figure 19** affirment la présence d'une zone d'inhibition maximale de 19.5 mm à une concentration de 2000 ppm et une zone d'inhibition minimale de 8 mm à une concentration de 1000 ppm.

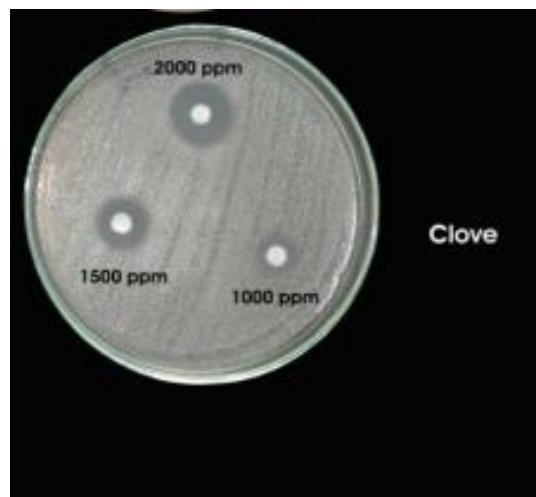


Figure 19 : Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Salmonella typhi* montrés par la **figure 20** expriment une zone d'inhibition maximale de 23 mm à une concentration de 2000 ppm et une zone minimale de 10 mm à une concentration de 1000 ppm.

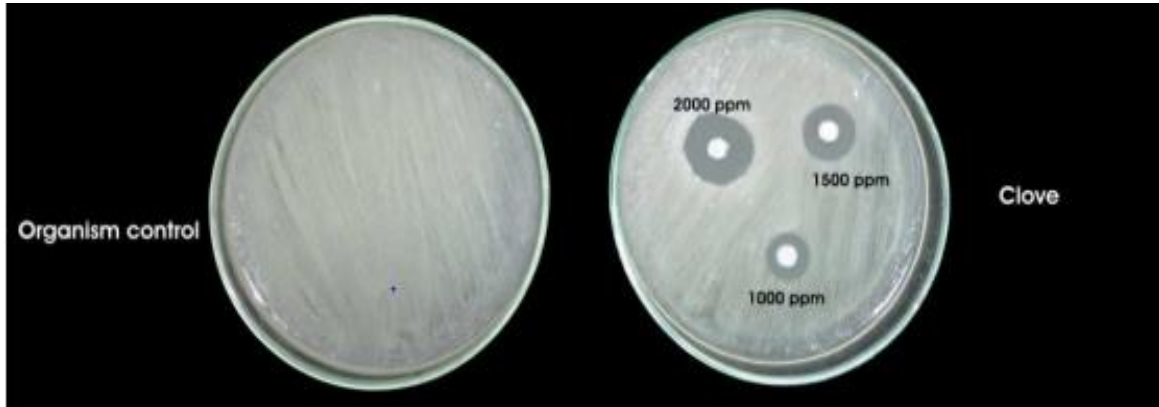


Figure 20: Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Salmonella typhi*.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Escherichia coli* montrés par la **figure 21** affirment que la zone d'inhibition maximale est estimée à 13 mm à une concentration de 2000 ppm et la zone minimale d'inhibition est de 7 mm à une concentration de 1000 ppm.

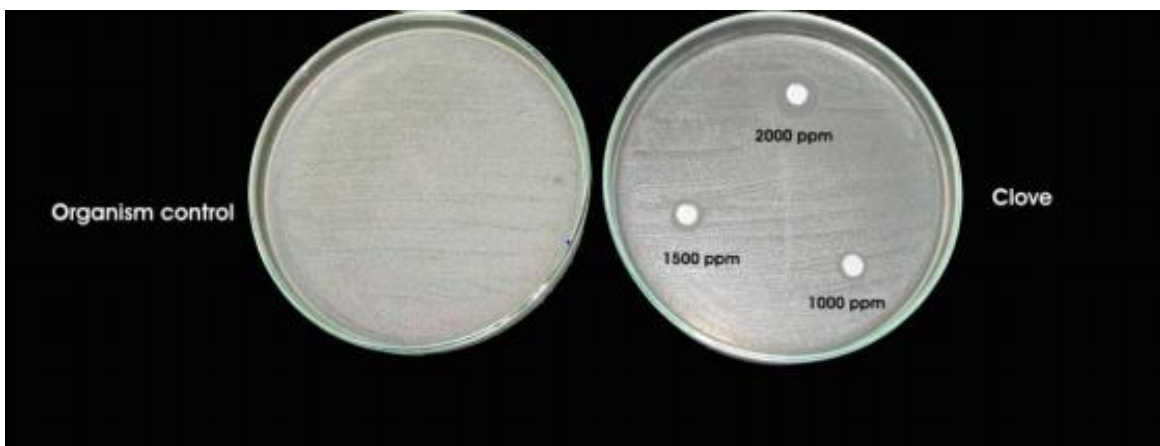


Figure 21: Activité antibactérienne d'extrait de clou de girofle sur *Escherichia coli*.

II/ Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de *Linum usitatissimum*

Protocole expérimentale A (selon Raja Narendra *et al.*.,(2016)).

➤ Matériels et méthodes

1. Collecte des échantillons

Les graines de lin ont été importées du marché local, elles ont été lavées, nettoyées et séchées à température ambiante à l'ombre pendant une période d'une semaine, ensuite broyées à l'aide d'un broyeur de laboratoire.

2. Cultures microbiennes

Les cultures suivantes ont été utilisées dans cette étude : *Salmonella paratyphi*, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Protéus vulgaris*, *Lactobacillus sporogenes* et *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Milieux de culture

Pour la culture des microorganismes, la gélose nutritive a été utilisée. Un bouillon nutritif a été utilisé pour l'incubation et la standardisation des microorganismes.

4. Préparation d'extrait brut

L'extrait brut préparé a été divisé en deux portions ; une portion (10 g) a été introduite dans des flacons en verre pour être testée sous forme d'extrait brut de méthanol pour l'activité antimicrobienne tandis que la seconde portion (30 g) a été introduite dans un bécher en verre pour le fractionnement avec différents solvants.

L'extrait brut pour fractionnement a été mis en suspension dans 80 ml d'eau distillée et de Méthanol (Eau : méthanol dans un rapport de 8 :2) et ils sont amenés dans une ampoule à décanter puis extraits avec 200 ml d'acétate d'éthyle. L'entonnoir de séparation a été secoué et des composés solubles dans la phase d'acétate d'éthyle ont été recueillis et la phase aqueuse a été extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle.

Toutes les fractions d'acétate d'éthyle ont été combinées et versées dans un ballon à fond rond de l'évaporateur rotatif et l'acétate d'éthyle a été séparé de la fraction laissant l'extrait semi solide qui a été séché dans un plat en porcelaine au bain- marie à environ 50 °c et a été stocké

dans un flacon en verre jusqu'à son utilisation. Une méthodologie d'extraction par solvant a été appliquée par l'éther, le Chloroforme, L'eau distillée et le butanol.

