

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 والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mehidi Mohamed El Amine

Kara Oussama

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie appliquée

THÈME

Etude de l'activité antioxydante et antibactérienne
Des grains de Lin (*Linum usitatissimum*)

JURY

Président :	CHERIGUENE Abderrahim	Professeur	U. Mostaganem
Encadreur :	BEKADA Ahmed Med Ali	Professeur	U. Mostaganem
Examineur:	BEKADA Djamel Eddine	MCA	U. Mostaganem

Année universitaire 2020-2021

Délicieuse

**JE TIENS C'EST AVEC UN GRAND PLAISIR QUE JE DÉDIE CE MODESTE
TRAVAIL :**

A L'ÊTRE LA PLUS CHER DE MA VIE, MA MÈRE

A CELUI QUI M'A FAIT DE MOI UN HOMME, MON CHER PÈRE

A MES DEUX PETITS FRÈRES, MOSTAPHA ET IMED

A TOUS LES MEMBRES DES FAMILLES QUI PORTENT LES NOMS

MEHIDI ET KHEDIME

A MES CHERS AMIS, ABDALLAH ET AMINE

A TOUS MES COLLÈGES DE LA PROMOTION LMD/MA

2020/2021

MEHIDI MED EL AMINE

Dédicace

JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL

**A MES CHERS PARENTS POUR LEUR SOUTIEN, LEUR PATIENCE, LEUR
ENCOURAGEMENT DURANT MON PARCOURS SCOLAIRE**

A TOUS MA FAMILLE QUI PORTE LE NOM KARA

A TOUS MES AMIS ET FRÈRES

A L'ENSEMBLE DES ÉTUDIANTS DE NOTRE PROMOTION LMD/MA

2020/2021

KARA OUSSAMA

REMERCIEMENT

*On commence par remercier le Dieu tout puissant, de nous avoir donné le
Courage et l'optimisme de finir de travail.*

*On voudrait saisir l'occasion qui offerte pour exprimer notre profonde gratitude
et tous mes remerciements à mon promoteur et encadreur **Dr Bekada Ahmed
Med Ali** professeur à l'Université **ABDELHAMID IBN BADIS-
MOSTAGANEM** pour, leur précieux conseils, leur critiques constructives et
leur intérêt qu'il a porté toute au long de l'élaboration de ce travail.*

*On adresse notre sincères remerciements à tous les membres du jury, qui nous
fait l'honneur d'examiner cette mémoire.*

*Nous remercions tous les professeurs de l'Université Abdelhamid Ibn-badis
Mostaganem.*

*Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui
ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement pour
l'aboutissement de ce travail.*

Résumé

L'utilisation excessive d'antibiotiques et des médicaments est un facteur important qui contribue à l'apparition de différents types de microbes résistants et des effets indésirables. En conséquence ces phénomènes conduits à une augmentation de la gravité des maladies ce qui nécessite la recherche de solutions à ces problèmes.

Le but de cette étude été d'évaluer et d'étudier l'activité antioxydante ainsi que l'activité antibactérienne d'une plante qui est fréquemment utilisé comme un soin traditionnel : les grains de Lin (*Linum usitatissimum*) et d'exposer leur rôle médical 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'activité antioxydante et antibactérienne des grains de lin.

D'abord, en a exposé la composition chimique des grains de lin par la méthode d'extraction de Soxhlet et le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes l'activité antioxydante a été fait par la mesure d'activité antiradicalaire à travers deux méthodes : le test du piégeage de DPPH et le pouvoir réducteur de Fe^{2+} , l'activité antibactérienne a été fait par la méthode de diffusion des disques et la détermination de la concentration minimale inhibitrice contre des souches bactériennes très connus.

Selon les résultats observés, en peut dire que les grains de lin sont riches en les phytoestrogènes, ils ont aussi un potentiel antiradicalaire et antioxydant mesuré par rapport à l'antioxydant standard employé les résultats de l'activité antibactérienne réalisé par les chercheurs ont montrés un pouvoir inhibiteur très important par les différents extraits des grains de lin.

Ces résultats des extraits de grain de lin sont considérés comme la découverte la plus importante et la plus prometteuse dans les propriétés pharmaceutiques.

D'autres études devraient être menées pour révéler le mode d'action des grains de lin, ce qui pourrait être utile pour comprendre les rôles possibles en tant qu'agents antioxydants et antibactériens.

Mots clés : Activité antioxydante, activité antibactérienne, *Linum usitatissimum*, pouvoir réducteur, phytoestrogènes, polyphénols.

Abstract

Excessive use of antibiotics and medications is an important factor that contributes to the onset of different types of resistant microbes and unwanted effects. Consequently, these phenomena lead to an increased disease severity which requires the search for solutions to these problems.

The goal of this study was to evaluate and study antioxidant activity as well as antibacterial activity of a plant which is frequently used as a traditional care: Flaxseed (*Linum usitatissimum*) and to expose their medical role in human health.

In the experimental part: different scientific works were presented. In these works, the researchers carried out tests for the antioxidant and antibacterial activities of flaxseeds.

First, we explained the chemical composition of flax seeds by the extraction method of Soxhlet and the determination of total polyphenols and flavonoids, antioxidant activity was done by measuring anti-free radical activity using two methods: DPPH scavenging test and Fe^{2+} reducing power. Antibacterial activity was done by the disk diffusion method and determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) against a very well-known bacterial strains.

According to the results observed, we can say that flaxseeds are riche in phytoestrogens, they have also an anti-free radical and antioxidant potential measured in relation to the antioxidant standard used.

The results of antibacterial activity realized by researchers have shown a very important inhibiting power by the various extracts of flax seeds.

These results of flaxseeds extracts are considered as the most important and promising discovery in pharmaceutical properties.

Further studies should be conducted to reveal flaxseeds action mode, which could be useful in understanding possible roles as antioxidant and antibacterial agents.

Keywords: Antioxidant activity, antibacterial activity, *Linum usitatissimum*, reducing power, phytoestrogens, polyphenols.

المخلص

يساهم الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية والأدوية في ظهور أنواع مختلفة من الميكروبات المقاومة والآثار الغير مرغوب فيها، وبالتالي فإن هذه الظواهر تؤدي إلى زيادة خطورة المرض الأمر الذي يتطلب البحث عن حلول لهذه المشاكل.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم ودراسة النشاط المضاد للأكسدة وأيضاً النشاط المضاد للبكتيريا من نبات يستخدم بشكل متكرر كعناية تقليدية: بذور الكتان (*Linum usitatissimum*) وفضح دورها الطبي في صحة الإنسان.

في الجزء التجريبي: تم عرض أعمال علمية مختلفة. في هذه الأعمال، أجرى الباحثون اختبارات لأنشطة مضادات الأكسدة والبكتيريا لبذور الكتان.

أولاً، شرحنا التركيب الكيميائي لبذور الكتان بطريقة استخلاص سوكليت (Soxhlet) كما تم تحديد نسبة البوليفينول الكلي والفلافونويد وتم عمل نشاط مضادات الأكسدة بواسطة قياس النشاط المضاد للجذور الحرة باستخدام طريقتين: اختبار محاصرة الجذور الحرة DPPH واختبار الحد من الحديد.

تم إجراء النشاط المضاد للبكتيريا عن طريق طريقة الانتشار القرصي وتحديد الحد الأدنى من التركيز المثبط (CMI) ضد سلالات بكتيرية معروفة جداً.

وفقاً للنتائج التي تمت ملاحظتها، يمكننا القول إن بذور الكتان غنية بالأستروجين النباتي، ولديها أيضاً إمكانات مضادة للجذور الحرة ومضادة للأكسدة تقاس فيما يتعلق بمعايير مضادات الأكسدة المستخدمة.

أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا التي حققها الباحثون قوة تثبيط مهمة للغاية من المستخلصات المختلفة لبذور الكتان. تعتبر هذه النتائج لمستخلصات بذور الكتان من أهم الاكتشافات الواعدة في الخواص الصيدلانية.

يجب إجراء مزيد من الدراسات للكشف عن طريقة عمل بذور الكتان، والتي يمكن أن تكون مفيدة في فهم الأدوار المحتملة كعوامل مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا.

كلمات البحث: نشاط مضاد الأكسدة، نشاط مضاد البكتيريا، الاستروجين النباتي، *Linum usitatissimum*, قوة الحد من الحديد، البوليفينول.

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction générale

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Etude sur la plante

I. Linum usitatissimum.....	01
I.1. Description botanique.....	01
I.2. Propriétés et utilisation.....	02
I.3. Effets thérapeutiques de lin.....	04
I.3.1. Effets anti-inflammatoires, antioxydants et anticancéreux.....	05
I.3.2. Effet sur le système respiratoire et immunitaire.....	05
I.4. Composition chimique de grain de lin.....	05
I.4.1. L'huile de lin.....	06
I.4.2. Protéines.....	07
I.4.3. Composés glucidiques.....	07
I.4.4. Composés antioxydants du lin.....	07
I.4.4.1. Les tocophérols.....	07
I.4.4.2. Les polyphénols.....	08
I.4.4.2.1. Les lignanes de lin.....	09

I.4.4.2.1.1. Molécules bioactive.....	10
I.5. Activités antimicrobienne des graines de lin.....	11

Chapitre II : Métabolites secondaires

I. Généralités sur les métabolites secondaires.....	14
II. Les polyphénols	14
II.1. Présentation des polyphénols.....	14
II.2. Classification des polyphénols.....	15
II.2.1. Les phénols simples (C6).....	15
II.2.1.1. Acides hydroxy benzoïques.....	15
II.2.1.2. Acides hydroxy cinnamiques.....	15
II.2.1.3. Coumarines.....	16
II.2.2. Les composés phénoliques complexes.....	17
II.2.2.1. Les flavonoïdes.....	17
II.2.2.2. Les Tanins.....	17
A- Classification des tanins.....	18
III. Les terpènes.....	18
III.1. Généralités.....	18
IV. Les alcaloïdes.....	19
IV.1. Généralités	19

Chapitre III : Activités biologiques

I. Le stress oxydatif.....	21
II. Les radicaux libres.....	22
III. Origines des espèces réactive de l’oxygène.....	23
IV. Les antioxydants.....	26
IV.1. Généralités.....	26
IV.2. Définition.....	27
IV.3. Classification des antioxydants.....	27
IV.3.1. Les antioxydants endogènes.....	27
A- Super oxyde dismutase (SOD).....	27
B- Catalase.....	28
C- La glutathion peroxydase.....	28
IV.3.2. Les antioxydants exogènes.....	28
IV.3.2.1. Médicament.....	28
A- la probucol (lurselle).....	28
B- B-N-acétylcystéine.....	28
IV.3.2.2. Les antioxydants naturels.....	29
• Les vitamines.....	29
A- La vitamine E.....	29
B- La vitamine C.....	29
• Les polyphénols.....	29
• Les caroténoïdes.....	29
IV.4. Mécanisme d’action des antioxydants.....	30
V. L’activité antibactérienne.....	30
V.1. Microorganismes cibles.....	30
V.1.1. <i>Escherichia Coli</i>	30
V.1.1.1. Découverte.....	30

V.1.1.2. Caractéristiques.....	31
V.1.1.3. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	32
V.1.1.3.1. Facteurs de virulence.....	32
V.1.1.3.2. Mécanisme de pathogénicité.....	32
V.1.1.4. Résistance aux antibiotiques.....	32
V.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	33
V.1.2.1. Caractéristiques.....	33
V.1.2.2. Taxonomie.....	33
V.1.2.3. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	34
V.1.2.4. Résistance aux antibiotiques.....	36
V.1.3. <i>Bacillus cereus</i>	37
V.1.3.1. Caractéristiques.....	37
V.1.3.2. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	38
V.1.3.2.1. Pouvoir pathogène.....	38
V.1.3.2.2. Facteurs de virulence.....	39
V.1.3.3. Résistance aux antibiotiques.....	39
V.1.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
V.1.4.1. Présentation.....	40
V.1.4.2. Classification.....	41
V.1.4.3. Pathogénicité et facteurs de virulence.....	42
V.1.4.4. Résistance aux antibiotiques.....	42

Partie II : La partie expérimentale

Chapitre I : Rendement et composition chimique de l'extrait des grains de lin

Extraction par Soxhlet (Selon Bentoumi et Boukhalfa,2019)	45
➤ Matériels et méthodes.....	45
I.Matériel végétale.....	45
II. Extraction.....	45
III. Evaporation.....	46
III.1. L'évaporation au Rota vapeur.....	46
IV. Détermination de rendement d'extraction.....	47
V. Dosage.....	47
V.1. Dosage des composés phénoliques totaux.....	47
V.2. Dosage des flavonoïdes.....	48
➤ Résultats et discussions.....	48
1.Rendement.....	48
2. Teneur en polyphénols.....	49
3. Teneur en flavonoïdes.....	51

Chapitre II : Activités antioxydantes

Protocole expérimentale A (Selon Bentoumi et Boukhalfa,2019)	54
1.Piégeage du radical DPPH.....	54
2. Pouvoir réducteur.....	55
➤ Résultats et discussions.....	56
1.Activité antioxydante d'extrait de Soxhlet de <i>Linum usitatissimum</i>.....	56

2. Test de piégeage du DPPH.....	56
3. Pouvoir réducteur du fer.....	59
Protocole expérimentale B (Selon Alaa A. Gaafar et al,2013)	61
➤ Matériels et méthodes.....	61
1.Produits chimiques.....	61
2. Matériels végétales.....	61
3. Préparation et extraction des lignanes de lin.....	61
4. Piégeage du radical DPPH.....	62
5. Activité chélatrice de Fe ²⁺	63
6. Analyses statistiques.....	63
➤ Résultats et discussions.....	63
1.Ratio du rendement de lignanes d'extraits.....	63
2. Test de piégeage de DPPH.....	64
3. Activité chélatrice de Fe ²⁺	65

Chapitre III : Activités antibactériennes

Protocole expérimentale A (selon Raja Narendra et al ., (2016)).....	67
➤ Matériels et méthodes.....	67
1.Collecte des échantillons.....	67
2. Cultures bactériennes.....	67
3. Milieux de culture.....	67
4. Préparation d'extrait brut.....	67
5. Activité antimicrobienne.....	68

