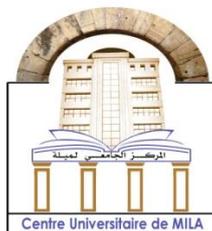


N° Réf : .....



## Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

# Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Extraction, caractérisation physico-chimique et l'étude de  
l'effet antibactérienne d'extrait d'une plante médicinale  
*Linum usitatissimum* L. (zeriaat ealketane) utilisée au  
traitement des troubles digestifs dans la wilaya de mila**

Présenté par :

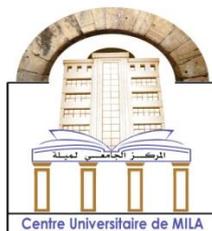
- KHERBOUCHE Nada
- BELLOUR Madjeda

Devant le jury composé de :

Présidente :	M <sup>me</sup> TALHI Fahima	(MCB)	C.U.MILA
Examinatrice :	M <sup>me</sup> HIMOUR Sara	(MCB)	C.U.MILA
Promoteur :	Mr SAHLI Mohamed	(MCB)	C.U.MILA

Année Universitaire : 2021/2022

N° Réf : .....



## Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

# Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Extraction, caractérisation physico-chimique et l'étude de  
l'effet antibactérienne d'extrait d'une plante médicinale  
*Linum usitatissimum* L. (zeriaat ealketane) utilisée au  
traitement des troubles digestifs dans la wilaya de mila**

Présenté par :

- KHERBOUCHE Nada
- BELLOUR Madjeda

Devant le jury composé de :

Présidente :	M <sup>me</sup> TALHI Fahima	(MCB)	C.U.MILA
Examinatrice :	M <sup>me</sup> HIMOUR Sara	(MCB)	C.U.MILA
Promoteur :	Mr SAHLI Mohamed	(MCB)	C.U.MILA

Année Universitaire : 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي  
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ  
وَالَّذِي يُضَوِّتُ النَّجْمَ  
وَالَّذِي يُرْسِلُ الرِّيَّاحَ  
وَالَّذِي يُنَزِّلُ الْمَطَرَ  
وَالَّذِي يُحْيِي الْمَوْتَى  
وَالَّذِي يُخْرِجُ الْحَبَّ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّخْلَ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ التَّمْرَ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ الزَّيْتُونَ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ النَّخْلَ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ التَّمْرَ  
وَالَّذِي يُخْرِجُ الزَّيْتُونَ

## DEDICACE

*Avant toute chose, je remercie Alla, le tout puissant, Pour m'avoir donnée la force et la patience pour compléter ce travail*

*A Ma tendre Mère GHANIA: Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*A Mon très cher Père OMAR : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*A mes chère frères et sœurs : ISMAHANE, ISMAIL et HOUSSINE pour leurs amours et leur support continu, je vous dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies. Je suis très heureuse et très fière de votre présence à mes côtés.*

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



## DEDICACE

*Avant tout je remercie mon DIEU tout Puissant, qui m'a donné, la volonté, le courage et La patience durant mes années d'études.*

*Je dédie mon modeste travail:*

*A toutes qui ont partagé avec moi cet instant de bonheur et de joie;*

*A mon père Amar qui a veillé tout au long de mon enfance à m'encourager à me donner aide et protection.*

*A ma mère Nassiha que dieu protège.*

*A mes très chères sœurs Narimane, Hadjer et Amal pour leurs disponibilités, leur soutien moral et leurs patiences.*

*A mes frères : Khaled, Azzedine, Abdeallah et Rachad que Dieu les garde.*

*à ma collègue kherbouche Nada.*

*A tout le personnel administratif et technique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.*



## REMERCIEMENT

*Nous remercions tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant qui nous a donné le pouvoir, le courage et la patience pour élaborer ce mémoire.*

*Premièrement, nous remercierons "SAHLI MOHAMED" Pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour son soutien, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il nous a accordée en réalisant de ce travail, Nous la remercions profondément pour son compréhension, son patience et son politesse incomparable.*

*Comme nous ne pouvons pas oublier à remercier les membres jury " TALHI FAHIMA "et " HIMOUR SARA " pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions tous les enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Nous adressons aussi un grand merci à Dr. BOUTELLAA SABER et Drs BOUKERIA SABAH pour leur aide et ses conseils.*