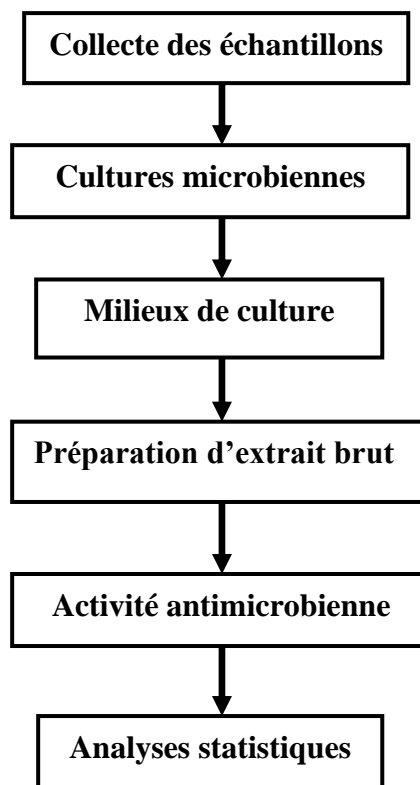
5. Activité antimicrobienne

Les activités antimicrobiennes étaient réalisées selon la méthode conventionnelle de diffusion sur disque, en utilisant des cultures d'*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphii*, *Lactobacillus*, *Protéus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Saccharomyces cerevisiae*

Dans cette méthode, des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et le milieu Standard YPD (pour la levure) ont étéensemencées des cultures microbiennes puis différents extraits de graines de lin tels que le butanol, le chloroforme, l'éther, le méthanol, l'acétate d'éthyle, et l'eau distillée ont été appliqués sur les disques, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 h et 72 h pour la levure. Les composés diffusés à partir des disques dans le milieu de culture solide inhibent ainsi la croissance de microorganismes sensibles dans la zone autour du disque. La Streptomycine et le Flucanazol ont été utilisés pour un contrôle positif des bactéries et de la levure respectivement.

6. Analyses statistiques

Les valeurs sont données en tant que moyenne \pm écart type (SD). Dans toutes les analyses $P < 0.05$ a été considéré comme significatif.



➤ Résultats et discussions

Raja Narender *et al.*, (2016) signalent dans leur présent travail que les rendements d'extraction des différents solvants utilisés sont du plus élevé aux plus bas comme suit : L'eau, le Chloroforme, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'éther en fin le Butanol. Les résultats montrés dans les **tableaux 23 et 24** indiquent que la Streptomycine et Flucanazole ont été efficaces contre tous les microorganismes et ont montré une zone d'inhibition de 50 à 55 mm. Aussi l'extrait de graine avait une bonne activité antibactérienne contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphii*, *Lactobacillus*, *Protéus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Saccharomyces cerevisiae* en raison de la présence de Lignanes. Les résultats montrent aussi que les activités antibactériennes et antifongiques les plus élevées ont été montrées par l'extrait aqueux et contre tous les microorganismes suivi par l'extrait du chloroforme. Des différences très nettes ont été trouvées dans cette étude entre les effets des différents extraits. Les différents profils de résistance des microorganismes sont probablement liés à des différences dans les structures des parois cellulaires des champignons et des bactéries et à la présence de gènes de résistance. La présence de lignanes peut lier à la fois le Ca^{2+} et le Mg^{2+} , réduisant ainsi le Ca^{2+} et le Mg^{2+} des lipopolysaccharides de la membrane externe provoquant une libération de lipopolysaccharides, déstabilisant ainsi la membrane, ce qui peut augmenter l'activité des lignanes (**Vanharanta *et al.*, 2002**).

Tableau 23 : Activité antifongique de *Linum usitatissimum*

	Zone d'inhibition (en cm)							
	Conc. (mg/ml)	Eau distillée	Ether	Chloroforme	Acetate d'éthyle	Butanol	Methanol	Flu
<i>S. cerevisiae</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	2	1.9	2.0	2.2	1.8	1.9	5.0
	30	3	1.5	1.4	2.0	1.3	1.5	5.5

Tableau 24 : Activité antibactérienne de *Linum usitatissimum*

	Zone d'inhibition (en cm)						
	Eau distillée	Ether	Chloroform	Acétate d'éthyl	Butanol	Méthanol	Strep.
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-
	1.8	1.8	1.9	2.3	2.6	1.8	5.5
	1.2	1.4	1.3	1.6	1.9	1.2	6.1
<i>P. vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-
	1.7	1.6	1.9	1.8	1.7	2.1	3.5
	1.2	1.3	1.5	1.4	1.3	1.6	4.5
<i>K. Pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
	1.9	1.9	1.7	1.8	1.6	2.0	3.5
	0.7	0.5	0.7	1.0	1.1	1.6	5.5
<i>Lactobacillus</i>	-	-	-	-	-	-	-
	1.8	2	1.9	2.0	2.0	2.1	3.0
	1.6	1.5	1.4	1.5	1.0	1.0	4.7
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
	2.0	2.5	1.9	1.5	1.8	2.3	4.0
	1.5	1.6	1.0	0.8	1.0	1.2	4.9
<i>S. paratyphi</i>	-	-	-	-	-	-	-
	3.0	1.8	1.8	1.9	1.7	2.0	3.0
	1.5	1.4	1.3	1.5	1.5	1.8	4.2

Protocole expérimentale B (selon Al Bayati ., (2007)).

➤ **Matériels et méthodes**

1. Matériel végétal

Les graines de *Linum usitatissimum* ont été achetées au marché local et identifiées au collègue d'agriculture et de foresterie de la ville de Mossoul, à l'Irak.

2. Procédure d'extraction

Les graines séchées et en poudre (100 g) ont été extraites à l'aide d'un extracteur Soxhlet avec plusieurs solvants de polarité croissante commençant de l'éther de pétrole suivi de l'éthanol puis l'eau et enfin le chloroforme. Chaque extraction a été effectuée pendant 8-10 heures en continu. Les solvants ont été éliminés à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide à 40°C pour donner des extraits concentrés qui ont été congelés et lyophilisés jusqu'à utilisation.

3. Préparation des concentrations d'extraits

1 g de chaque extrait (éther de pétrole, éthanol et chloroforme) a été dissous dans 5 ml de DMSO (diméthylsulfoxyde) et dans l'eau distillée pour l'extrait aqueux ce qui donne une concentration d'extrait de 200 mg/ ml. Cette solution mère est utilisée pour fournir les dilutions suivantes (100, 50, 25 et 12.5 mg /ml). Ensuite ces dilutions ont été pasteurisées à 62°C pendant 15 minutes, et en utilisant une filtration sur membrane concernant l'extrait aqueux.

4. Cultures microbiennes

Les souches bactériennes testées comprenaient les souches gram positives : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, et les souches à Gram négatif : *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

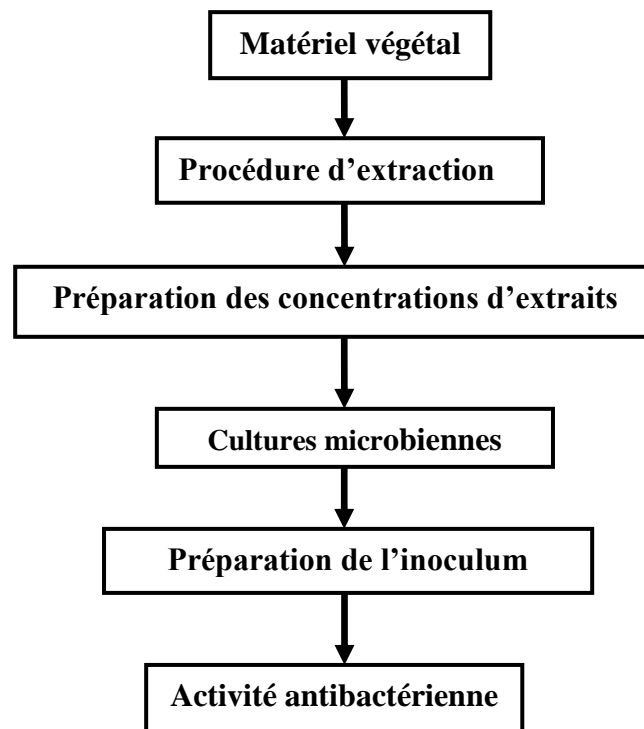
5. Préparation de l'inoculum

Toutes les souches bactériennes ont été cultivées pendant une nuit dans un bouillon nutritif, incubées à 37°C et utilisées comme inoculum.