6. Analyse statistiques.....	68
➤ Résultats et discussions	68
Protocole expérimentale B (selon Al Bayati., (2007))	70
➤ Matériels et méthodes	70
1.Materiel végétale.....	70
2. Procédure d'extraction.....	70
3. Préparation des concentrations d'extraits.....	70
4. Cultures bactériennes.....	70
5. Préparation de l'inoculum.....	70
6. Activité antibactérienne.....	70
➤ Résultats et discussions	71
Protocole expérimentale C (selon Alaa A. Gaafar et al., (2013))	72
➤ Matériels et méthodes	72
1.Matériels végétal.....	72
2. Cultures bactériennes.....	73
3. Milieu de culture.....	73
4. Concentration inhibitrice minimal.....	73
5. Activité antibactérienne.....	73
➤ Résultats et discussions	74
Conclusion	76
Références bibliographiques	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Linum usitatissimum</i>	02
Tableau 2 : Bienfaits potentiels du lin pour la santé.....	04
Tableau 3 : Composition en acides gras de l'huile de lin.....	06
Tableau 4 : Activités antimicrobiennes de lin.....	12
Tableau 5 : Principaux acides hydroxy benzoïques.....	15
Tableau 6 : Principaux acides hydroxy cinnamiques.....	16
Tableau 7 : les principales sources des radicaux libres.....	25
Tableau 8 : Classification d' <i>Escherichia Coli</i>	31
Tableau 9 : Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Tableau 10 : Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Tableau 11 : Classification de <i>Bacillus cereus</i>	37
Tableau 12 : Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
Tableau 13 : Espèces de <i>Pseudomonas</i> sp appartenant aux groupes fluorescent ou non fluorescent.....	41
Tableau 14 : Rendement de l'extrait de Soxhlet.....	49
Tableau 15 : Pouvoir antioxydant (IC50) du standard et l'extrait testé.....	57
Tableau 16 : Ratio d'extraction des lignanes des grains de lin de cinq cultivars.....	63
Tableau 17 : : L'activité antioxydante des extraits de lignane de cinq cultivars des grains de lin contre le radical libre DPPH.....	64
Tableau 18 : Activité chélatrice de Fe ²⁺ par différentes concentrations des extraits des grains de lin de cinq cultivars.....	65
Tableau 19 : Activités antibactériennes des grains de lin.....	69
Tableau 20 : Activités antibactériennes d'extraits des grains de lin.....	72
Tableau 21 : Les souches bactériennes utilisées par Alaa A. Gaafar et al,2013.....	73
Tableau 22 : Activité antibactérienne des extraits de cinq cultivars de lin.....	74
Tableau 23 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) d'extraits de lignane de cinq cultivars de Lin.....	75

Liste des figures

Figure 1 : Fleur, capsules à maturité et leur contenu en grains.....	01
Figure 2 : Utilisation du lin.....	03
Figure 3 : Formule chimique des tocophérols.....	08
Figure 4 : Structure des acides hydroxy benzoïques.....	15
Figure 5 : Structure des acides hydroxy cinnamiques.....	16
Figure 6 : Structure d'une molécule de coumarine.....	16
Figure 7 : Structure de base des flavonoïdes.....	17
Figure 8 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et espècesoxygénées actives ...	21
Figure 9 : La conséquence de stress oxydatif au niveau cellulaire.....	22
Figure 10 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et Espèces réactives de l'oxygène.....	23
Figure 11 : Sources endogènes des espèces réactives.....	25
Figure 12 : Les sources exogènes des radicaux libres.....	26
Figure 13 : les différentes espèces oxygénées actives et les antioxydants régulateurs de leur production.....	27
Figure 14 : Montage de l'extracteur Soxhlet.....	45
Figure 15 : Montage de l'évaporateur rotatif de laboratoire.....	47
Figure 16 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	49
Figure 17 : Teneur en polyphénols totaux dans deux extraits (des grains de lin) Macération et Soxhlet en équivalent d'acide gallique.....	50
Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	51
Figure 19 : Teneurs en flavonoïdes dans les deux extraits macération/ Soxhlet en équivalent de quercétine.....	52
Figure 20 : Réduction de radical DPPH par un antioxydant.....	54
Figure 21 : Résultats du test DPPH.....	57
Figure 22 : Pouvoir de réduction du DPPH par l'extrait éthanolique de Soxhlet.....	58

Figure 23 : Courbe d'activité antioxydante de l'acide ascorbique vis-à-vis de DPPH...	58
Figure 24 : Résultats de test du pouvoir réducteur de fer.....	59
Figure 25 : L'activité réductrice de fer des extraits et les standards utilisés.....	60

Liste des Abréviations

% : Pourcentage

AGE : Acide gras essentiel

AGMI : Acide gras mono insaturé

AGPI : Acide gras poly-insaturé

AGS : Acide gras saturé

ALA : Acide alpha linoléique

BHT : Butyl hydroxyle toluène

C° : degré Celsius

Ca²⁺ : Calcium

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle)

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

Fe²⁺ : Fer ferreux

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

mg : Milligramme

Mg²⁺ : Magnésium

ml : Millilitre

nm : nanomètre

SDG : Sécoisolaricirésinoldigluco-side

SOD : Superoxyde dismutase

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Introduction Générale

Introduction générale

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est à remarquer concernant les effets biologiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif généré par les espèces réactives de l'oxygène (**ERO**). Celles-ci sont impliquées dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, les accidents cardiovasculaire (**AVC**), l'ostéoporose, les maladies inflammatoires et les maladies neurodégénératives ...etc. dans ce contexte, de nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés bioactifs notamment sur les polyphénols (**PP**) qui agissent contre les ERO, on aboutit à leur utilisation dans les industries alimentaires, cosmétique et pharmacologique (**Kebbab,2014**).

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. 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**).

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**).

Les plantes aromatiques ont l'aptitude de synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotique et abiotique qu'ils peuvent subir. Ces métabolites secondaires possèdent diverses propriétés biologiques (**Haddouchi et al.,2009**).

Le choix de notre plante s'est basé sur leur utilisation fréquente dans nos traditions locales culinaires et médicinales, afin de revaloriser et redécouvrir notre patrimoine national. De ce fait on s'est focalisé sur les polyphénols.

Le lin, est considérablement employé dans le quotidien de la santé publique et énormément introduit en nutrition animale. Il n'est pas un nouvel aliment, il est un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux et précieux en raison de ses propriétés de guérison qui ont fait de lui une plante millénaire aux vertus médicinales. D'ailleurs, son nom latin « *Linum usitatissimum* » (lin de tous les usages) est amplement mérité (**Tzang et al., 2009**).

La valorisation de la plante *Linum usitatissimum* englobe plusieurs aspects, le criblage phytochimique et l'évaluation de leur activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante).

Notre manuscrit s'articule autour de trois parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique qui a pour objet de donner des informations sur la plante étudiée, les métabolites secondaires ainsi que sur le stress oxydant et les microorganismes cibles pour cette étude.
- Dans la deuxième partie, Nous exposons par des travaux expérimentaux réalisés par des chercheurs où nous présentons le matériel et les méthodes et les résultats
- Finalement, ce manuscrit se termine par une conclusion qui souligne les résultats marquant de ce travail.

Références de l'introduction

Kebbab R., (2014). Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal: évaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Mémoire de Magister: Université Mouloud Mammeri de Tzi-Ouzou. p171.

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

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

Haddouchi F, Lazouni H A, Meziane A et Benmansour A,(2009), Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut, Afrique Science, Vol.05.pp :246-259.

Tzang B. S, Yang S. F, Fu S. G, Yang H.C, Sun H. L, Chen Y.C. 2009. Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. Food Chemistry,114, 14501455.35

Partie I

Synthèses bibliographiques

Chapitre I

Etude sur la plante

I.Lin (*Linum usitatissimum*)

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

(Alachaher, 2018).

I.1. Description botanique

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 1 : Classification botanique de *Linum usitatissimum* (USDA)

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Linales
Famille	<i>Linaceae</i>
Genre	<i>Linum</i>
Espèce	<i>Linum usitatissimum</i> L.

I.2. Propriétés et utilisation

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 goût 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).

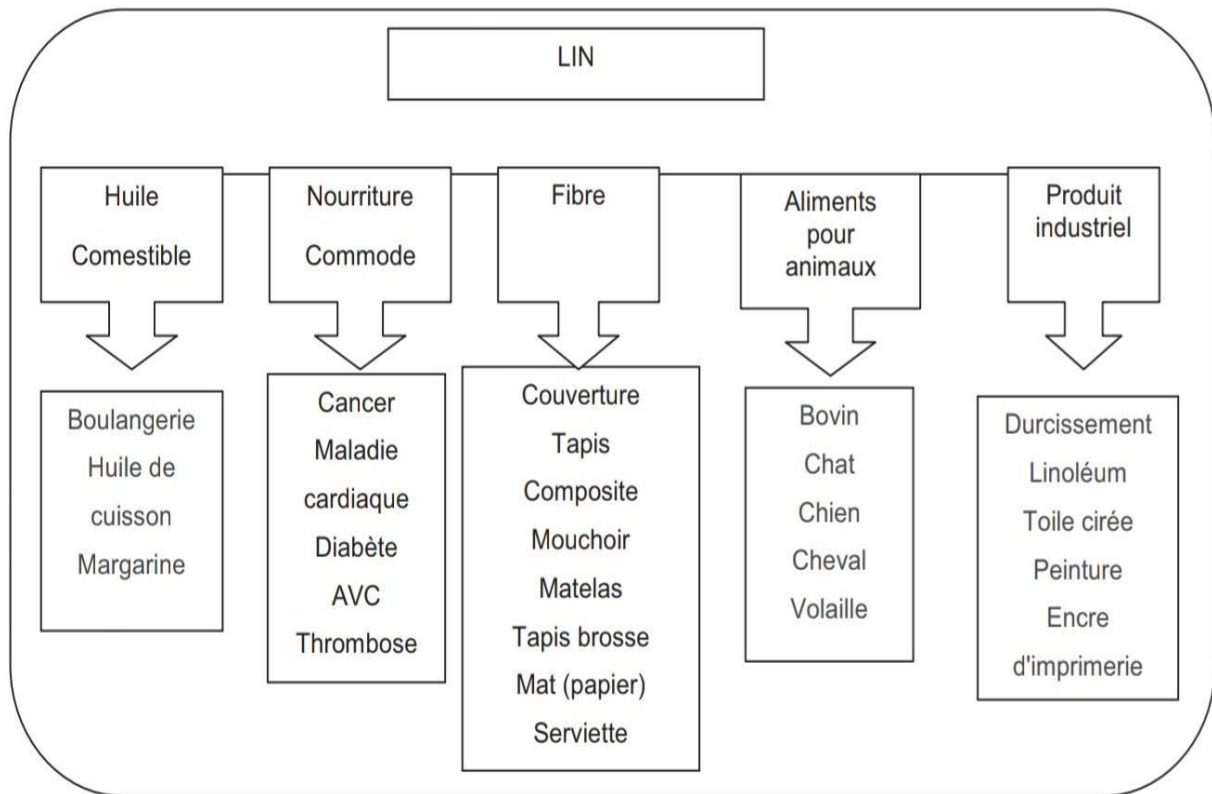


Figure 2 : Utilisation du lin. (Beroual, 2014).

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 2 : 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) -Maitrise 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 hypocholestérolémiant

I.3. 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).

I.3.1. 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 (**Chen 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**).

I.3.2. 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 aigue, la bronchite, l'emphysème et la cystite chronique, également comme une prévention utile contre l'angine de poitrine, le rhume et l'artériosclérose. Également pour réduire les taux de glycémie postprandiale et du cholestérol (**Abidi et al., 2019**).

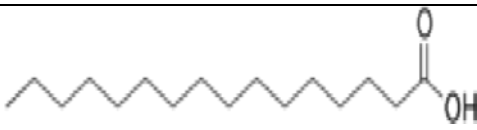
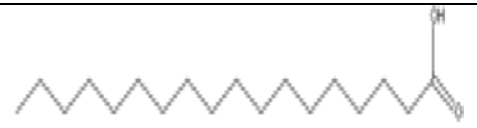
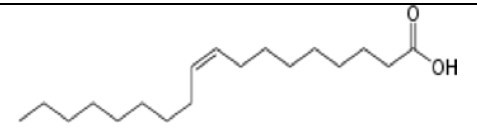
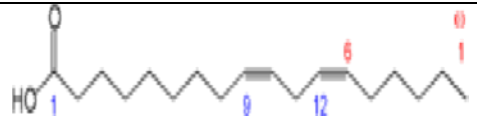
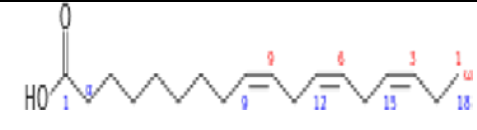
I.4. Composition chimique de grain de lin

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 öl (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**).

I.4.1. 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 3 : composition en acides gras de l'huile de lin (Daun et al., 2003).

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

I.4.2. 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**).

I.4.3. 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**).

I.4.4. Composés antioxydants de lin

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

I.4.4.1. 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 3**). 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**).

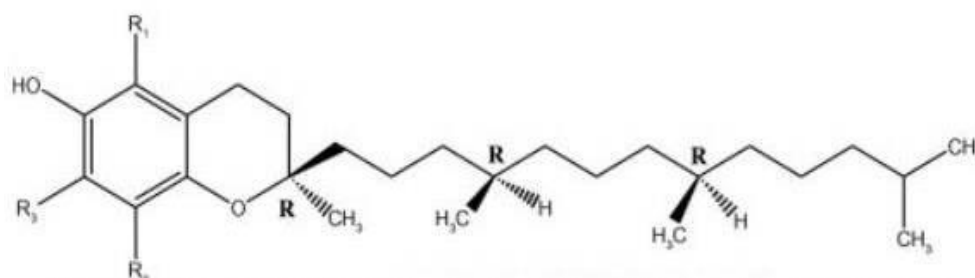


Figure 3 : Formule chimique des tocophérols (Rombaut, 2013).

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).

I.4.4.2. 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**).

I.4.4.2.1. Les lignanes de 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 cardiovasculaires, 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**), 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**).

I.4.4.2.1.1. Molécules bioactives

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 eicosapentaénoïque (**AEP**) et en l'acide docosahexaénoïque (**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**).

I.5. Activités antimicrobiennes des grains 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 4)**. 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 4 : 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>

Chapitre II

Métabolites secondaires

I. Généralités sur les métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. On appelle métabolites secondaires les composés biosynthétisés naturellement. Nombreux d'entre eux possèdent des propriétés thérapeutiques utilisés en médecine traditionnelle et moderne (Nguyen et al., 2013).

Les métabolites secondaires sont classés en trois groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Krief, 2003 ; Haven et al., 2000).

II. Les polyphénols

II.1. Présentation des polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) sont des produits du métabolisme secondaire des plantes (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006). Ils possèdent plusieurs groupements phénoliques, c'est à dire au moins un noyau phénolique à six carbones, lié au moins à un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton, 1999).

Les polyphénols peuvent être divisés en dix classes. Chaque classe varie de l'autre par sa structure chimique. Telle que phénol simple ; tannins.

Le terme « phénol » englobe 10000 composés naturels connus (Martin et Andriantsitohaina, 2002). La biosynthèse des polyphénols est assurée par deux voies principales : La voie du Shikimate, responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr après transamination et désamination aboutit aux acides cinnamiques (Knaggs, 2003). Egalement la voie du polyacétate (condensation de molécules d'acétylCoenzyme) qui aboutit à des composés tels que les naphthoquinones (Bruneton, 1999; Nacz et Shahidi, 2004).