6. Activité antibactérienne

Les tests antibactériens ont été effectués en utilisant la méthode de diffusion en puits d'agar. Des boîtes de Pétri ont été préparées en utilisant de la gélose nutritive. L'inoculum bactérien a

été réparti uniformément sur la gélose nutritive en utilisant un tampon stérile. Des puits (6 mm de diamètre) ont été perforés dans les boîtes de Pétri à l'aide d'un foreur en acier inoxydable stérile. Dix microlitres de chaque concentration d'extrait ont été ajoutés à chaque puits. Les antibiotiques : Ampicilline 250 mg, Céfalexine 250 mg, Chloramphénicol 250 mg et Tétracycline 250 mg ont été achetés dans une pharmacie locale, chaque capsule d'antibiotique (250 mg) a été dissoute dans 10 ml d'eau distillée ou d'éthanol pour produire des solutions antibiotiques avec une concentration de 25 mg / ml. Dix microlitres de chaque solution antibiotique ont été remplis dans chaque puits et utilisés comme contrôle positif, et dix microlitres de DMSO et d'eau par puits ont été utilisés comme contrôle négatif. La diffusion des extraits et des antibiotiques a été faite à température ambiante pendant 30 minutes. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 h. la présence d'une zone claire autour des puits a été observée et la taille des zones d'inhibition a été mesurée. L'absence de zone d'inhibition a été interprétée comme absence de l'activité antimicrobienne.



➤ **Résultats et discussions**

Ici dans ce travail d'**Al Bayati., (2007)**. Les résultats les plus importants du **tableau 25** indiquent que toutes les concentrations d'extrait d'Ether de pétrole ont montré une activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées, avec des zones d'inhibition entre 10.2 – 23.5 mm de diamètre. *K.pneumoniae* a montré la plus grande sensibilité à l'extrait d'Ether de pétrole par rapport à l'ampicilline avec une zone d'inhibition de 23.5 mm.

Tableau 25 : Activité antibactérienne des différents extraits des graines de lin.

Microorganismes	Extraits	Zone d'inhibition (mm)					
		Concentration des extraits (mg/cm ³)					
		200	100	50	25	12.5	Amp
<i>Staphylococcus aureus</i>	E.P	14.8	14.4	15.6	13.3	13.1	19.3
	E	17.6	14.5	13.5	11.3	10.2	
	E.Aq	15.7	14.8	14.3	13.4	12.3	
	Ch	13.5	12.3	10.2	9.6	9.2	
<i>Bacillus cereus</i>	E.P	16.7	15.5	14.3	13.4	12.1	16.2
	E	22.6	19.8	17.5	15.6	13.4	
	E.Aq	-	-	-	-	-	
	Ch	-.	-	-	-	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	E.P	22.4	21.2	23.5	19.6	18.5	16.3
	E	15.6	13.5	11.6	-	-	
	E.Aq	12.3	11.2	13.4	12.2	11.1	
	Ch	-	-	-	-	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	E.P	13.6	12.4	12.1	11.3	10.2	15.5
	E	14.4	13.2	11.6	9.5	9.2	
	E.Aq	17.7	16.5	15.6	14.3	13.2	
	Ch	10.5	10.1	-	-	-	

- : Absence d'activité

Amp : Ampicilline

Extraits : **E.P** : Ether de pétrole, **E** : Ethanol, **Ch** : Chloroforme, **E.Aq** : Extrait aqueux.

Protocole expérimentale C (selon Bakht *et al.* , (2011)).

➤ Matériels et méthodes

Les graines de lin utilisées dans ce travail de recherche ont été collectées et ont ensuite été lavées avec de l'eau distillée.

1. Préparation de l'extrait brut

Un kilogramme de semence en poudre séchée de *Linum usitatissimum* a été introduit dans un ballon à fond rond et plongé dans du méthanol 95%. L'extrait semi solide a été distillé sur un évaporateur rotatif et séché dans un plat en porcelaine à travers un bain d'eau à environ 50°C, environ 110 g ont été préparés de cette manière.

2. Fractionnement de l'extrait brut

L'extrait brut préparé a été divisé en deux portions ; une portion (10 g) a été introduite dans des flacons en verre pour être testée comme extrait de méthanol brut pour l'activité antimicrobienne tandis que la deuxième portion (100 g) a été introduite dans un bécher en verre pour fractionnement a été mis en suspension dans 200 ml d'eau distillée et de méthanol (eau : méthanol dans un rapport de 8 : 2) puis extrait avec 200 ml de n- hexane. L'entonnoir de séparation a été secoué et les composés solubles dans la phase n- hexane ont été recueillis et la phase aqueuse a été extraite trois fois avec du n- hexane. Toutes les fractions de n- hexane ont été combinées et versées dans un ballon à fond rond de l'évaporateur rotatif et le n- hexane a été isolé de la fraction laissant derrière lui la fraction semi solide de n- hexane. La fraction semi solide a été séchée dans un plat en porcelaine au bain- marie à environ 50°C et a été stockée dans des flacons en verre jusqu'à son utilisation. La méthodologie d'extraction des solvants a été appliquée pour l'acétate d'éthyle, l'eau distillée et le butanol.

3. Milieux de culture

Pour la culture des microorganismes, un milieu de gélose nutritive a été utilisé. Un bouillon nutritif a été utilisé pour l'incubation et la standardisation des microorganismes.

4. Préparation des milieux de culture

Après stérilisation, le milieu de gélose nutritive a été versé de manière aseptique dans des boîtes de Pétri stérilisées dans une hotte à flux laminaire. Toutes les étapes ont été réalisées en milieu stérile afin d'éviter toute contamination. Le milieu de culture a été laissé se solidifier

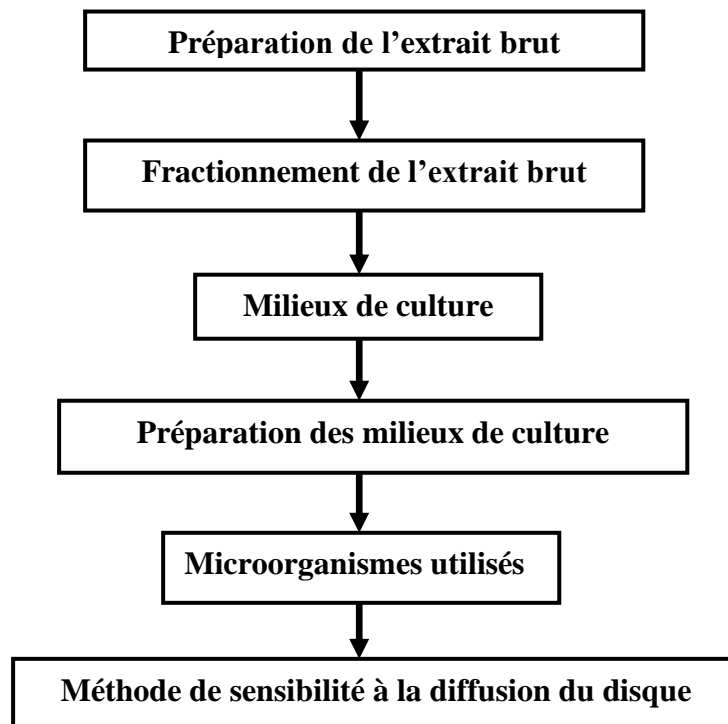
dans des boîtes de Pétri pendant environ une heure, puis il a été placé dans un incubateur à 37°C pendant 24 h. le lendemain, les boîtes non contaminées ont été utilisées pour la culture des microorganismes.