Les polyphénols s'intègrent dans l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002) dans les légumes, les fruits, les céréales les boissons, le cacao etc. Ces molécules possèdent aussi un effet antioxydant, effet Protecteur contre l'apparition de certains cancers (Macheix et al, 2006).

II.2. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux grands groupes : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Boros, 2010).

II.2.1. Les polyphénols simples (C₆)

II.2.1.1. Acide hydroxy benzoïque

-Dérivent de l'acide benzoïque

-Structure générale de base de type (C₆-C₁) (Figure 4, Tableau 5).

(Sarni-Manchado et Cheynie, 2006)

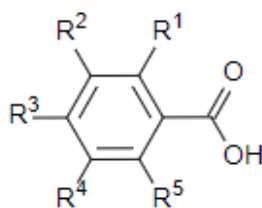


Figure4 : Structure des acides hydroxy benzoïques

R1	R2	R3	R4	Acide phénol
H	H	H	H	A. benzoïque
H	H	OH	H	A. p. hydroxy benzoïque
H	OH	OH	H	A.protocatechique
H	OCH3	OH	H	A.vanilique
H	OH	OH	OH	A.gallique
H	OCH3	OH	OCH3	A.syringique
OH	OH	H	H	A.salicylique
OH	OH	H	OH	A.gentisique

Tableau 5 : Principaux acides hydroxy benzoïques

II.2.1.2. Acide hydroxy cinnamique

-Dérivent de l'acide cinnamique.

- Structure générale de base de type (C₆-C₃) (Figure 5, Tableau 6).

(Sarni-Manchado et Cheynie , 2006)

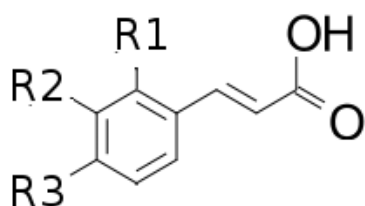


Figure 5 : Structure des acides hydroxy cinnamiques

R1	R2	R3	C6C3
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide p. coumarique
OH	OH	H	Acide cafeique
OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique
OH	OH	OH	Ac. tri (OH)cinnamique

Tableau 6 : Principaux acides hydroxy cinnamiques

II.2.1.3. Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxy cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (Guignard, 1998 ; Deina et al., 2003 ; Booth et al., 2004) (Figure 6). Ils sont présents dans la cellule végétale sous forme de glycoside (Hofmann, 2003 ; Macheix et al., 2006). Cette forme permet d'éviter la toxicité des coumarines.

Les coumarines possèdent des activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, diurétique, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Stefanova et al., 2007).

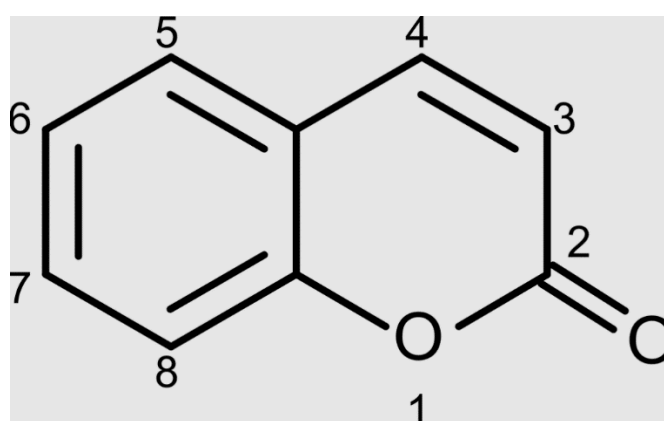


Figure 6 : Structure d'une molécule de coumarine (Cowan, 1999).

II.2.2. Les Composés phénoliques complexes

II.2.2.1. Les flavonoïdes

Ce sont des pigments permettant la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigments. Ce sont des polyphénols ayant une structure de base en C₆-C₃-C₆, constituée de deux noyaux aromatiques, reliés par un hétérocycle oxygéné.

On les classe en fonction du degré d'oxydation du noyau pyranique central. On les distingue aussi par le nombre et la position des groupements hydroxyles, par l'existence ou non de substituants sur la génine (**Bruneton, 2009**). Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (**Bouakaz, 2006**).

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent vers les vacuoles (**Piquemal, 2008**). Ils sont répartis dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (**Verhoeyen et al., 2002**). Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques : antivirales, antiinflammatoires et anticancéreuses puisqu'ils ont la capacité de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et superoxydes.

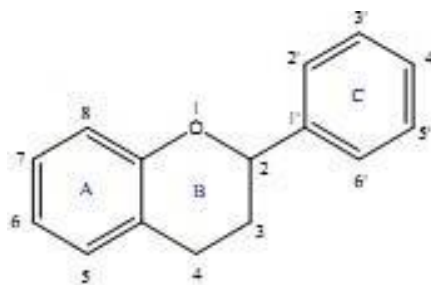


Figure 7 : Structure de base des flavonoïdes

II.2.2.2. Les Tanins

Ce sont des substances d'origine végétale, non azotées, de structure poly phénolique. Ils sont solubles dans l'eau, l'alcool, l'acétone et sont peu soluble dans l'éther. De saveur astringente, responsables de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible (**Brunet, 2008**).

Dans les plantes, les tanins existent à l'état complexe, les tannoïdes ; certains sont combinés à des sucres.

Dans tous les cas, les tanins ont des rôles de protection, des végétaux, contre les prédateurs. Ils partagent la caractéristique fonctionnelle de tanner les protéines, c'est-à-dire de former des complexes avec celles-ci.

Les tanins induisent une amélioration des performances animales, croissance du rendement en viande et en lait (**Barry et al., 1986**).

A- Classification des tanins

Les tannins sont des macromolécules qui se divisent selon leur structure en deux groupes distincts. Les tanins hydrolysables, sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester et les tanins condensés qui sont des polymères dérivés de résidus flavanols (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Bruneton, 1999; Hagerman, 2002**).

- **Les tanins hydrolysables (THs)**

Ce sont des oligo- ou polyesters d'un sucre, en général le glucose, associés à des molécules d'acide-phénol (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Jean-Blain, 1998; Bruneton, 1999; Mueller-Harvey, 2001**). Ils sont classés selon la nature de l'acide-phénol en :

- **Tanins galliques** : Possède un acide gallique
- **Tanins éllagique** : Ont un acide hexahydroxyphénique (**Hagerman, 2002**).

Ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acide et alcalin ou sous l'action d'enzymes, tannases, pour donner des glucides et des acides phénoliques (**Leinmüller et al., 1991**).

- **Les tanins condensés (TCs)**

Sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes (**Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992; Bruneton, 1999**). Ce sont des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes.

III. Les terpènes

III.1. Généralités

Les terpènes sont des molécules formées par l'assemblage de nombre entier d'unités penta carbonées ramifiées et dérivant du 2-méthyl butadiène. Elles sont appelées unités isopréniques $(C_5H_8)_n$ (Qureshi. N et Porter. J. W, 1981). La très grande majorité des terpènes sont spécifiques

du règne végétal mais on peut les rencontrer aussi chez les animaux (les champignons, les algues marines, les insectes et les éponges) (**Benaissa , 2011**).

Les terpènes sont classés selon le nombre d'unités isoprène en :

- **Hémi terpènes (C5)**, peu de composés naturels ayant une formule de C5 ramifiée ont été rencontrés.
- **Monoterpènes (C10)**, issus de couplage de deux unités isopréniques.
- **diterpènes (C20)**, issus du couplage de quatre unités isopréniques.
- **sesquiterpènes (C25)**, issus du couplage de cinq isoprènes.
- **triterpènes (C30)**, ils sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifié, ou sous forme hétérosidique.

Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles.

Tous les terpènes peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques ou polycycliques (**Belbache, 2003; Malecky, 2005**).

IV. Les alcaloïdes

IV.1. Généralités

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin. Il présente une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga , 2011**). Il donne une réaction de précipitation avec certains réactifs. C'est un composé synthétisé au niveau des racines et sera transporté, par la suite, au niveau de son site de stockage (**Rakotonanahary , 2012**).

- Les alcaloïdes ont des masses moléculaires variant entre 100 et 900 Da.
- Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides à température ordinaire (nicotine, spartéine, confine).
- Les alcaloïdes oxygénés sont solides, cristallisables et rarement colorés.

Chapitre III

Activités biologiques

I. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défense anti oxydants et la production des radicaux libres (**Figure 8**).

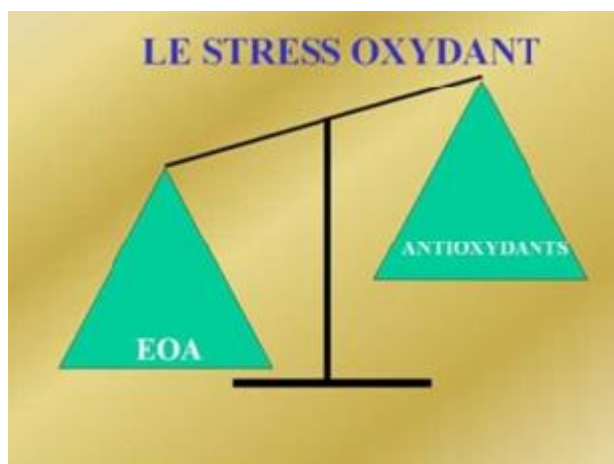


Figure 8 : déséquilibre de la balance entre antioxydants et espèces oxygénées actives (**Bentafar et Chaib, 2016**).

Ce déséquilibre pourrait avoir diverses origines, telle que : la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants, une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, médicament, rayons gamma, rayon UV, herbicides, métaux toxique) (**Arab Naziha ,2016**). Ces derniers sont des espèces fortement toxiques et leur excès est très nocif pour les macromolécules de nos cellules, ils entraînent beaucoup d'anomalies (**Figure 9**).

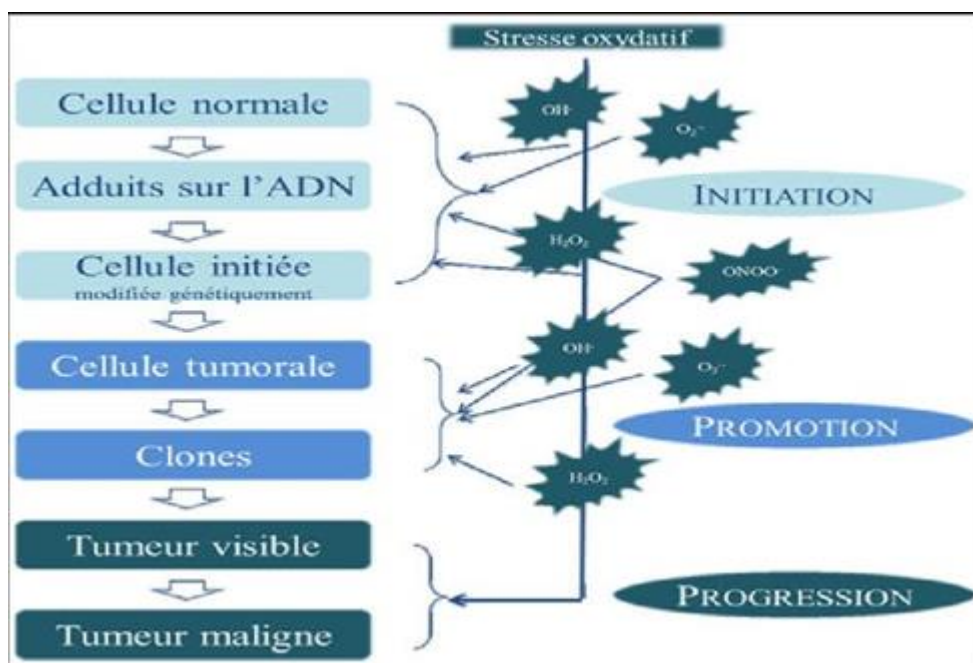


Figure 9 : la conséquence de stress oxydatif au niveau cellulaire

Pour se protéger contre cet effet toxique des radicaux libres, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production des ROS (espèces oxygénées actives). Ces systèmes sont composés d'antioxydants, d'oligoéléments et de protéines.

II. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Ce sont des espèces chimiques très instables qui jouent un rôle dans l'action de certains traitements anti-cancéreux. Leur structure comprend un électron célibataire qu'ils recherchent à assembler en attaquant et en endommageant les molécules voisines (**Robert, 2005**).

Les radicaux libres se divisent en deux types (**Figure 10**) :

Primaires : qui dérivent directement de l'oxygène et appelé (ROS) comme :
le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$, radical hydroxyl OH^{\cdot} et monoxyde d'azote NO^{\cdot} .

Secondaires : comme radical peroxy (ROO^{\cdot}) et radical alkoxy (RO^{\cdot}). (**Favier, 2003**).

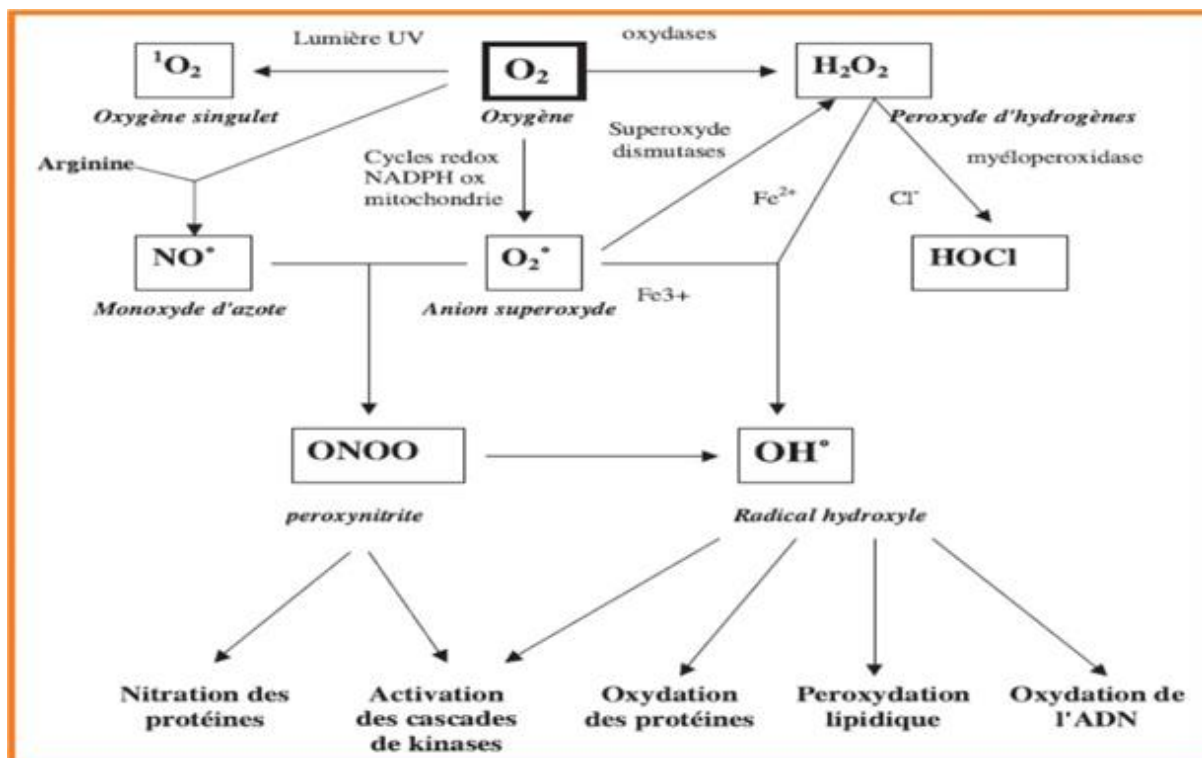


Figure 10 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l’oxygène (Favier, 2003).

III. Origines des espèces réactive de l’oxygène

Les radicaux libres peuvent être d’origine endogène par le détour de différents mécanismes physiologiques dans l’organisme, mais aussi d’origine exogène provoqués par d’autres sources chimique et physique (Figure 12, Tableau 7).

Les sources	Localisation
<p>Endogènes (Adoui, Fartas et Mechri ; 2016)</p>	<p style="text-align: center;">A- Chaîne respiratoire</p> <p>la mitochondrie est un organe intracellulaire qui est responsable de la production d'énergie, elle est considérée comme une source principale des radicaux libres.</p> <p style="text-align: center;">B – la réaction immunitaire :</p> <p>Les cellules phagocytaires activées assurent l'activation du complexe NADPH oxydase. Cette enzyme utilise l'oxygène pour produire de grandes quantités de superoxyde au niveau de la membrane cellulaire.</p> <p style="text-align: center;">C – peroxyosome :</p> <p>Le peroxyosome joue un rôle essentiel dans la production cellulaire de H₂O₂ par ce que cet organe contient plusieurs enzymes produisent du H₂O₂.</p> <p style="text-align: center;">D- les microsomes :</p> <p>L'auto oxydation du cytochrome p450 et l'oxydation du NADPH par le NADPH déshydrogénase sont les deux principales sources de production d'O₂.</p> <p style="text-align: center;">E – le cytosol :</p> <p>Il ya deux enzymes situés au niveau du cytosol impliqués dans la création des radicaux libres :</p> <p style="text-align: center;">1- La xanthine oxydase :</p> <p style="text-align: center;">Est une enzyme soluble réduisant l'hypoxantine en xantine.</p> <p style="text-align: center;">2- La NO synthase :</p> <p>Beaucoup de cellules capables de produire du monoxyde d'azote à partir d'O₂ et l'arginine (Figure 19).</p>

<p>Exogènes (Adoui, Fartas et Mechri ; 2016)</p>	<p style="text-align: center;">1- Les rayonnements UV :</p> <p>L'irradiation peut décomposer l'acide nucléique.</p> <p style="text-align: center;">2- Certains médicaments :</p> <p>Un certain nombre de médicaments, particulièrement l'adriamycine, la bléomycine, et des toxiques forment une source renouvelable des radicaux libres par des phénomènes de recyclage.</p> <p style="text-align: center;">3- Fumé du tabac</p> <p>Dans les poumons la fumée de cigarette peut libérer H₂O₂ qui peut se distribuer dans les noyaux des cellules et réagir avec le fer pour produire le OH.</p>
---	---

Tableau 7 : les principales sources des radicaux libres.

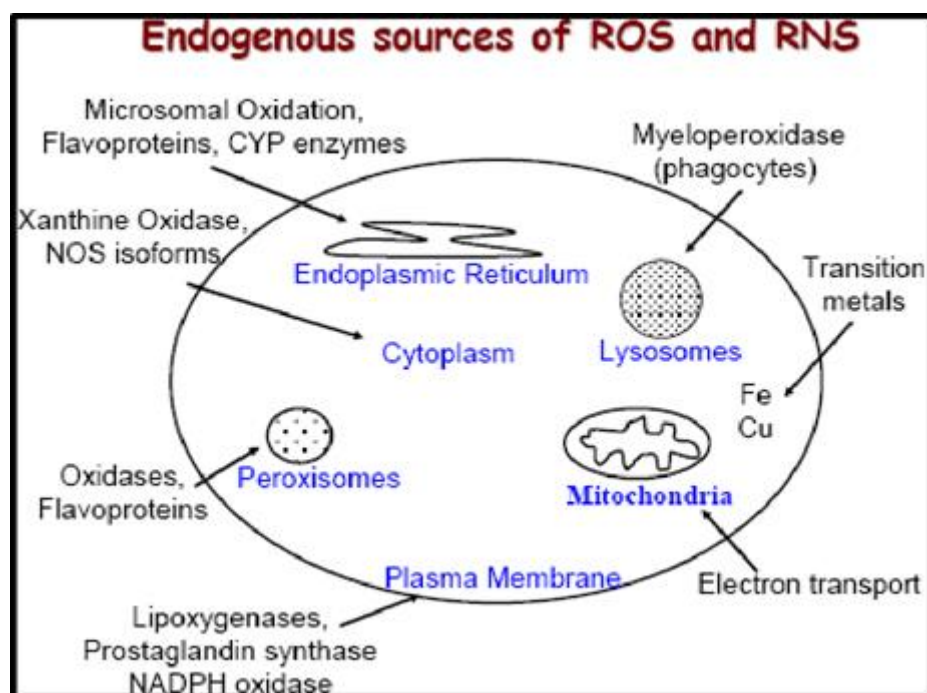


Figure 11 : Sources endogènes des espèces réactives (Adoui et al., 2016).

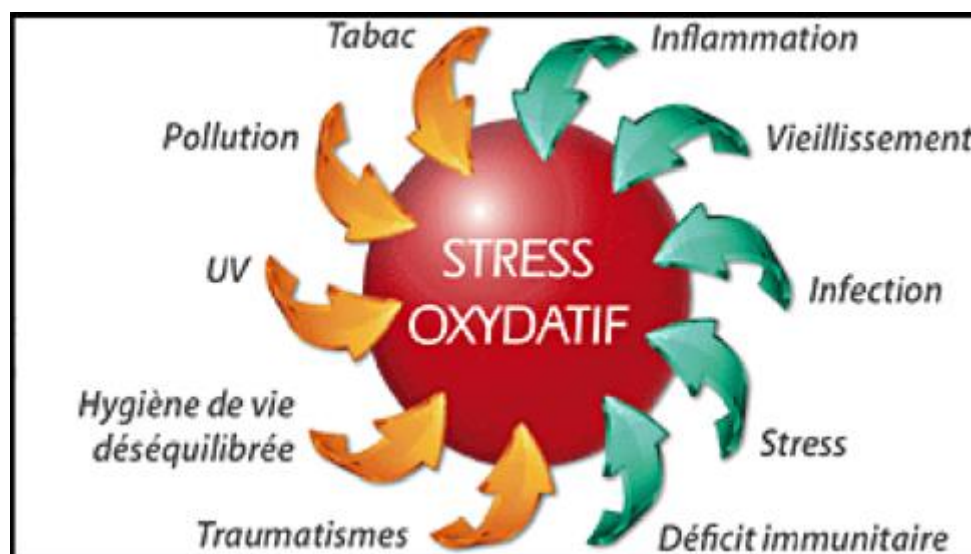


Figure 12 : les sources exogènes des radicaux libres (sekli, 2012).

IV. Les antioxydants

IV.1. Généralités

Pour protéger le corps contre les radicaux libres, l'organisme dispose un complexe de défense antioxydants. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une exogène est apportée par l'alimentation (vitamines, caroténoïdes ...) et l'autre endogène se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase...) (**Figure 13**).

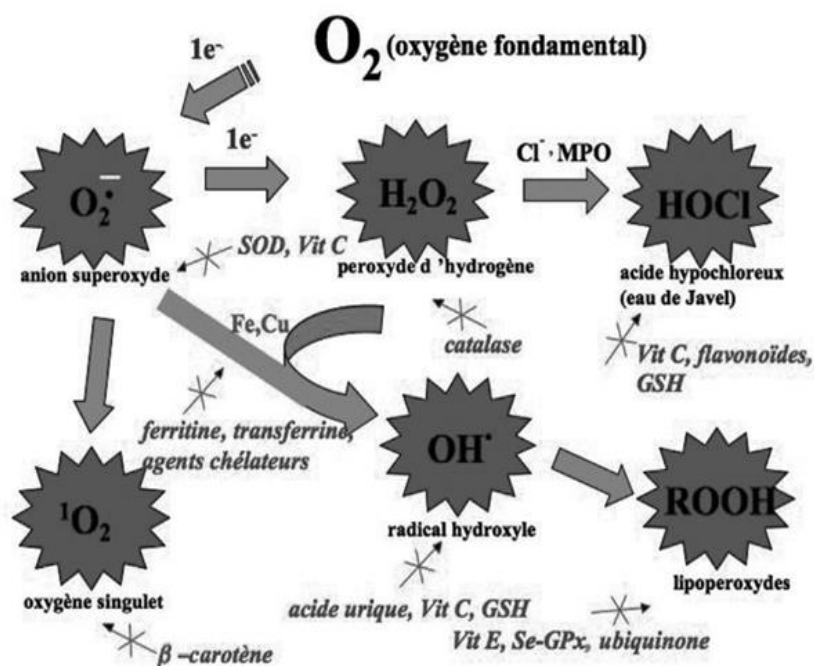


Figure 13 : les différentes espèces oxygénées actives et les antioxydants régulateurs de leur production (**milbury et richer, 2008**).

IV.2. Définition

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation pour former un composé stable (**ShimizuH, 2004**).

IV.3. Classification des antioxydants

IV.3.1. Les antioxydants endogènes

La défense de la cellule est assurée par des enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (**harrar abd el nacer , 2012**).

A- Super oxyde dismutase (SOD)

Est une enzyme qui permet l'élimination de l'anion superoxyde par une réaction de dissimulation, elle produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène.

La SOD existe sous trois iso formes : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions de cuivre et zinc, une forme mitochondriale associée au manganèse et une forme extracellulaire (Arab Naziha ,2013).

B- Catalase

La catalase permet de transformer deux molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène qui sont des composés stables. Cette enzyme est localisée dans le foie et les globules rouges.

C- La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase est une enzyme utilisée non seulement pour détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydro peroxydes. C'est un produit de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (Ganther, 1999).

La glutathion peroxydase se trouve dans le cytoplasme et dans les mitochondries.

En présence de deux molécules de glutathion sous forme réduites, la glutathion peroxydase catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau.

IV.3.2. Les antioxydants exogènes

Ils incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ... etc (kohen et nyska, 2002).

IV.3.2.1. Médicament

A- La probucol (lurselle)

Probucol est un médicament agissant comme antioxydant en éliminant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) (Bossokpi, 2002).

B- N-acétylcystéine

N-acétylcystéine est une molécule qui introduit les cellules et agit de manière très efficace dans la régénération du glutathion (Bossokpi, 2002).

IV.3.2.2. Les antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont présents environ dans toutes les plantes, tous les microorganismes, les champignons et même dans les tissus des animaux (**PELLI ET LYLY, 2003**).

- **Les vitamines**

- A- Le vitamine E :

La vitamine E ou α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, elle capte les radicaux peroxydes lipidique RO₂. La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice. Celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical α -tocophéryle, ce radical capte les radicaux superoxydes, les radicaux hydroxyles et l'oxygène singulet.

- B- Le vitamine C :

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles mais aussi avec les radicaux superoxydes O₂ (**DIALLO, 2005**).

- **Les polyphénols**

Les composés phénoliques sont capables d'agir et contrôler les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène.

Les groupes hydroxyles des polyphénols sont des donneurs d'atomes d'hydrogène ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote (**BOUBEKRI, 2014**).

- **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes peuvent agir comme des antioxydants par différents mécanismes. Les plus importants sont :

- ✓ Le blocage des chaînes de réaction radicalaire.
- ✓ Ils proviennent de l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet. Tous les caroténoïdes non pas la même action pour désactiver l'oxygène singulet (**BOUHADJRA, 2011**).

IV.4. Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Dahmani 2018**). Il y a deux types d'antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action :

➤ **Les antioxydants primaires ou piègeurs des radicaux libres**

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire (**Huang et al, 2005**).

➤ **Les antioxydants secondaires ou préventifs**

Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Ce type d'antioxydants inclut des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydantes et destructrices des hydroperoxydes (**Miller et al, 1996**).

V. L'activités antibactérienne

V.1. Microorganismes cibles

V.1.1. *Escherichia Coli*

V.1.1.1. 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**).

V.1.1.2. Caractéristiques

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des Entérobactériaceae, appartenant à la classe des Protéobactéries (**tableau 8**). 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 aero- anaerobiefacultatif 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 8: Classification d'*Escherichia Coli* (**Soumaila, 2012**).

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

V.1.1.3. Pathogénicité et facteurs de virulence

V.1.1.3.1. 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).

V.1.1.3.2. 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 entérotoxine 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).

V.1.1.4. 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).

V.1.2. *Staphylococcus aureus*

V.1.2.1. 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).

V.1.2.2. 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 9 : Classification de *Staphylococcus aureus* (Belkacem, 2017).

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

V.1.2.3. 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 10 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (David, 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.

V.1.2.4. 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).

V.1.3. *Bacillus cereus*

V.1.3.1. 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 11 : Classification de *Bacillus cereus* (Glasset, 2016).

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

V.1.3.2. Pathogénicité et facteurs de virulence

V.1.3.2.1. 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 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).

V.1.3.2.2. 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).

V.1.3.3. 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.1.4. *Pseudomonas aeruginosa*

V.1.4.1. 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).

V.1.4.2. Classification

Le genre *Pseudomonas* appartient au phylum des Protéobactéries, à la classe des Gammaprotéobacteries, de l'ordre des Pseudomonadales, et la famille des Pseudomonadaceae (tableau 12). D'autres genres sont inclus dans cette famille comme les genres *Azomonas*, *Azotobacter*, *Chryseomonas*, *Flavimonas*, et *Rhizobacter* (El Meskini, 2011).

Tableau 12 : Classification 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>

V.1.4.3. 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 13**). 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 13 : 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>	

V.1.4.4. 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 aigue. 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**).

V.1.4.5. 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**).

Partie Expérimentale

Chapitre I

Rendement et Composition chimique de l'extrait des grains de lin

Extraction par Soxhlet (Selon Bentoumi et Boukhalfa,2019)

➤ Matériels et méthodes

I. Matériels végétale

Les graines de lin utilisées (*Linum usitatissimum* L.) pour l'extraction dans le laboratoire sont les graines commercialisées. Ces graines (250g) sont broyées à l'aide d'un broyeur électronique de type SAVOMIX (Chine), puis tamiser jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui est conservée au congélateur pour servir aux analyses chimiques.

II. Extraction

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction par solvant continue d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide. Cet appareil porte le nom de son inventeur : **Franz Von Soxhlet**.