5. Microorganismes utilisés

L'activité antimicrobienne a été testée contre les souches bactériennes et fongiques suivantes : *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*.

6. Méthode de sensibilité à la diffusion du disque

Dans cette méthode, des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive ont étéensemencées avec des cultures de 18 à 24 h d'inoculum microbien (un inoculum standardisé de 1 à 2 .10⁷ UFC/ ml de 0.5 mcFarland). Des disques de papier filtre Whatman N°1 (6 mm de diamètre) ont été placés sur le support, puis différents extraits de plantes en volume de 4 µl (0.66mg / disque), 6 µl (1 mg / disque) et 8 µl (1.33 g / disque) ont été appliqués sur les disques. Les antibiotiques (6mg / disque) comme contrôle positif et le DMSO (6 mg / disque). Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 18 à 24 h et les zones d'inhibition ont été mesurées. Comme **Contrôle positif** l'Azithromycine (5µg / 6 µl) a été utilisé pour les bactéries gram positives, le Ciprofloxacine (30 µg / 6 µl) pour le gram négatives et le Clotrimazole (50µg / 6µl) *Candida albicans*.



➤ Résultats et discussions

Bakht *et al.*, (2011) montrent à travers les résultats illustrés par les photos des **figures 22 et 23** que les échantillons extraits d'acétate d'éthyle et du butanol ont un effet inhibiteur important contre *S. aureus*. Pour les extraits d'acétate d'éthyle, la réduction de croissance maximale s'est produite à une concentration de 1 mg / disque tandis que les extraits du butanol ont inhibés la croissance à une concentration maximale de 1.33 mg / disque. Le n-hexane et l'eau distillée n'ont montré aucune activité antimicrobienne contre *S. aureus*.

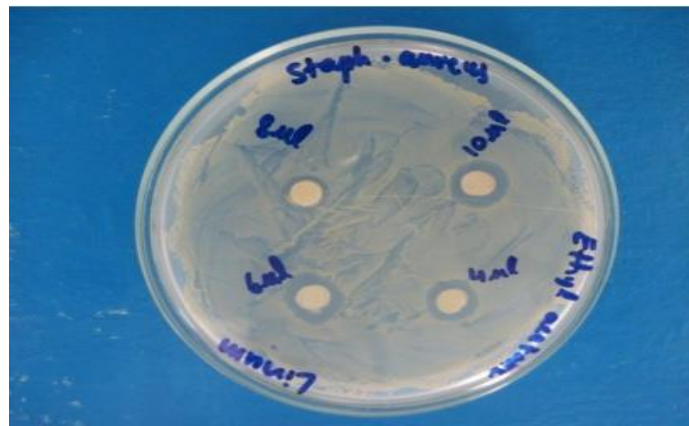


Figure 22 : Activité antibactérienne de l'extrait d'Acétate d'éthyle contre *S. aureus*.



Figure 23 : Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre *S. aureus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle contre *Bacillus cereus* montrés dans la **figure 24** révèlent que l'échantillon d'extrait d'acétate d'éthyle et du butanol était plus efficace contre *B. cereus*, dans le cas d'échantillon extrait à l'acétate d'éthyle, l'inhibition la plus élevée s'est produite à une concentration de 1.33 mg / disque, il ressort également des résultats que le n-hexane, le méthanol, l'eau distillée n'ont pas inhibé la croissance de *B. cereus*.

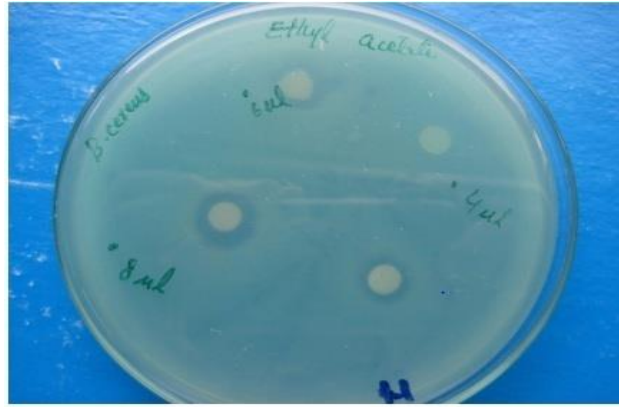


Figure 24 : Activité antibactérienne de l'extrait d'Acétate d'éthyle contre *Bacillus cereus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de butanol contre *S. typhi* montrés dans la **figure 25** ont aussi indiqué que les échantillons extraits d'eau distillée, d'acétate d'éthyle et de butanol étaient plus efficaces contre *S. typhi* par rapport à d'autres échantillons. Les échantillons extraits à l'acétate d'éthyle ont également inhibé la croissance de *S. typhi* à toutes concentrations. De même, les échantillons extraits au butanol ont réduit la croissance de *S. typhi* à 1.33 mg / disque.

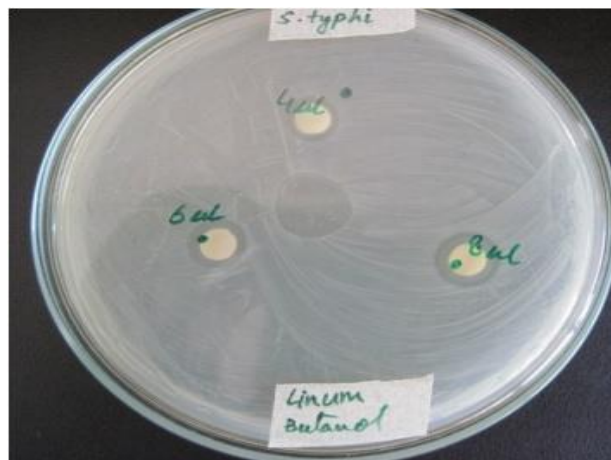


Figure 25 : Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre *S. typhi*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle et de butanol contre *K. pneumoniae* montrés dans la **figure 26 et 27** ont indiqués que les échantillons extraits à l'acétate d'éthyle et au butanol ont eu un grand effet inhibiteur contre *K. pneumoniae*.

Dans le cas de l'acétate d'éthyle, l'inhibition maximale s'est produite à 1.33 mg / disque. De même, les échantillons extraits au butanol ont réduit la croissance de *K. pneumoniae*

à 1.33 mg / disque. Il est également évident d'après les données que le n- hexane, le méthanol et les échantillons extraits d'eau distillée n'ont pas inhibé la croissance de *K. pneumoniae*.



Figure 26 : Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre *K. pneumoniae*.