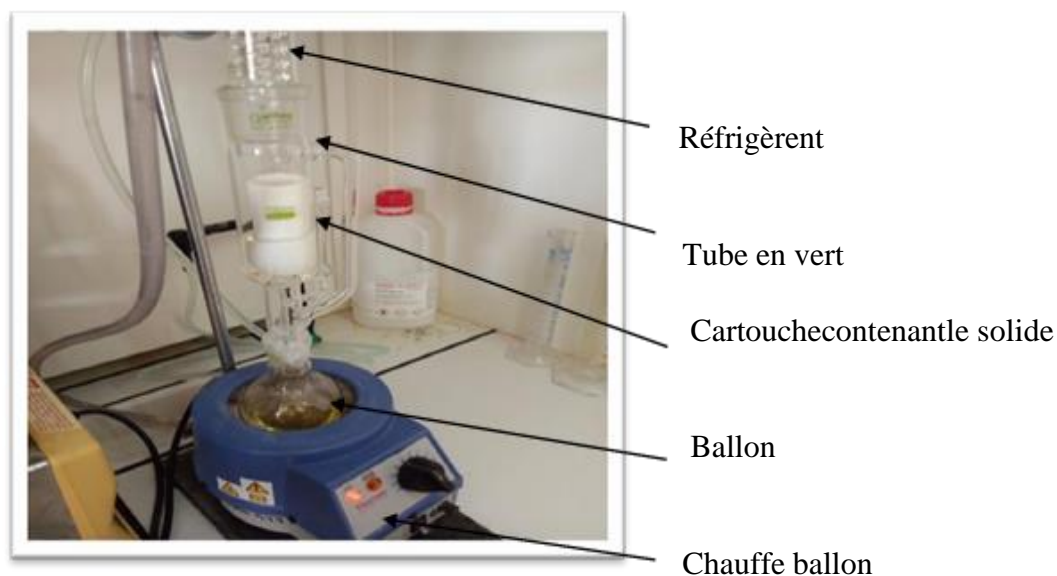


Figure 14 : Montage de l'extracteur Soxhlet

➤ Principe

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Ces vapeurs qui traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent à travers l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation - condensation. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des composés non volatils et semi volatils.

➤ Mode opératoire

La poudre des graines de Lin (10g) est introduite dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant.

- En premier lieu, verser 300 ml d'éthanol (100%) dans le ballon et porté à ébullition (78C°).
- Ouvrir le robinet d'eau passant par le réfrigérant.
- Pendant 4 heures, on a fait l'extraction. (Amirah & Reddy, 2012).

III. Evaporation

la fraction obtenu par Soxhlet a été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur en fixant la température de l'évaporation, Cette dernière dépend de la température d'ébullition du solvant.

III.1. L'évaporation au Rota vapeur

Dans cet appareil représente dans la **figure 15**. On a réalisé une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide.



Figure 15 : Montage de l'évaporateur rotatif de laboratoire

L'extrait sec (visqueux) est reprisé dans de l'éthanol absolu (10ml) puis conservé à -2 C° jusqu'à l'utilisation.

IV. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenue et la masse de la matière végétale sèche (**Belyagoubi, 2006**).

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = (m_0/m_1) \times 100$$

Où :

m_0 : Masse en grammes de l'extrait récupérée.

m_1 : Masse en grammes de la prise d'essai (les graines broyées).

V. Dosage

V.1. Dosage des composés phénoliques totaux

➤ Principe

La quantification des composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu ; mélange de l'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), est réduit en présence des

phénols totaux en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). La coloration bleu produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel. Cette coloration possède une absorption maximum aux environs de 750 à 760 nm (Singleton *et al.*, 1999).

➤ Mode opératoire

Le dosage des composés phénoliques est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Velioglu *et al.*, 1998); on mélange 1,5ml de réactif de Folin- Ciocalteu, dilué 10 fois avec 250µl de chaque extrait. Après 3min d'incubation à l'obscurité, on ajoute 1,5ml de carbonates de sodium (6 %). Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant une heure. L'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg EAG/g de MS) (figure16).

V.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexes flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium utilisé sous forme de chlorures d'aluminium (AlCl3). La liaison des atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes forme avec les chlorures d'aluminium des complexes jaunâtres (Ribereau-Gayan, 1968).

➤ Mode opératoire

La méthode de Djeridane *et al.* (2006) est adoptée pour doser les flavonoïdes dans les extraits de *Linum usitatissimum* L Pour cela, on ajoute 1,5ml de chlorure d'aluminium (2%) à 1,5ml de l'extrait. Après 30min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 430nm contre un blanc.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (mg EQ/g de MS) (Figure 18).

➤ Résultats et discussion

1.Rendement

L'extraction et la préparation de phase éthanolique (solvant polaire) à partir des grains de lin a permis d'obtenir un extrait de couleur **jeune orangé foncé** qui est conservé au réfrigérateur dans un flacon ombré jusqu'à l'utilisation.

Le résultat de rendement de l'extrait de *Linum usitatissimum* obtenu est mentionné dans le tableau suivant :

Extrait	Extrait de Soxhlet
Masse de l'extrait (g)	4.22 g
Rendement de l'extrait (%)	42.2 %

Tableau 14 : Rendement de l'extrait de Soxhlet

2. Teneur en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique. Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimés en mg EAG/g d'extrait. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 16**).

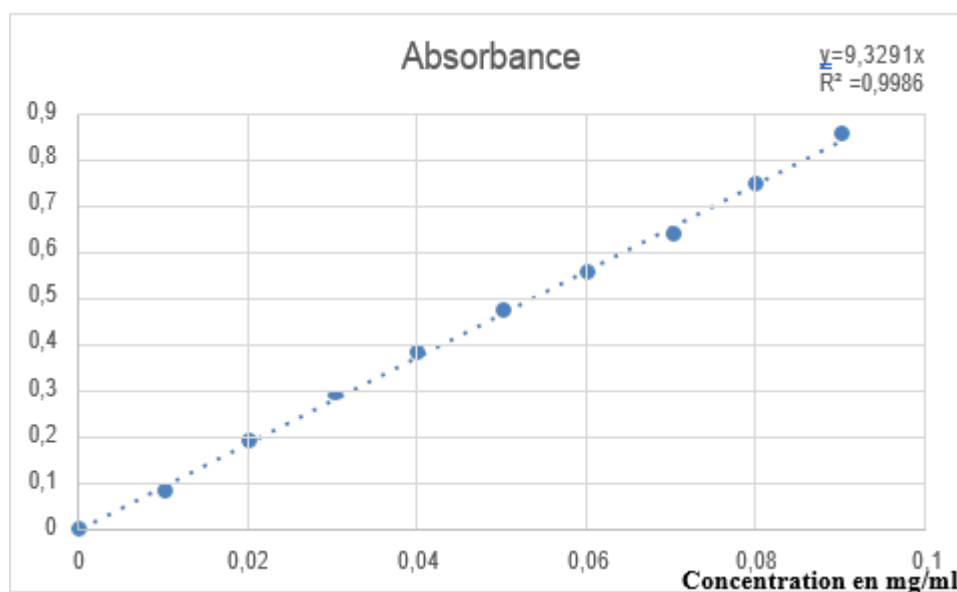


Figure 16 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique (mg EAG/g de matière)

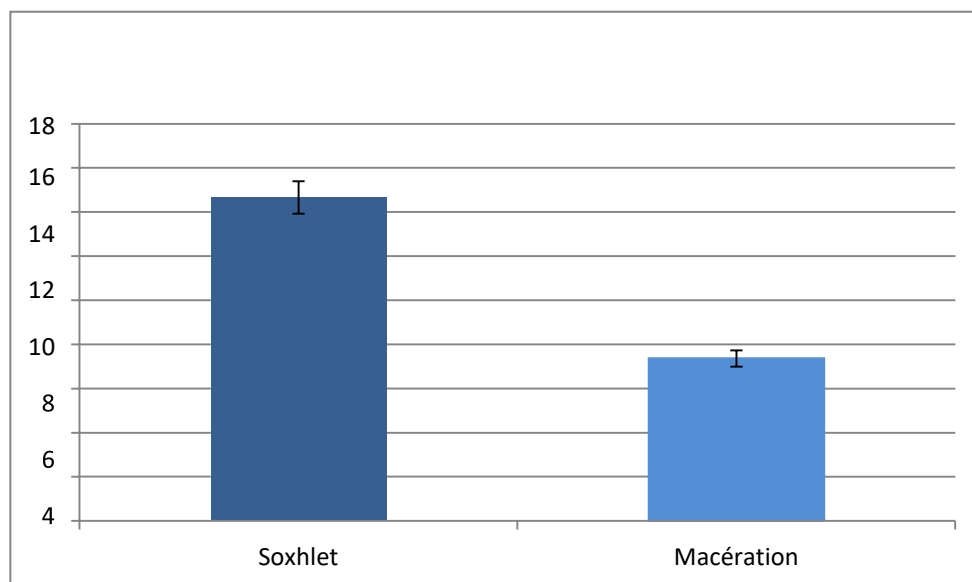
La teneur en polyphénols (Mg en équivalent d'AG/g d'extrait)

Figure 17 : Teneur en polyphénols totaux dans deux extraits (des grains de lin) Macération et Soxhlet en équivalent d'acide gallique

La **Figure 17** montre que l'extrait éthanolique obtenue avec Soxhlet possède la plus haute teneur en polyphénols (**14,67 ± 0,98 mg EAG/g EX**) par rapport à la macération (**7,37 ± 0,26 mg EAG/g EX**). Ces résultats sont plus élevés par rapport à celui trouvé par **El Abdali Youness en (2017)** (**7,24 mg EAG/g d'extrait**) et **Veliouglu et al, en 1998** (**5 mg EAG/g**) dans l'extrait hydrométhanolique 80% des graines de lin, alors que **3 mg EAG/g** de polyphénols sont trouvés par **Anwar et Przybylski (2012)** lorsque l'éthanol éthylique à 80% est utilisé. Ainsi que l'étude réalisée par **(Acket et al,2011)** sur le dosage des polyphénols dans lesgraines de lin a donné une teneur estimée à 9 mg EAG/ 10g de matière sèche et celle réalisée par **Ahlem** en 2017 a donné 10.2mg EAG/10g EX.

Maintenant, il est largement admis que les polyphénols attirent beaucoup d'intérêt public et scientifique en raison de leurs multiples activités biologiques, mais la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (origine géographique, conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Amaral et al., 2010**).

D'après **Kasote *et al.* (2011)**, la comparaison de nos données avec la littérature publiée est assez difficile car des variations ont été observées pour le contenu phénolique total qui pourrait être attribué aux différentes variétés de graines de lin, à l'extraction du solvant, à la température d'extraction et à la technique utilisée.

3. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans l'extrait éthanolique du lin a été réalisé selon la méthode utilisant l' AlCl_3 . Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de l'extrait (mg EQ/g EX).

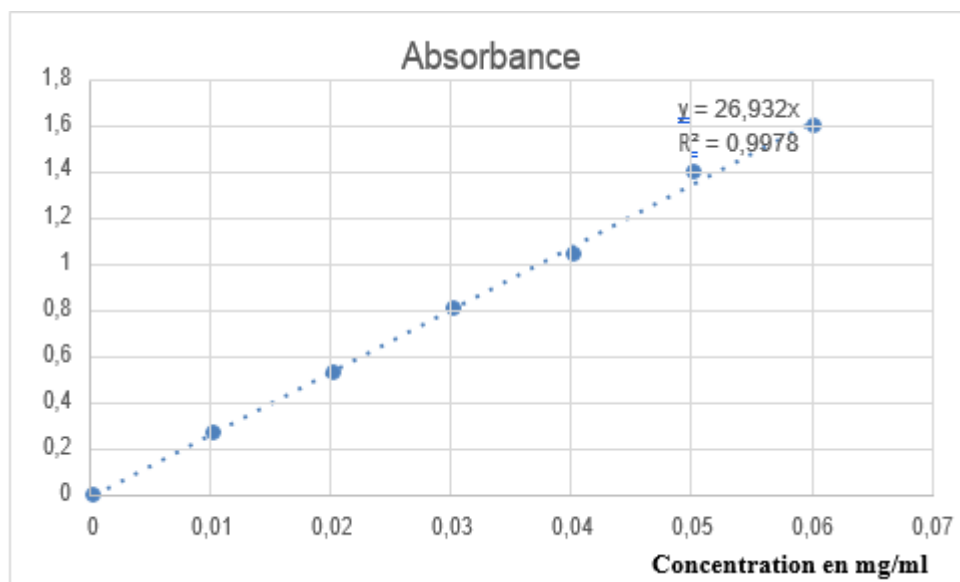


Figure 18 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (mg EQ/g de MS)

Teneur de flavonoïdes (Mg en équivalent de quercétine/g d'extrait).

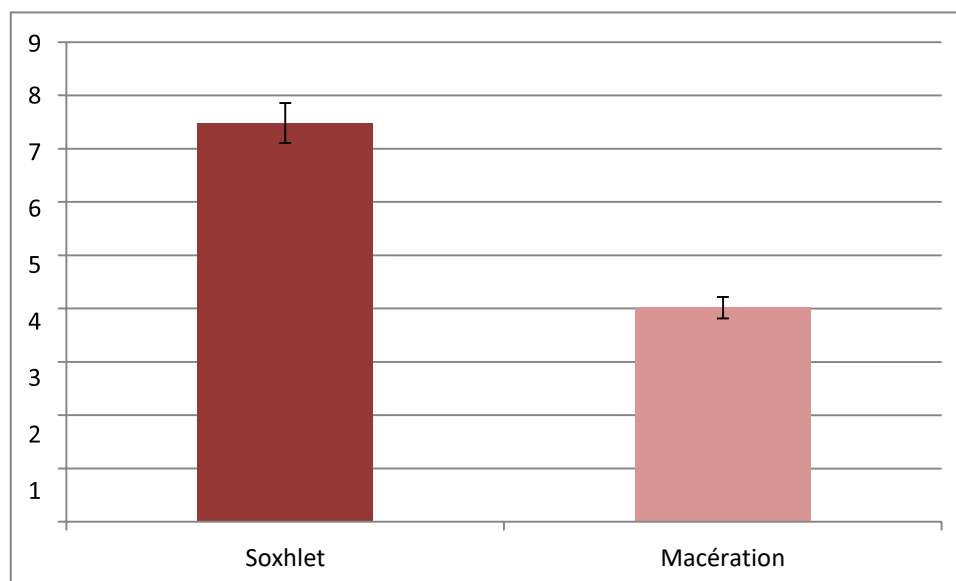


Figure 19 : Teneurs en flavonoïdes dans les deux extraits macération/ Soxhlet en équivalent de quercétine.

La **figure 19** montre que l'extrait éthanolique obtenue avec Soxhlet possède la plus haute teneur en flavonoïdes ($7,48 \pm 0,212$ mg EQ/g EX), par rapport à la macération ($4,017 \pm 0,224$ mg EAG/g EX). Notre résultat est largement supérieur à celui trouvé par **Oomah et al. (1996)** variant de $0,302$ à $0,835$ mg /g EX. **Anwar et Przybylski (2012)** qui ont trouvé dans l'extrait méthanolique du lin des teneurs entre $1,9$ et $4,8$ mg EC/g EX en utilisant la catéchine comme standard

Chapitre II

Activités antioxydantes

Protocole expérimentale A (Selon Bentoumi et Boukhalifa, 2019)

1. Piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH) a été décrite pour la première fois par **Blois (1958)**.

- **Principe**

A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui est changée par la couleur jaune au contact d'une substance donneuse de protons H^+ . Cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Moon & Shibamoto, 2009**).

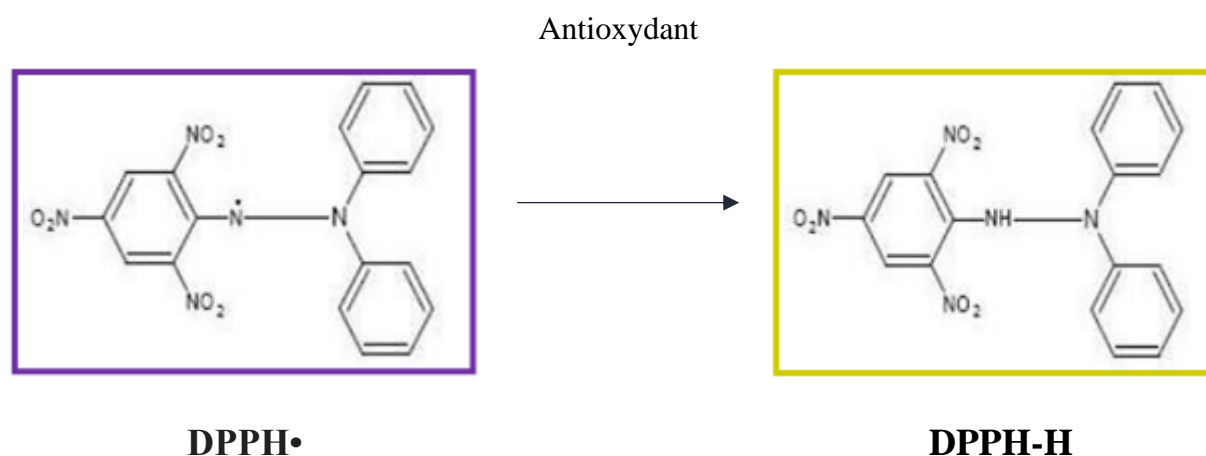


Figure 20 : Réduction de radical DPPH par un antioxydant (**Endo et al., 2006**).

- **Mode opératoire**

Après la préparation des dilutions ou des concentrations différentes de l'extrait dans le méthanol, on prend 100 μ l de chaque concentration qu'on met dans un tube à essais et on additionne 1000 μ l de la solution de DPPH contre un control négatif (contenant du méthanol au lieu de l'extrait) et on prépare aussi le blanc qui contient 100 μ l de l'extrait et 1000 μ l du méthanol. Les mélanges réactionnels sont immédiatement agités avant d'être placés pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante du laboratoire. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesuré à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre. Chaque test est répété trois fois

En Suivant la méthode décrite par **Ait Braham et Belhamel (2016)**. Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé suivant la formule :

$$\text{PI} = [(A0 - A1)/A0] \times 100$$

Avec :

PI: pourcentage d'inhibition.

A0 : absorbance du control (sans extrait).

A1 : absorbance de l'extrait après 30 min.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50). Une faible valeur d'IC50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

2.Pouvoir réducteur

Le fer est un élément essentiel pour le bon fonctionnement physiologique, mais l'excès de cet élément peut causer des dommages à la cellule. En raison de sa forte réactivité, le fer est connu pour son grand rôle pro-oxydant vis-à-vis de l'oxydation des lipides (**Gülçinet et al., 2012**).

- **Principe**

L'analyse du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure Fe^{3+} en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence d'antioxydants réducteurs (**Bijoy et al ; 2008**). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Gülçin et al., 2003**).

- **Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur a été estimé par la méthode de (**Yildirim et al., 2001**), un ml d'extrait est additionné dans un tube à essai avec 1 ml d'un tampon phosphate à (pH 6,6) et un ml de ferricyanure de potassium [K_3Fe]. On met le mélange au bain marie à 50°C/20 min, puis on lui ajoute 1 ml d'acide trichloracétique TCA et on centrifuge à 3000 g pendant 10 min. Un ml

Du surnageant est prélevé puis additionné à 1ml d'eau distillée et 0,3ml de chlorure ferrique (FeCl_3), enfin on mesure l'absorbance à 700 nm.

Les courbes d'étalonnages ont été obtenues, en utilisant comme étalon l'acide gallique et le quercétine (**Figure 16 et 18**). Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en les deux standards par g de la matière sèche.

➤ Résultats et discussion

1. Activité antioxydante d'extrait de Soxhlet de *Linum usitatissimum*

L'évaluation de l'activité antioxydante exprimé en équivalence d'acide ascorbique, et d'acide gallique ; la méthode consiste à comparer l'absorbance de nos échantillons à celle d'une droite d'étalonnage qui relie l'absorbance à la concentration en l'un des étalons. Les deux types de tests que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits sont : piégeage du radical DPPH et le test pouvoir réducteur.

2. Test de piégeage du DPPH

L'activité antioxydante pour les extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune (**figure 21**) mesurable à 517nm. La forme non radicalaire DPPH-H est formée, d'où l'évaluation de l'activité antioxydante en fonction de l'équivalence en acide ascorbique.

La capacité antioxydant des extraits a été déterminée à partir de l'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hobi et Eddouks, 2016**).

Nous avons déterminé pour l'extraits éthanoliques, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH ou IC50. À partir des équations des régressions linéaires des graphes (**figure 22 et 23**).

Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Pouvoir antioxydant (IC50) du standard et l'extrait testé

	IC50
Acide ascorbique	0.012mg/ml
Extrait éthanolique de Soxhlet	0.05g/ml

D'après les résultats présentés dans le **tableau 15**, l'IC50 obtenu pour l'acide ascorbique (0.012 mg/ml), est utilisé comme référence, est bien inférieur à notre extrait et donc, une activité antioxydante très élevée par rapport à notre extrait.

En comparaison de ces résultats avec celui de (**Meziti, 2009**) des grains de *Nigella sativa*, on retrouve que l'activité anti radicalaire des différents extraits des graines de *Nigella sativa* (l'extrait du chloroforme représente l'extrait le plus actif avec une IC50 de l'ordre 106,56 µg /ml. Parcontre, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par l'extrait aqueux (IC50 = 447,76 µg/ml) est supérieur à celle des graines de lin.

**Figure 21** : Résultats du test DPPH

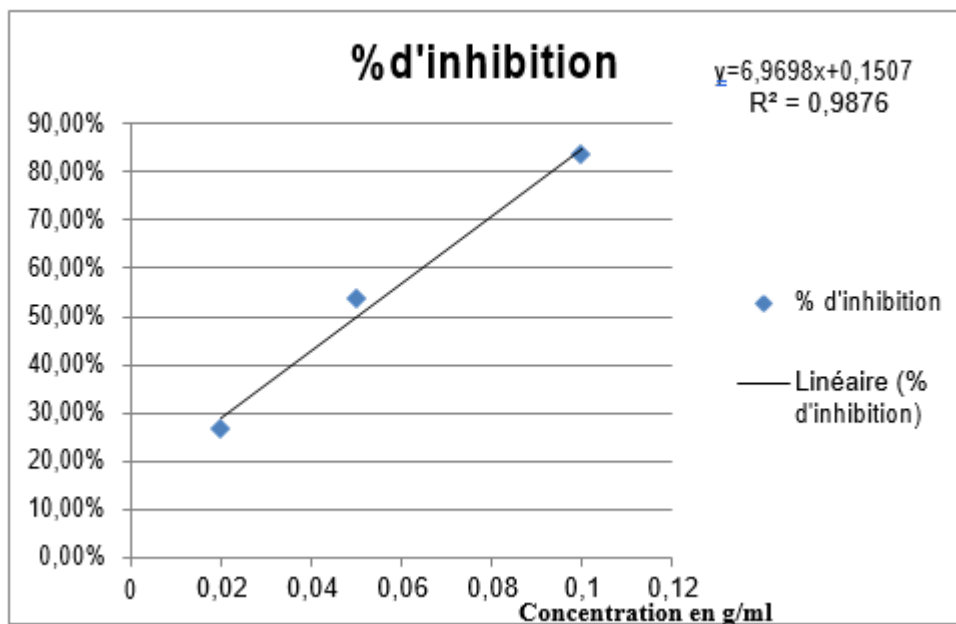


Figure 22 : Pouvoir de réduction du DPPH par l'extrait éthanolique de Soxhlet

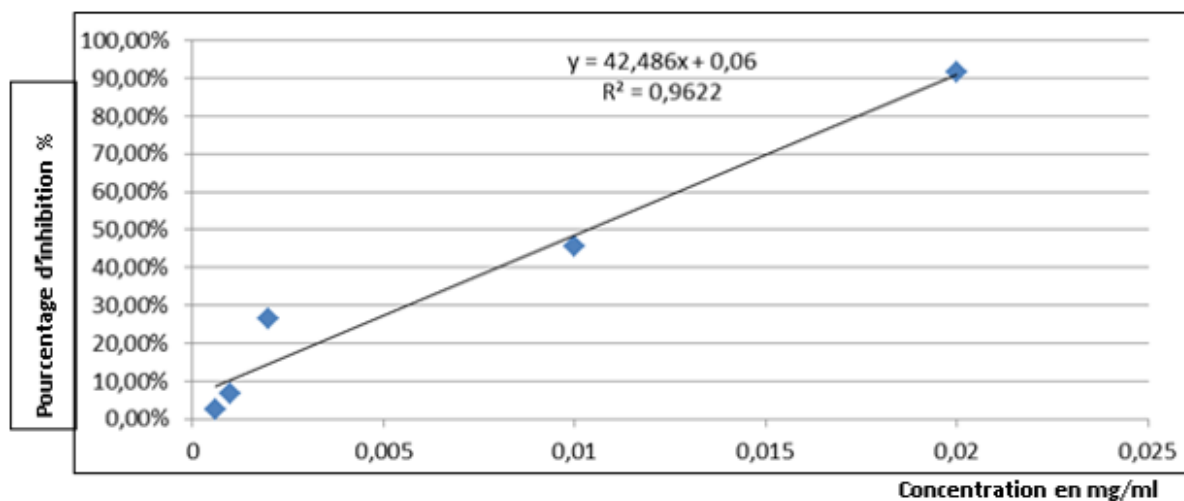


Figure 23 : Courbe d'activité antioxydante de l'acide ascorbique vis-à-vis de DPPH

3. Pouvoir réducteur du fer

Les métaux de transition comme le fer sont des catalyseurs importants pour la génération des radicaux et peuvent ainsi stimuler la peroxydation lipidique, donc tous les ions des métaux de transition ayant deux ou plusieurs états de valence sont de puissants pro oxydants (**Pitchaon, 2011**).

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer ferrique en fer ferreux. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (**Huang et al., 2005 ; Li et al., 2009**).



La couleur jaune de la solution de ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque extrait. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur (**Ozsoy et al., 2008**).

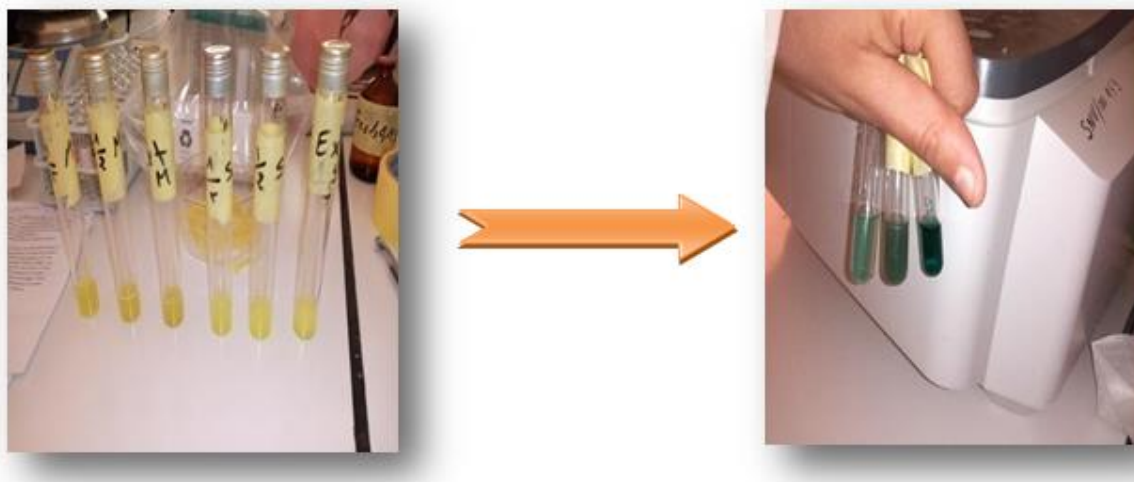


Figure 24 : Résultats de test du pouvoir réducteur de fer

Les résultats de ce test ont été fait par deux extraits de *Linum usitatissimum* (extrait de Soxhlet et extrait de macération) avec une concentration de (10mg/ml) pour chaque extrait, avec l'utilisation de deux standards l'acide gallique et la quercétine au même concentration (10mg/ml), les résultats est représentés dans la figure suivante :

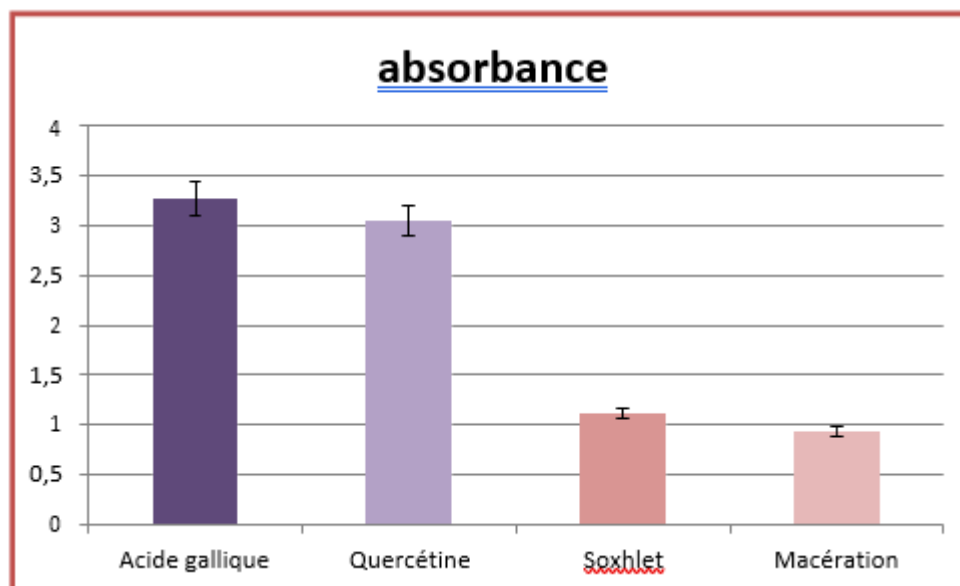


Figure 25 : L'activité réductrice de fer des extraits et les standards utilisés

Les résultats obtenus montrent que la capacité des extraits de réduire le Fer est largement inférieure à celle des standards. A la concentration de 10 mg/ml, le pouvoir réducteur est beaucoup plus important dans l'acide gallique avec (DO = 3,27), suivi par la quercétine (DO= 3,05).