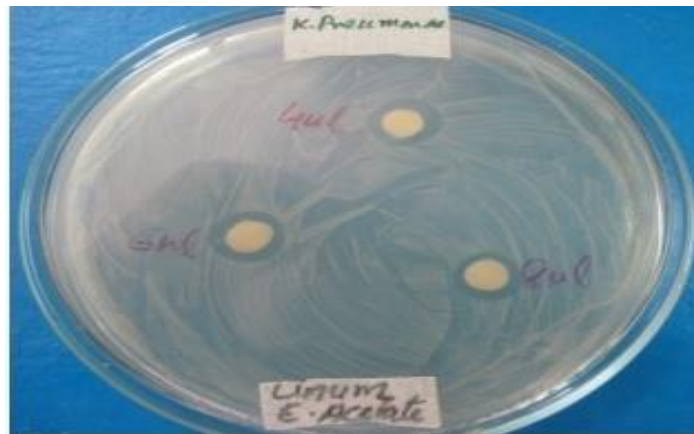


Figure 27 : Activité antibactérienne de l'extrait d'Acétate d'ethyle contre *K. pneumoniae*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de butanol contre *P.aeruginosa* montrés dans la **figure 28** illustrent une inhibition contre *P.aeruginosa* par des échantillons extraits au butanol. Les résultats révèlent en outre que le n-hexane et les échantillons extraits de l'eau distillée étaient inefficaces contre *P.aeruginosa*.

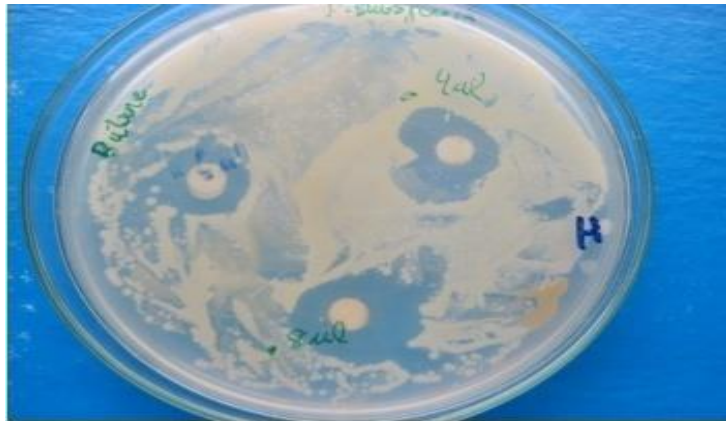


Figure 28 : Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre *P. aeruginosa*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle et au butanol contre *E. coli* montrés dans la **figure 29 et 30** renseignent d'une inhibition de croissance de *E. coli* par les échantillons extraits à l'acétate d'éthyle et au butanol.

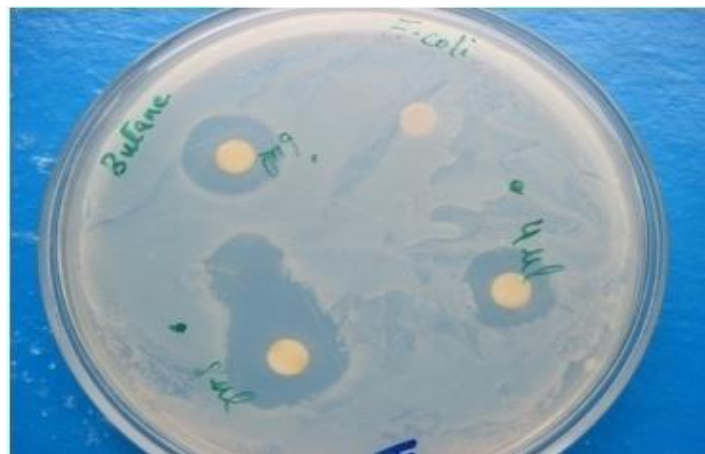


Figure 29 : Activité antibactérienne de l'extrait de Butanol contre *E. coli*.

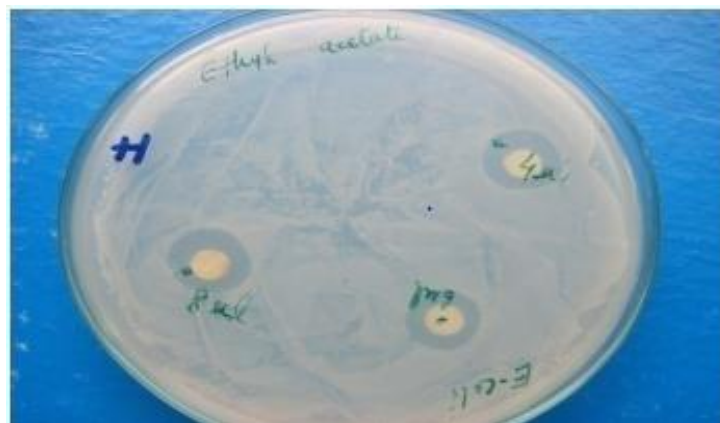


Figure 30 : Activité antibactérienne de l'extrait d'Acétate d'éthyle contre *E. coli*.

Conclusion

CONCLUSION

Les avancées médicales majeures dans le traitement des maladies infectieuses sont largement dues à la découverte et au développement des antibiotiques depuis les travaux pionniers sur la Pénicilline découverte en 1928. L'âge d'or des antibiotiques a été suivi d'une utilisation très étendue et souvent inappropriée et a engendré l'apparition de résistances bactériennes multiples qui sont aujourd'hui une menace tangible d'échec thérapeutique de la médecine moderne. Ce problème a conduit les instances internationales (FAO, OMS) à adopter des plans concertés pour optimiser l'usage des antibiotiques et promouvoir la recherche pour des solutions alternatives et de cela que la phytothérapie a vu le jour (**Ducrot et al., 2017**).

Les clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) et les graines de lin (*Linum usitatissimum*) dont on a l'objet de l'étude sont deux plantes médicinales qui méritent d'être parmi les épices les plus précieuses dans le monde végétal grâce à leurs propriétés thérapeutiques, antimicrobiennes et antioxydantes et qui ont montré une activité antimicrobienne très importante sur les différentes souches bactériennes testées dans ce travail.

Dans cette étude, plusieurs méthodes d'extraction ont été appliquées selon les protocoles expérimentaux étudiés, chaque méthode a utilisé un ensemble de solvants d'extraction dont les plus efficaces étaient l'extrait éthanolique, l'extrait méthanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle.

D'après les travaux de **Amit Pandey et al., (2011)** et **Saeed et al., (2013)** on peut conclure que l'extrait méthanolique de clou de girofle de *Syzygium aromaticum* avait une activité antibactérienne plus forte que l'extrait éthanolique. Aussi **Amit Pandey et al., (2011)** ont confirmé que l'extrait méthanolique exerce des effets inhibiteurs considérables avec des valeurs de CMI de 2.31 mg/ml pour *E.coli*, 0.385 mg/ml pour *Staphylococcus aureus* et 0.01 mg/ml pour *Pseudomonas aeruginosa*. La même remarque a été signalée par **Saeed et al (2013)** où trouvons-nous des valeurs de la CMI les plus importantes sont obtenues par l'extrait méthanolique. Dans le travail présenté par **Zeeshan et al., (2014)** des résultats remarquables dans l'inhibition des bactéries par l'extrait aqueux de *Syzygium aromaticum* à une concentration de 2000 ppm, où ils ont obtenus des zones d'inhibition maximales de 23 mm sur *Bacillus cereus*, 19.5 mm sur *Staphylococcus aureus*, 23 mm sur *Salmonella typhi* et en fin 13 mm sur *Escherichia coli*.