Les résultats ainsi obtenus montrent clairement et toujours que l'extrait éthanolique de Soxhlet présente l'activité la plus élevée avec une forte absorbance $1,117 \pm 0,03$ supérieur à la valeur obtenue par macération qui présente une absorbance plus inférieure qui est de $0,931 \pm 0,05$, donc notre résultat montre toujours que le Soxhlet est la méthode la plus efficace.

Les variations de l'activité réductrice des radicaux libres sont en général, directement liées aux taux des composés phénoliques présents dans la plante récoltée (Yesilyurt *et al.*, 2008). L'activité antioxydante marquée des graines de lin qui peut être dû à la présence de polyphénols pouvant convertir les radicaux libres en produits plus stables et terminer la réaction en chaîne des radicaux libres (Amarowicz *et al.*, 2004). Anwar et Przybylski (2012) ont utilisé le test

FRAP pour la détermination de l'activité antioxydante des extraits de graines de lin. Ils ont constaté que le pouvoir réducteur dépend de la concentration d'extrait utilisé.

Protocole expérimentale B (Selon Alaa A. Gaafar et al,2013)

➤ **Matériels et méthodes**

1.Produits chimiques

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été acquis de Sigma–Aldrich (St. Louis, MO).

3-(2-Pyridyl) -5, 6-diphenyl-1, 2, 4-triazine-4', 4"-monosodique acide disulfonique sel (ferrozine) a été acquis de Fluka (Buchs, la Suisse). Tous les autres produits chimiques et solvants à été acquis de réactifs chimiques de Sinopharm Co. Ltd. (Shanghai, China).

2. Matériels végétale

Cinq cultivars de lin ont été acquis de (Récolte des champs, Département, Centre nationale de recherche, Egypte et ont été cultivé dans des conditions de terrain). Ces cinq cultivars de lin d'origines égyptiennes ont été cultivées à la station expérimentale agricole du NRC, quartier Nobaria. Delta de l'Ouest au cours d'une saison de croissance hivernale successive 2011. Les cultivars de lin étaient, à savoir, Amon, Blanka, Lituanie, Sakha1 et Teka ont été cultivées dans un système complet de blocs aléatoires en quatre réplifications. Les pratiques culturales normales de la culture du lin ont été suivies comme recommandé par Ministère de l'agriculture et de la mise en valeur des terres (MALR) information après la diffusion des graines jusqu'à ce que les symptômes de maturation et l'apparition de la pleine maturité, puis récolté. Seule l'irrigation a été suivie à l'aide d'un système d'irrigation par aspersion.

3. Préparation et extraction des lignanes de lin

➤ **Préparation de poudre des grains de lin dégraissé**

Les grains de lin ont été broyés dans un broyeur pour obtenir une bonne masse de poudre. La poudre a été dégraissé avec n-hexane (1 : 6 m/v) dans une température ambiante pendant 16h, ensuite séché pendant 18h et conservé dans un congélateur (-8C°) pour utiliser ultérieurement.

➤ **Procédé d'extraction des lignanes**

La poudre dégraissée des grains de lin des cultivars (200g) a été mélangé avec éthanol 70% (1.2L) à 30C° pendant 24 heures, l'extrait a été filtré par un papier whatman N=°1, après concentré à 40C° en utilisant un évaporateur rotatif à 90 rpm. Un sirop de couleur jaune clair a été obtenue. Le sirop a été hydrolysé par 1M NaOH à la température de la chambre pendant 16h, le sirop hydrolysé a été acidifié par l'ajout de 0.5M d'HCL vers pH6. En passe au refroidissement de la solution à 15 C°, après la centrifugation à 2000 rpm pendant 10min pour précipiter et retirer l'hydrosoluble polysaccharides et protéines.

Après le processus de séchage de l'extrait de lignane, la masse des lignanes a été déterminé et le ratio des lignanes acquises a été calculé par l'équation suivante :

Ratio des lignanes acquis = (masse des lignanes séchés/ masse de la poudre dégraissée des grains de lin) x100

4. Piégeage du radical DPPH

L'activité de piégeage du radical DPPH a été décrite par l'utilisation de 0.1mM de DPPH dans un alcool méthylique préparé préalable. 0.5ml de cette solution a été ajouté dans 1ml d'extraits de lignane à des différentes concentrations (5,10,20,35,50 µg/ml). Méthanol a été utilisé comme blanc, le mélange a été secoué vigoureusement et laissé au repos à la température de la chambre pendant 30min. Butyl hydroxyle toluène (BHT, Sigma) a été utilisé comme control positive, et le control négative contient tous les réactifs de réaction sauf les extraits.

L'absorbance a été mesuré à 512nm contre le blanc (méthanol pure). La baisse de l'absorbance du mélange indique une haute activité de piégeage des radicales libres, la capacité de l'activité de piégeage a été calculé par l'équation suivante :

$$\text{Effet de piégeages du DPPH (inhibition\%)} = [(A_C - A_S / A_C) \times 100]$$

Où :

A_C : l'absorbance du control réaction

A_S : L'absorbance avec la présence des extraits lignanes.

5. Activité chélateur de Fe²⁺

Les effets chélateurs des métaux au ions ferreux a été mesuré par l'utilisation de, 1ml d'extrait des lignanes, et /ou EDTA comme une solution positive (control positive), à des différents concentrations (5,10,20,35,50 µg/ml) a été mélangé avec 0.1ml de 2mM FeCl₂- 4H₂O et 0.2 ml de 5mM solution de ferrozine et 3.7ml de méthanol, tous mélangé dans un tube à essai et agités pendants 10min à la température de la chambre.

L'absorbance a été mesurée à 562nm, Mélange dépourvue d'extrait a été utilisé comme control, la baisse de l'absorbance du mélange indique une haute capacité chélatrice d'ions ferreux.

Le pourcentage de la capacité chélatrice d'ions ferreux a été calculé par l'équation suivante :

$$\text{Activité chélatrice de Fer (inhibition\%)} = \left[\frac{(A_C - A_S)}{A_C} \times 100 \right]$$

Où :

Ac : l'absorbance du control réaction.

As : l'absorbance avec la présence d'extrait des lignanes.

6. Analyse statistiques :

Toutes les données ont été analysées statistiquement par Costat.

➤ Résultats et discussion

1.Rendement d'extraits des lignanes

Selon le **tableau 16** de **Gaafar et al,2013**. Blanka et Sakha1 cultivars ont similaires résultats de 69.88mg/g MS. tandis que, Amon cultivar contient la haute valeur des lignanes (73.49mg / g MS) suivi par les cultivars Teka (72.29mg/g MS) et Lithuania (71.08 mg/g MS).

Cultivars	Amon	Blanka	Lithuania	Sakha1	Teka	LSD à 0.05
Ratio d'extraction mg/ml	73.49	69.88	71.08	69.88	72.29	N.S

Tableau 16 : Ratio d'extraction des lignanes des grains de lin de cinq cultivars

2. Test de piégeage du DPPH

Selon **Gaafar et al,2013**. L'activité de piégeage du radical libre DPPH des extraits de tous les cultivars et BHT augmente par l'augmentation de la concentration (**tableau 17**). Mais, l'extrait de lignane présentait une dépendance à la concentration dans toute le champ testée, BHT a été plus efficace surtout dans les faibles concentrations que les extraits.

Le pourcentage d'inhibition par BHT a les concentration 5 et 20 µg/ml a été 40.31 et 84.34 % en comparaison de 9.05% et 34.92 % pour les extraits de Lithuania (qui a la haute capacité d'inhibition contre le DPPH) dans les mêmes concentrations. Mais à des concentrations élevées (35µg/m,50µg/m), les extraits de tous les cultivars ont été aussi efficace que le BHT dans l'activité antiradicalaire contre DPPH.

L'inhibition a été 64.10 et 88.56 % a les concentrations de 35µg/m et 50µg/m de l'extraits de Lithuania (qui à la haute valeur) par rapport à 88.13 et 93.94 % de BHT aux mêmes concentrations.

Selon Gaafar et al,2013, ils ont conclu que cette haute activité antiradicalaire contre DPPH est due à la structure complexe des phénols comme les lignanes, principalement, Secoisolariciresinoldigluside (SDG), acide p-coumarique, acide férulique et certaines dérivées. Qui diffère dans leurs capacités de transfert d'électrons et de don d'hydrogène.

Cultivars	Inhibition %				
	5 µg/ml	10 µg/ml	20 µg/ml	35 µg/ml	50 µg/ml
Amon	5.57 ± 0.28	10.76 ± 0.28	21.90 ± 0.28	38.59 ± 0.46	55.17 ± 0.56
Blanka	6.91 ± 0.28	13.52 ± 0.46	27.58 ± 0.56	46.61 ± 0.55	64.95 ± 0.55
Lithuania	9.05 ± 0.76	20.18 ± 0.66	34.92 ± 0.64	64.10 ± 0.76	88.56 ± 0.28
Sakhal	6.36 ± 0.38	12.42 ± 0.38	24.59 ± 0.37	43.98 ± 0.56	63.18 ± 0.59
Teka	7.52 ± 0.55	14.43 ± 0.46	30.21 ± 0.74	52.17 ± 0.46	71.74 ± 0.80
BHT standard	40.31 ± 0.56	51.62 ± 0.69	84.34 ± 0.56	88.13 ± 1.73	93.94 ± 0.49
LSD à 0.05	0.65	0.93	0.99	3.09	1.11

Toutes les valeurs sont des moyennes de trois réplifications et sont différentes significativement à $p \geq 0.05 \pm$ déviation standard.

Tableau 17 : L'activité antioxydante des extraits de lignane de cinq cultivars des grains de lin contre le radical libre DPPH.

3. Activité chélateur de Fe²⁺

Selon le (tableau 18) de Gaafar et al,2013.

Les extraits de lignane des cultivars de Lithuania et Teka présentent le potentiel le plus élevée d'activité chélateur de Fe²⁺ dans toutes les concentrations testées des cultivars et moins que le standard de EDTA, et le cultivar de Sakhal représente la plus faible valeur de tous les cultivars.

Cultivars	Inhibition %				
	5 µg/ml	10 µg/ml	20 µg/ml	35 µg/ml	50 µg/ml
Amon	9.18 ^b ± 0.27	16.60 ^c ± 0.40	22.94 ^c ± 0.49	30.99 ^c ± 0.34	42.78 ^c ± 0.36
Blanka	6.75 ^a ± 0.49	14.04 ^b ± 0.59	20.11 ^b ± 0.40	28.57 ^b ± 0.43	41.52 ^b ± 0.34
Lithuania	15.52 ^d ± 0.54	23.62 ^e ± 0.59	31.85 ^e ± 0.49	38.73 ^e ± 0.49	50.74 ^e ± 0.27
Sakhal	5.94 ^a ± 0.71	12.01 ^a ± 0.49	18.62 ^a ± 0.49	23.75 ^a ± 0.49	36.03 ^a ± 0.49
Teka	13.81 ^c ± 0.28	21.05 ^d ± 0.49	29.55 ^d ± 0.62	33.47 ^d ± 0.36	48.36 ^d ± 0.27
EDTA standard	23.80 ^e ± 0.41	45.39 ^f ± 0.47	61.58 ^f ± 0.28	74.94 ^f ± 0.34	82.86 ^f ± 0.27
LSD at 0.05	0.90	0.99	0.89	0.81	0.76

Toutes les valeurs sont des moyennes de trois réplifications et sont différentes significativement à $p \geq 0.05 \pm$ déviation standard

Tableau 18 : Activité chélateur de Fe²⁺ par différentes concentrations des extraits des grains de lin de cinq cultivars.

Chapitre III

Activités antibactériennes

Protocole expérimentale A (selon Raja Narender 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 bactériennes

Les cultures suivantes ont été utilisées dans cette étude : *Salmonella paratyphi*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Protéus vulgaris*, *Lactobacillus sporogènes*, toutes les cultures sont pures et collecter de Département de Microbiologie, université de Kakatiya, Warangal, l'état de Telangana, Inde.

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 antibactérienne

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*.

Dans cette méthode, des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive ont été ensemencées des cultures microbiennes puis différents extraits de grains 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. Les composés diffusés à partir des disques dans le milieu de culture solide inhibent ainsi la croissance des microorganismes sensibles dans la zone autour du disque.

La Streptomycine a été utilisé pour un contrôle positif des bactéries.

6. Analyse 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 discussion

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 le **tableau 19** indiquent la Streptomycine a été efficace contre tous les microorganismes et a montré une zone d'inhibition de 55mm. Aussi l'extrait de graine avait une bonne activité antibactérienne contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphii*, *Lactobacillus*, *Protéus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*. En raison de la présence des Lignanes.

Les résultats montrent aussi que les activités antibactériennes les plus élevées ont été montrées par l'extrait aqueux et contre tous les microorganismes suivis 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 bactéries et à la présence des gènes de résistance. La présence des 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 19 : Activités antibactériennes des grains de lin (Narender et al,2016)

Microorganismes	Concentration (mg/ml)	Zone d'inhibition (cm)						
		Eau distillé	Ether	Chloroforme	Acétate d'éthyle	Butanol	Méthanol	Standard (Strep)
<i>S. aureus</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	1.8	1.8	1.9	2.3	2.6	1.8	5.5
	30	1.2	1.4	1.3	1.6	1.9	1.2	6.1
<i>P. vulgaris</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	1.7	1.6	1.9	1.8	1.7	2.1	3.5
	30	1.2	1.3	1.5	1.4	1.3	1.6	4.5
<i>K. pneumoniae</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	1.9	1.9	1.7	1.8	1.6	2.0	3.5
	30	0.7	0.5	0.7	1.0	1.1	1.6	5.5
<i>Lactobacillus</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	1.8	2.0	1.9	2.0	2.0	2.1	3.0
	30	1.6	1.5	1.4	1.5	1.0	1.0	4.7
<i>E. coli</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	2.0	2.5	1.9	1.5	1.8	2.3	4.0
	30	1.5	1.6	1.0	0.8	1.0	1.2	4.9
<i>S. paratyphi</i>	10	-	-	-	-	-	-	-
	20	3.0	1.8	1.8	1.9	1.7	2.0	3.0
	30	1.5	1.4	1.3	1.5	1.5	1.8	4.2

Protocole expérimentale B (selon Al Bayati et al,2007)

➤ Matériels et méthodes

1. Matériel végétale

Les graines de *Linum usitatissimum* ont été achetées au marché local et identifiées au collège 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 (éter 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 bactériennes

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. 10 µl 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. 10 µl de chaque solution antibiotique ont été remplis dans chaque puits et utilisés comme contrôle positif, et 10 µl 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 discussion

Selon ce travail d'**Al Bayati, (2007)**. Les résultats du **tableau 20** indiquent que l'extrait d'éther de pétrole a une activité antibactérienne plus efficace proche à seul de l'antibiotique (Ampicilline) sur toutes les souches testées, par contre les autres extraits n'étaient pas présents contre toutes les souches ce qui diminue leur efficacité antibactérienne due au manque de sensibilité contre ces extraits. La souche *K. pneumoniae* a montré la plus grande sensibilité contre l'extrait d'éther (23.5mm pour une concentration de 50mg/ml), *Staphylococcus aureus* a montré une sensibilité contre tous les extraits.