On peut aussi noter d'après le travail de **Amit Pandey et al ., (2011)** que l'extrait éthanolique de clou de girofle a inhibé remarquablement *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 20 mm et que l'extrait méthanolique était plus actif sur *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 25 mm. Cette activité des clous de girofle a été signalée aussi dans la littérature comme par exemple par **Meena et Sethi. (1994)** qui ont rapporté que différents extraits de clou de girofle ont montré une forte activité antibactérienne contre *Protéus vulgaris* et *Bacillus subtilis*, ils ont signalé un diamètre d'inhibition compris entre 12 et 25 mm. Leurs résultats sont également en accord avec ceux de Kumar, (2007) qui a déclaré que *Syzygium cumini* avait une bonne activité contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

Avec les graines de lin *Linum usitatissimum* **Raja Narender et al., (2016)** ont mentionnés que les activités antibactériennes et antifongiques les plus élevées ont été montrées par l'extrait aqueux alors que **Bakht et al .,(2011)** ont trouvé que les échantillons des extraits d'acétate d'éthyle et du butanol ont un effet inhibiteur important contre *S. aureus* et que l'extrait du n- hexane et de l'eau distillée n'ont montré aucune activité antimicrobienne contre *S. aureus*. Quant aux résultats d'**Al Bayati, (2007)** on note que toutes les concentrations d'extrait d'éther de pétrole ont montré une activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées, avec des zones d'inhibition entre 10.2 et 23.5 mm de diamètre. Généralement, les résultats de la majorité des travaux analysés dans cette étude indiquent que l'activité antibactérienne de l'extrait de butanol à partir des graines de lin était remarquable contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ils révèlent en outre que le n- hexane et les échantillons extraits de l'eau distillée étaient inefficaces contre *Pseudomonas aeruginosa*, des résultats similaires ont également été rapportés par **Borchard et al., (2009)** et **Kaithwas et al., (2011)**.

Les résultats ont aussi montré que l'extrait de méthanol à partir de graines de lin était inefficace contre *Candida albicans* contrairement à Borchard et al., (2009) qui ont rapporté que les extraits de méthanol à partir de graines de lin inhibaient la croissance de cette levure.

L'activité biologique impressionnante des deux plantes *Syzygium aromaticum* et *Linum usitatissimum* a ouvert la voie à davantage d'attention et de recherche pour identifier les composés actifs responsables de cette activité biologique, autre mécanisme d'action par lequel les extraits y exercent des activités antibactériennes et antifongiques. De nouvelles études doivent être entreprises pour élucider le mécanisme d'action par lequel les extraits y exercent leurs activités antibactériennes et antifongiques.

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

Abidi A., Bahri S and Ben khamsa Jameleddine S. (2019). Caractéristiques phytochimiques et thérapeutiques du lin ou *Linum usitatissimum*. pp : 33-34.

Aboya JL. (2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morinda Morindoiles. Thèse de Doctorat, Université de Bretagne occidentale (France). p 14.

Adefegha S.A, Oboh G., Oyeleye S.I and Osunmo K. (2016). Alternation of Starch hydrolyzing enzyme inhibitory properties, antioxydant activities and phenolic profile of clove buds (*Syzygium aromaticum* L.) by cooking duration. Food Science and Nutrition. pp: 250-251.

Adli D.H. (2015). Effets prophylactiques de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (clou de girofle) chez les rats Wistar et croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse de Doctorat, Université Ahmed Ben Bella- Oran 1- Oran (Algérie). pp: 60-63.

Aggarwal BB., Shishodia S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and Therapy of Cancer. Biochemistry Pharmacology. Vol.71,pp : 1397-1421.

Ait Chabane O. (2018). Etude des effets antimicrobiens des extraits bruts, phénoliques et à base d'huile essentielles du Miswak (*Salvadora persica*) sur les microorganismes responsables des infections buccales (caries dentaires, gingivite, parodontite, candidoses...). Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem (Algérie). pp : 22-23.

Al Bayati F. (2007). Antibacterial activity of *Linum usitatissimum* L. seeds and active compound Detection. Raf Jour Sci. Vol.18. pp : 27-36.

Alachaher F.Z. (2018). Effet de la supplémentation des graines brunes de Lin sur le profil lipidique et les statuts redox et inflammatoire, chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine. Thèse de Doctorat, université Ahmed Ben Bella, Oran1- Oran (Algérie). pp: 39-40.

Ali SM., Khan AA., Ahmed I., Mussadiq M., Ahmed KS and Polasa H. (2005). Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Ann Clin Microbial Antimicrob. Vol. 4. p 20.

Alioua MA. (2015). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar- Annaba (Algérie). p 20.

Amit Pandey and Singh P. (2011). Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. Asian Journal of Plant Science and Research. Vol.2. pp : 69-80.

Arunava Das., Harshadha K., Dhinesh Kannar S.K., Hari Raj K and Bindhu J. (2018). Evaluation of Therapeutic potentiel of Eugenol. A natural Derivative of *Syzygium aromaticum* on Cervical Cancer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol. 19. p2.

Bakht J., Ali H., Alikhan M., Khan A., Saeed M., Shafi M., Islam A and Tayyab M. (2011). Antimicrobial activities of different solvents extracted samples of *Linum usitatissimum* by disc diffusion method. African Journal of Biotechnology. Vol.10 .pp : 19825-19835.

Baliere C. (2016). Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des stec et des epec. Thèse de Doctorat, université de Bretagne occidentale. p23.

Barbelet S. (2015). Le Giroflier : Historique, Description et Utilisation de la plante et de son huile essentielle. Thèse de Doctorat Université de Lorraine, France. pp : 12-64.

Belahcen El Ouali R. (2016). Candidoses buccales chez l'enfant. Thèse de Doctorat, Université Mohammad V, Rabat (Maroc).pp : 39-40.

Belkacem I. (2017). Stratégies de lutte contre les biofilms bactériens responsables d'intoxications alimentaires : polyphénols naturels. Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem (Algérie). p34.

Bellamine K. (2017). La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V- Rabat (Maroc). p2.

- Benzeggouta N.** (2015). Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinés. Thèse de Doctorat, Université Mentouri, Constantine (Algérie). P49.
- Beroual K.** (2014). Impact de *Linum usitatissimum* sur la régénération épithéliale et sur la pousse de poils. Thèse de Doctorat, Université Constantine1-Constantine (Algérie). pp: 42-45.
- Blumenthal MA., Goldbey J and Brinckmann EDS.** (2000). Herbal Medecine : Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council, Austin, TX, USA. p85.
- Borchard JR., Wyse DL., Sheaffer CC., Kauppi KL., Falcher RG., Ekhli NJ., Biesboer DDD and Bay RF.** (2009). Antioxydant and antimicrobial activity of seed from plants of Mississippi river basin. J Med Plants R. Vol.3. pp : 707-718.
- Boschin G., Arnoldi A.** (2011). Legumes are valuable sources of tocopherols. Food Chemistry. Vol.127. pp : 1199-1203.
- Bouzouita K.** (2016). Phytovigilance : Enquête auprès des pharmaciens officinaux d'Oujda. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V- Rabat (Maroc). p11.
- Chami F., Chami N., Bennis S., Trouillas J and Remmal A.** (2004). Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiosis in an immunosuppressed rat model. J Antimicrob Chemother. Vol. 54,pp :909-914.
- Chatterjee D., Bhattacharjee P.** (2013). Comparative evaluation of the antioxydant efficacy of encapsulated and un- encapsulated eugenol – riche clove extracts in soy bean oil : Shelf- life and frying stability of soy bean oil. J Food Eng. Vol.117,pp : 545-550.
- Chen M., Cheng FW and Chan MH.** (2012). Protective roles of cordyceps on lung fibrosis in cellular and rat models. J Ethnopharmacol. Vol.143. PP : 448-454.
- Daniel AN., Sartoretto SM ., Schmidt G., Caparroz- Assef., Bersani-Amado CA and Cuman RK.** (2009). Anti inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimented animal models. Rev Bras Farmacogn. Vol.19. pp : 212-217.
- Daun J., Barthet V., Chornick T and Duguid S.** (2003). Structure, composition and variety development of Flaxseed. Flaxseed in Human Nutrition.2 ème édition, AOCS, Press USA.

Davido B. (2010). Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à Staphylocoque doré. Thèse de Doctorat, Université Denis Diderot, Paris (France). pp : 14-16.

Diallo AA. (2013). *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse 3-Paul Sabatier – Toulouse (France). pp : 13-14.

Ducrot C., Fric D., Lalmanach AC., Monnet., Sanders P and Schouler C. (2017). Perspectives d'alternatives thérapeutiques antimicrobiennes aux antibiotiques en élevage. INRA Prod Anim. Vol. 30. pp : 77-88.

Edward JB. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile Human Pathogen. Clin Microbial Rev. Vol.23. pp : 382-398.

El Abdani S. (2016). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en Antibiothérapie. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Rabat (Maroc). p1.

El Meskini K. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat, Université Mohammed 5 de Médecine et de Pharmacie, Rabat (Maroc). pp : 3-4.

Elmouaden C., Laglaoui A., Ennaneï L., Bakkali M and Abid M. (2019). Virulence genes and antibiotic resistant of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in the Northwestern of Morocco. The journal of Infection in Developing Countries. Vol. 13. pp : 892-893.

Fadzir U A., Darnis D.S., Mustapha B.E and Mokhtar K.I. (2018). *Linum usitatissimum* as an antimicrobial agent and potentiel natural healer : A review. Archives of Orofacial Sciences. pp: 57-58.

Famuyide I.M., Aro A.O., Fasina F.O., Eloff J.N and Mc Gaw L.J. (2019). Antibacterial activity and mode of action of acetone crude leaf extracts of under- investigated *Syzygium* and *Eugenia* (Myrtaceae) species on multidrug resistant porcine diarrhogenic *Escherichia coli*. BMC Veterinary Research. pp : 3-4.

- Fisk I., White D., Calvalho A and Gray D. (2006).** Tocophérol an intrinsic component of Sunflower seed oil bodies. *Journal of the American oil Chemists' society*. Vol.83. pp :341-344.
- Fu Y., Zu Y., Chen L., Shi X., Wang Z and Sun S. (2007).** Antimicrobial activity of clove and Rosemary essential oils alone and in combination. *Phyto Ther Res*. Vol.27. pp : 989-994.
- Ganorkar PM et Jain RK. (2013).** Flaxseed- a nutritional punch. *International Food Research Journal*. Vol.20. pp: 519-525.
- Ghedira K., Goetz P., and Le Jeune R. (2010).** *Syzygium aromaticum* (l) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*, Vol.8. pp: 37-38.
- Ghnimi W. (2015).** Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété antioxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine (France). p 29.
- Glasset B. (2016).** Approche combinatoire pour la caractérisation des souches de *Bacillus cereus* à l'origine d'infections chez l'homme. Thèse de Doctorat, Université Paris-Saclay, Paris (France). pp : 13-14.
- Halder S., Mehta AK., Kar R., Mustapha M., Mediratta PK and Sharma KK. (2011).** Clove oil reverses leaning and memory deficits in Scopolamine treated mice. *Planta Med* Vol.77. pp : 830-834.
- Hall C.I., Tulbek M.C and XuY. (2006).** Flaxseed. *Advances in Food and Nutrition Reasearch*. pp: 1-97.
- Halligudi N. (2012).** Pharmacological properties of Flaxseeds : a review. *Hygeia journal for Drugs and Medecines*. Vol.4,pp :70-77.
- Hanou S. (2018).** Aptitude du lait de Chamelle au développement des bactéries lactiques et mise au point de laits fermentés. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba (Algérie). p : 35.

Jirovetz I., Buchbauer G., Stailova I., Stoyanova A., Krastanov A and Schmidt T. (2006). Chemical composition and antioxydant properties of clove leaf essential oil. *J Agric Food Chemi.* Vol. 54. pp : 6303-6307.

Jonathan R. Kerr. (1999). Bacterial inhibition of fungal growth and pathogenicity. *Microbial Ecology in Health and Disease.* Vol.11.pp : 129-142.

Kaithwas G., Mukerjee A., Kumar P and Majumdar DK. (2011). Linum usitatissimum (linseed/flaxseed) fixed oil : antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *Inflammopharmacology.* Vol.19. pp : 45-52.

Kamil N. (2015). Les mycoses superficielles selon une série de l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Thèse de Doctorat, Université Mohammad V, Rabat (Maroc). pp : 14-15.

Kumar R., Dubey NK., Tiwari YB., Tripath and Sinha KK. (2007). Evaluation of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stored food commodities from infestation. *J Sci Food Agric.* Vol.87. pp : 1737-1742.

Labalette F., Landé N., Wagner D., Roux- Duparque M., Sallet E and Onidol E. (2011). La filière lin oléagineux Française : panorama et perspectives. *Oléagineux, Corps gras, Lipides.* Vol.18. pp : 113-122.

Lakshmeesha T.R., Kalagatur N.K., Mudili V., Mohan C.D, Rangappa S., Prasad B.D., Ashwini B.S., Hashem A., Alquarawi AA., Ahmed Malik J., Abdellah E.F., Gupta V.K., Siddaiah C.N and Niranjana S.R. (2019). Biofabrication of Zinc Oxide Nanoparticles with *Syzygium aromaticum* Flower Buds Extract and finding its novel Application in controlling the Growth and Mycotoxins of *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology.* Vol 10. p 2.

Lamblin F., Hanou C., Fliniaux O., Mesnad F., Fliniaux M. A., Lainé E. (2008). Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement des Cancers. *Médecine/ Sciences,* Vol.24. pp: 512-513.

Mami A. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Université d'Oran, Oran (Algérie). pp : 41-42.

Matar GM. (2018). Editorial : Pseudomonas and Acenitobacter. From Drug resistance to pathogenesis Front Cell Infect Microbial. Vol.8. p 68.

Meena MR., Sethi V. (1994). Antimicrobial activity of essential oils from spices. J Food Sci Technol. Vol. 31. pp : 68-70.

Mekhelfi T. (2016). Séparation et Détermination structurale de métabolites secondaires de deux plantes Algériennes- Activités biologiques. Thèse de Doctorat, Université des Frères Mentouri, Constantine (Algérie). p 72.

Nolin F. (2009). Hétérogénéité et spécificité de la lignification chez le lin (*Linum usitatissimum*) : Etudes microscopiques et biochimiques de la polymérisation des lignines. Thèse de Doctorat, Université Lille 1- Lille (France). p 2.