Microorganismes	Extraits	Zone d'inhibition (mm)					
		Concentration des extraits (mg/cm ³)					
		200	100	50	25	12.5	Amp (25mg/ml)
<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	-	-	-	

Tableau 20 : Activités antibactériennes d'extraits des grains de lin (El Bayati et al,2007)

- : Absence d'activité

Amp : Ampicilline

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

Protocole expérimentale C (selon Alaa A. Gaafar et al,2013)

➤ Matériels et méthodes

1.Matériels végétale

On utilise les extraits du 5 cultivars mentionnées dans le protocole expérimentale B (Gaafar el al,2013).

2. Cultures bactériennes

Le **tableau 21** représente les souches bactériennes utilisées :

Souches bactérienne	Reference
<i>Bacillus subtilis</i>	NRRL-B94
<i>Escherichia coli</i>	NRRL-B3703
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NRRL
<i>Staphylococcus aureus</i>	NRRL

Tableau 21 : Les souches bactériennes utilisées par Alaa A. Gaafar et al,2013

3. Milieu de culture

Pour la culture des microorganismes, le milieu utilisé est Broth, dans un bouillon mais dépourvue d'agar pour l'incubation et standardisation des MO. Incubé pendant 24h.

4. Activité antibactérienne

Les activités antimicrobiennes étaient réalisées selon la méthode conventionnelle de diffusion sur disque, en utilisant des cultures d'E. coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis et P.aeruginosa.

Dans cette méthode, on prend 0.5ml d'inoculum et verse ce volume dans 50ml d'agar liquide (50C°) et on applique une simple agitation ensuite, on verse l'agar dans une boîte de pétri (120mm) et laisser refroidir. Et les différents extraits des cultivars ont été appliqués sur les disques.

On incube à 30C° pendant 24 - 48h. Un haut pouvoir antibactérien est indiqué par le plus grand diamètre (mm) de la zone d'inhibition.

5. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Le milieu de culture (25ml) a été versé dans des boîtes de pétri (9cm de diamètre). et maintenu à 45C°, jusqu'à ce que les échantillons soient incorporés dans les boîtes.

Les échantillons ont été ajoutés à 50,100,200,300,400,500 et 600 μ g/ml.

Les différentes souches bactériennes ont été superposées à l'aide d'une automatique micropipette pour placer 30 μ l sur la surface solidifiée du milieu de culture, les boîtes ont été incubées à 30C° pendant 24/48h.

CMI est déterminé par la faible concentration d'extraits de lignane qui inhibe la croissance bactérienne.

➤ Résultats et discussions

Selon Alaa A. Gaafar et al,2013, les résultats du **tableau 22** montrent des différences très nettes entre les effets des différents extraits utilisés.

Une activité maximum a été observée par l'extrait éthanolique de Lithuania contre les bactéries gram négative, suivi par l'extrait de Teka qui a montré une activité antibactérienne contre les bactéries gram positive.

Le profil d'activité antibactérienne d'extrait de Lithuania contre les bactéries testées, a indiqué que *E. coli* et *P. aeruginosa* étaient les bactéries les plus sensibles. Même résultat a été obtenu par (Gezer et al,2005).

Échantillon	Diamètre de la zone d'inhibition(mm)			
	Bactérie			
	<i>E. Coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
Amon	9.11	5.75	6.85	8.15
Blanka	8.10	6.40	7.54	6.45
Lithuania	18.26	16.60	15.84	13.35
Sakhal	12.53	8.55	6.45	12.86
Teka	12.80	11.50	14.35	15.65

Tableau 22 : Activité antibactérienne des extraits de cinq cultivars de lin (Alaa A. Gaafar et al,2013)

Selon le **tableau 23** de **Alaa A. Gaafar et al,2013** de la concentration minimale inhibitrice contre les bactéries testées.

On a observé qu'il y a une variation d'activité antibactérienne des extraits testées, les valeurs de CMI variaient entre 220 à 488µg/ml de différentes souches et extraits du cultivars de lin.

Les extraits de lin ont une activité antibactérienne plus efficace contre les bactéries gram négative (*E. coli* et *P. aeruginosa*) par rapport à les bactéries gram positive (*B. subtilis* et *St. aureus*).

La concentration minimale inhibitrice des bactéries a gram négative varie entre 224 et 366µg/ml. Tandis que, le CMI des bactéries à gram positive varie entre 224 et 488µg/ml.

E. coli est la bactérie la plus sensible de l'extrait de lignane (CMI= 224µg/ml, cultivar de Lithuania).

D'après **Alaa A. Gaafar et al**, cette variation d'efficacité des différents extraits contre les différentes souches bactériennes et due à leur perméabilité cellulaire. La présence des lignanes peut lier à la fois Ca^{2+} et Mg^{2+} , réduisant ainsi la concentration de Ca^{2+} et Mg^{2+} des lipopolysaccharides du membrane externe provoquant une libération des lipopolysaccharides ce qui déstabilise la membrane cellulaire des bactéries.

Echantillon	MIC (µg/ml)			
	Bacterie			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
Amon	366	366	488	488
Blanka	348	348	464	464
Lithuania	224	224	224	224
Sakha1	232	232	232	232
Teka	240	240	240	240

Tableau 23 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) d'extraits de lignane de cinq cultivars de Lin.

Conclusion

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques différentes. Cette grande valeur des plantes médicinales fait l'objet des différentes études.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à la valorisation d'une plante médicinale très utilisées en médecine traditionnelle, il s'agit des gaines de *Linum usitatissimum*. Pour cela l'objectif assigné dans cette étude est axé sur l'exposition des expériences des chercheurs qui a fait le dosage des composés des grains et l'évaluation d'activité antioxydante ainsi que l'activité antibactérienne.

Selon le travail de **Boukhalfa et Bentoumi (2019)**, on peut dire que la méthode d'extraction de Soxhlet est plus efficace que de la macération.

Différentes analyses sont appliquées, dosage des polyphénols et flavonoïdes, aussi que l'évaluation des effets antioxydants des extraits de ces graines par deux moyens, l'activité antiradicalaire à l'égard du DPPH d'une part et le pouvoir réducteur d'autre part.

La meilleure activité antioxydante (activité antiradicalaire avec le radical DPPH et le pouvoir réducteur) est obtenue avec l'extrait éthanolique de Soxhlet (selon **Boukhalfa et Bentoumi, 2019**), tandis que, le travail de **Alaa A. Gaafar et al, (2013)** ont montrées que l'activité antiradicalaire est proche de laquelle de standard BHT à des concentrations élevées (88.56 % à 50 µg/ml par cultivar de Lithuania et 93.94% à 50µg/m par BHT), et une activité chélateur de Fe²⁺ moins que le standard (50.74% à 50µg/m par cultivar de Lithuania et 82.86% par standard EDTA au même concentration).

À propos de l'activité antibactérienne, **Raja Narender et al., (2016)** ont mentionnés que les activités antibactériennes les plus élevées ont été montrées par l'extrait aqueux alors que selon les 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.

Selon **Alaa A. Gaafar et al, 2013**, tous les cultivars ont été montré une activité antibactérienne contre toutes les souches utilisées avec une valeur exponentiel de concentration minimale

inhibitrice de 224µg/ml chez le cultivar Lithuania, les bactéries gram négative ont été plus sensibles par rapport aux bactéries gram positive.

En perspectives, La détermination des composés actifs au niveau des grains de *Linum usitatissimum* nécessite des études à l'échelle moléculaire notamment en ce qui concerne l'identification et la purification des différents composés phénoliques qui peuvent être responsables de divers effets ainsi que le mécanisme absolu par lequel ces composés réalisent leurs effets antioxydants et antibactériennes.

Références bibliographiques**A**

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

Acket S., Blondiaux M., Bouton S., Pageau K., Pau-Roblot C., Lequart M., Marcelo P., Fournet F. & Van Wuytswinkel O. (2011). Formation et structure du mucilage séminal chez le lin, Poster Réseaux Français des Parois (6-8 juin), Lille.

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.

Ait Braham S. & Belhamel C. (2016). Propriétés antioxydantes d'extraits d'une plante médicinale : *Urticadioica* L. Thèse de Master Sciences alimentaires, Université A. MIRA-Bejaia, 29p.

Alaa A. Gaafar, Zeinab A. Salama, Mohsen S. Askar, Dardiri M. El-Hariri, Bakry A. Bakry, (2013). In Vitro antioxidant and antimicrobial activities of Lignan flax seed extract (*Linum usitatissimum*, L.). *International journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 23(2), 291-297.

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.

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

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.

Amaral J. S., Valentão P., Andrade P. B., Martins R. C. & Seabra R. M. (2010). Phenolic composition of hazelnut leaves: Influence of cultivar, geographical origin and ripening stage. *Scientia Horticulturae* 126(2), 306-313.

Amirah D. M. & Reddy P. (2012). Comparison of extraction techniques on extraction of Gallic acid from stem bark of *Jatropha curcas*. *Applied Sciences* 12(11).

Anwar F. & Przybylski R. (2012). Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 11(3), 293-302.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.

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.

Barry, T.N., Manley, T.R. and Duncan, S.J. (1986). The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. *British Journal of Nutrition*.

Belbache, H. (2003). Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora* Desf, mémoire de magister en chimie organique, université Mentouri Constantine.

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.

Belyagoubi Larbi. (2006). Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration de la céréale. Thèse de magister. Université d'Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Bentoumi I et Boukhalfa S, (2019). Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante de *Linum usitatissimum* L. Mémoire de master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- Bordj Bou Arreridj.

Benaissa, O. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine.

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.

Blois M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of stable free radical, 1199-1200.

Blumenthal MA., Goldbey J and Brinckmann EDS. (2000). Herbal Medicine : Expanded Commission E Monographs. American Botanical Council, Austin, TX, USA. p85.

Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*.

Boschin G., Arnoldi A. (2011). Legumes are valuable sources of tocopherols. *Food Chemistry*. Vol.127. pp : 1199-1203.

Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister. Batna.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

C

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.

Cowan MM., (1999), Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.*

D

Dahmani S; Dahmani F, (2018). Evaluation de l'activité biologique des différents extraits, et des huiles essentielles de la plante : *Salvia officinalis* L. Mémoire de Master, Université Mohamed Boudiaf - M'sila.

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.

Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. (2003). Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society.

Diallo, A. (2005) : Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mal.

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.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal P. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry. 97, 654–660.

E

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

El Abdali Y. (2017). Caractérisation phytochimique et activité antioxydante et immunostimulante de Lavanduladentataet Linum usitatissimum. Mémoire de fin d'étude. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Maroc.

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.

El Mouaden C., Laglaoui A., Ennane 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.

Endo T., Fukunaga T., Yoshimura T. &Esumi K. (2006). Scavenging DPPH radicals catalysed by binary noble metal-denderimernanocomposites. Journal colloid interf.Science 302, 516-21.

F

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.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.

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.

Fleuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

G

Gezer K, Duru ME, Kivrak I, Turkoglu A, Mercan N, Turkoglu H, Gulcan S, Free-radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey, Afr J Biotechno, 5, 2005, 1924–1928.

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.

Gulcin I., Kufrevioglu O. I., Oktay M. &Buyukokuroglu ME. (2012). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urticadioica L.*). *J Ethnopharmacol*90 (2-3), 205-215.

Gulçin I., Oktay M., Kireççi E. &Kùfrevioglù O. I. (2003). Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinellaanissum L*) seed extracts. *Food chemistry* 83(3),371-382.

H

Hagerman, A.E. (2002). Tannin Chemistry (www.users.muohio.edu/hagermae). Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany)

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.

Hoffman, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg.

Huang D., Chen H. J., Lin C.D. & Lin Y.H. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatica Forsk*) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin* 46, 99-106.

Huang D, Ou B, Prior R.L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 1841-1856.

I

Iserin P. (2001). Encyclopedie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. 2ème édition Ed Larousse/ VUEF, p13- 16, p250, p291- 296.

J

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

K

Kasote D. M., Hegde M. V. &Deshmukh K. K. (2011). Antioxidant activity of phenolic components from n- butanol fraction (PC-BF) of defatted flaxseed meal. *Am J Food Tech* 6(7), 604- 612.

Knaggs, A.R. (2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*.

Kohen R. and Nyska A (2002). Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* (2002).

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle.

L

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.

Leinmüller, E., Steingass, H. and Menke, K.H. (1991). Tannins in Ruminant feed stuff.

M

Macheix et al., (2006), Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28.

Malecky, M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech.

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.

Martin, S., Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angiologie.

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

Meziti A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de Nigellasativa L Étude in vitro et in vivo. Thèse de magister. Université d' El-haj Lakhdar Batna.

Miller N.J, Sampson J, Candeias L.P, Bramley P.M, Rice-Evans C.A. 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. FEBS letters, 384(3), 240-242

Moon J. K. &Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. J. Agric. Food Chem.,57(5), 1655-1666.

Mueller-Harvey I. et Mc Allan, A.B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties. Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.

Moon J. K. &Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. J. Agric. Food Chem.,57(5), 1655-1666.

N

Naczk, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A.

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.

O

Oomah B. D., Mazza G. & Kenaschuk E. O. (1996). Flavonoid content of the flaxseed, influence of cultivar and environment. *Euphytica* 90, 163-167.

Ozsoy N., Can A., Yanardag R. & Akev N. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry* 110, 571-583.

P

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.

Pitchaon M. (2011). Antioxidant capacity of extracts and fractions from mango (*Mangifera indica* Linn.) seed kernels. *International Food Research Journal* 18, 520-525.

R

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

Rakotonanahary, M. (2012). Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier.

Ribereau G. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed Dunod, 1-27.

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.

S

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris.

Shimizu, H. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,35 (9).

Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-ciocalteu reagent, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp: 152–178.

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

T

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.

U

USDA (United States Department of Agriculture), Natural Resources Conservation Service. Classification for Kingdom Plantae Down to Species *linum usitatissimum* L.

V

Velioglu S., Mazza G., Gao L. & Oomah D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and Food Chemistry* 46, 4113-4117.

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.

Y

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.

Z

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 à 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., SzopaJ. (2014). Bactericidal activities of GM flaxseed extract on pathogenic bacteria clinical strains. BMC Biotechnol. Vol.40. p70.