Oluwasina OO., Ezenwosu I.V, Ogidi C.O, and Oyetayo V.O. (2019). Antimicrobial potentiel of toothpaste formulated from extracts of *Syzygium aromaticum*, *Dennettia tripetala* and *Jatropha curcas* latex against some oral pathogenic microorganisms. AMB express. p 2.

Osanloo M., Sedaghat M.M., Esmaeili F and Amani A. (2018). Larvicidal activity oil of *Syzygium aromaticum* (clove) in comparison with its Major Constituent, Eugenol against *anopheles stephensi*. J Arthropod Borne Dis. P 361.

Pag AI., Radu RG., Draganescu D., Popa MI and Sirghie C. (2014). Flaxseed cake : a sustainable source of antioxydant and antimicrobial extracts. Cell Chem Technol. Vol.48. pp : 265-273.

Pérez- conesa D., Mc landsborough L and Weiss J. (2006). Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 :H7 colony biofilms by micellar encapsulated eugenol and carvacrol. J Food Prot. Vol.69. pp : 2947-2954.

Pérez- Jiménez J., Neveu V., Vos F and Scalbert A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols : an application of the phenol explorer database. Eur J Chem Nutri. Vol.64. pp : 112-120.

Rafieian- Kopaei M., Shakiba A., Sedighi M and Bahmani M. (2017). The Analgesic and Anti- inflammatory Activity of *Linum usitatissimum* in Balb/C Mice. Journal of Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. Vol.22. p 892.

Raja Narender B. (2016). Antibacterial and Antifungal activities of *Linum usitatissimum*. International Journal of Pharmacy Education and Research. p7.

Renouard S. (2011). Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignanes du lin (*Linum usitatissimum* et *Linum falvum*) et amélioration de l'extraction des lignanes. Thèse de Doctorat, université d'Orléans (France). pp: 26-27.

Rojas DFC., Fernandes CR and Oliveria WP. (2014). Clove, *Syzygium aromaticum* : a precious spice. Asian Pacific Journal of tropical Biomedecine. p 92.

Rombaut N. (2013). Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Thèse de Doctorat, Université de Technologie Compiègne (France). pp: 27-29.

Sabra A. (2013). Caractérisation moléculaire et phénotypique d'un mutant $dpp3\Delta$ déficient pour une pyrophosphate phosphatase chez la levure opportuniste *Candida lusitaniae* ; étude de l'interaction de levures avec l'hôte. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2, France. p 41.

Saeed M., Nadeem M., Rafiq Khan M., Shabbir M.A, Shehzad A and Amir R.M. (2013). Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* extracts against food spoilage bacteria. African Journal of Microbiology Research. Vol. 7. pp : 4848-4856.

Savoire R. (2008). Etude multi-échelles de la séparation solide-liquide dans la trituration du lin oléagineux. Thèse de Doctorat, Université de Technologie Compiègne 2. (France). pp: 11-12.

Shan B., Cai YZ., Sun M and Corke H. (2005). Antioxydant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Journal Agri Food Chem. Vol. 53. pp : 7749-7759.

Sitterlé E. (2018). La candidose cutanéomuqueuse chronique : un modèle d'étude de l'adaptation génomique chez *Candida albicans*. Thèse de Doctorat, université Sorbonne Paris Cité, Paris (France). pp : 35-36.

Slamenova D., Harvathora E., Wsolova L., Sramkova M and Navarava J. (2009). Investigation of antioxydative, cytotoxic, DNA damaging and DNA protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived Hep G2, Caco 2 and VH 10 cell lines. *Mutat Res.* Vol. 677. pp : 46-52.

Sofia P.K., Prasad R., Vijey VK and Srivastava AK. (2007). Evaluation of antibacterial activity of indian spices against common food born pathogens. *Int J Food Sci Technol.* Vol.42. pp: 910-915.

Soumaila G. (2012). Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop, Dakar (Sénégal). pp : 22-23.

Tian X., Zheng X., Sun Y., Fang R., Zhang S., Lin J., Cao J and Zhou T. (2020). Molecular Mechanisms and Epidemiology of Carbapenem Resistant *Escherichia coli* isolated from chinese patients during 2002-2017. *Infection and Drug Resistance.* Vol. 13. pp : 501-512.

Tkhilaishvili T., Wang L., Tavanti A., Trampuz A and Diluca M. (2020). Antimicrobial Efficacy of Two Commercially Available Bacteriophage Formulation, Staphylococcal Bacteriophage against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* : Prevention and Eradication of Biofilm formation and control of a systemic Infection of *Galleria mellonella* Larvae. *Frontiers in Microbiology.* Vol.11. pp : 1-2.

Toe E. (2018). Evaluation des facteurs de risques de biocontamination par *Salmonella* et *Escherichia coli* virulents de la chaîne alimentaire des Légumes à Abidjan (Côte d'Ivoire). pp : 12-29.

Tournus C. (2016). Validation de l'identification des *Pseudomonas* sp par Spectrométrie de masse type Maldi-Tof via la caractérisation d'une collection de souches environnementales et cliniques. Thèse de Doctorat, Université de Rouen (France). p 45.

Vanharanta M., Voutilainen S and Nurmi T. (2002). Association between low serum enterolactone and increased plasma F2- isoprostanes, a measure of lipid peroxidation. *Atherosclerosis*. Vol.160. pp : 465-469.

Vidic J., Chaix C., Manzano M and Heyndrickx M. (2020) Food sensing : Detection of *Bacillus cereus* spores in Dairy Products Biosensors. Vol.10. p:2-4.

Yapo-Kouadio CG., Bounouman Ira AV., Nad Aka., Dou Gsp., Zika KD., Cissé S., Adoubryn KD and Dosso M. (2017). Profil de résistance de *Candida albicans* d'origine vaginale aux antibiotiques usuels à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Revue Bio-Africa*. pp: 7-8.

Yobouet B.A. (2016). Contamination du lait cru et de l'attiéké vendus sur les marchés informels à Abidjan (Côte d'Ivoire) par le groupe *Bacillus cereus* et analyse des risques. Thèse de Doctorat, Université Nangui Abrogoua. Côte d'Ivoire. pp: 37-38.

Yu P., Yu S., Wang J., Guo H., Zhang Y., Liao X., Zhang J., Wu Q and Ding Y. (2019). *Bacillus cereus* isolated from vegetables in China : Incidence, Genetic Diversity virulence genes and antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*. Vol.10. pp : 1-10.

Zeeshan A.K., Kumar Y, Agarwal S., Srivasta A., Kumar S and Agarwal G. (2014). Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and Garlic (*Allium sativum*) on different pathogenic bacteria. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*. Vol.2. pp : 305-311.

Zhao S., Chen J., Fei P., Feng H., Wang Y., Ali Md., Li S., Jing H and Yang W. (2020). Prevalence, molecular characterization and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from dairy products in China. *J. Dairy Sci*. Vol.103.pp : 4-5.

Zhar H. (2011). L'infection a *Escherichia coli* entero-hémorragique. Thèse de Doctorat, Université Mohammed 5, Rabat (Maroc). p 5.

Zuk M., Dorotkiewicz-Jack A., Drulis-Kawa Z., Arendt M., Kulma A., Szopa J. (2014). Bactericidal activities of GM flaxseed extract on pathogenic bacteria clinical strains. *BMC Biotechnol*. Vol.40. p70.