*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*

Résumé

Les gens sont exposés à de nombreuses maladies, y compris les maladies digestives, et la phytothérapie est l'une des méthodes répandues en Afrique, notamment en Algérie. L'objectif de la présente étude est d'évaluer les constituants phytochimiques et les activités antibactériennes des extraits par soxhlet et des huiles fixes et des polyphénols obtenues à partir des graines de l'espèce *Linum usitatissimum* L. (le lin) dans la région de la wilaya de Mila. Les analyses phytochimiques de *Linum usitatissimum* L. révèlent la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques. T-elles que les flavonoïdes, les polyphénols, les alcaloïdes, les tanins, les glucosides, les cardénolides, les anthocyanes, les stérols, les terpènes et quelques traces des coumarines. Plusieurs extraits ont été préparés à partir des graines de la plante *Linum usitatissimum* L. et donne des rendements d'extraction des composés phénoliques par méthanol et par de l'eau-méthanol a donné un rendement 2.5 % et 15.5 % respectivement. Ensuite, une extraction des huiles fixes par pressage et par éthanol a donné un rendement 27.34 % et 10.36 % respectivement. Enfin, une extraction d'huile de graine de lin par la méthode de Soxhlet a donné un rendement en huile de l'ordre de 60.8%. Les tests de l'activité antibactériennes par la méthode de diffusion sur disque appliquées pour les quatre souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* ; Les résultats ont montré un effet inhibiteur important de l'extrait soxhlet contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de 13 mm et 11 mm respectivement, mais pour les autres extraits (méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P). Sont présentent une certaine sensibilité vis-à-vis de cette souche bactérienne testé avec des zones d'inhibition allant de (10 à 6.5) mm. Alors que les souches bactériennes *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont sensibles à l'extrait (soxhlet) avec une zone d'inhibition de 9 mm et 8 mm respectivement, mais sans résister à l'extrait (méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P).

A la lumière de ces travaux, on peut souligner que la médecine traditionnelle est répandue à grande échelle, elle doit donc être valorisée pour bénéficier de ses principes actifs.

Mots clés : *Linum usitatissimum* L., activité antibactérienne, Caractères physico-chimique, Screening phytochimique.

## ملخص

يتعرض الإنسان للعديد من الأمراض ومنها أمراض الجهاز الهضمي، ويعتبر طب الأعشاب من الوسائل المنتشرة في إفريقيا وخاصة في الجزائر. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم المكونات الكيميائية النباتية والأنشطة المضادة للبكتيريا للمستخلصات الزيتية عن طريق جهاز Soxhlet والزيوت الثابتة والبولىفينول المتحصل عليها من بذور زريعة الكتان والماخودة من منطقة ميله. كشفت التحاليل الكيميائية النباتية لـ ( زريعة الكتان ). عن وجود المكونات النشطة حيويًا المسؤولة عن الفوائد العلاجية، حيث شملت مركبات الفلافونويد، والبولىفينول، والقلويدات، والعفص، والجلوكوزيدات، والكاردينوليد، والأنتوسيانين، والستيرول، والترينين، وبعض آثار الكومارين.

تم تحضير العديد من المستخلصات من بذور نبات الكتان. وأعطت حصيلة استخلاص المركبات الفينولية بواسطة الميثانول والماء بنسبة 2.5% و 15.5% على التوالي. بعد ذلك، أعطى استخلاص الزيوت الثابتة بالضغط وبواسطة الإيثانول عائد 27.34% و 10.36% على التوالي. أخيرًا، أعطى استخلاص زيت بذور الكتان بالطريقة الكيميائية بجهاز Soxhlet مردود زيت حوالي 60.8%.

اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا عن طريق طريقة انتشار القرص المطبقة على السلالات البكتيرية الأربعة

*Bacillus cereus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*

أظهرت النتائج وجود تأثير مثبت معنوي لمستخلص Soxhlet ضد *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* مع منطقة تثبيط 13 مم و 11 مم على التوالي، ولكن بالنسبة للمستخلصات الأخرى (الميثانولية، المائية، HFE، HFP) حساسة نوعًا ما لهذه السلالة البكتيرية المختبرة بمناطق تثبيط تتراوح من (6.5 إلى 10) مم.

بينما السلالات البكتيرية *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* حساسة للمستخلص عن طريق Soxhlet بمنطقة تثبيط 9 مم و 8 مم على التوالي، ولكن بدون مقاومة للمستخلص (ميثانولي، مائي، HFE، HFP).

على ضوء هذا العمل، يمكن التأكيد على أن الطب التقليدي ينتشر على نطاق واسع، لذلك يجب تثمينه للاستفادة من عناصره الفعالة.

كلمات البحث: زريعة الكتان، النشاط المضاد للبكتيريا، الصفات الفيزيائية والكيميائية، الفحص الكيميائي النباتي.

### Abstract

People are exposed to many diseases, including digestive diseases, and herbal medicine is one of the popular methods in Africa, especially in Algeria. The objective of the present study is to evaluate the phytochemical constituents and the antibacterial activities of extracts by soxhlet and fixed oils and polyphenols obtained from the seeds of the species *Linum usitatissimum* L. (linen) in the region of the wilaya of Mila. Phytochemical analyzes of *Linum usitatissimum* L. reveal the presence of the bioactive constituents responsible for the therapeutic virtues. Does it include flavonoids, polyphenols, alkaloids, tannins, glucosides, cardenolides, anthocyanins, sterols, terpenes and some traces of coumarins. Several extracts have been prepared from the seeds of the *Linum usitatissimum* L. plant and give yields of extraction of phenolic compounds by methanol and by aqueous gave a yield of 2.5% and 15.5% respectively. Then, an extraction of the fixed oils by pressing and by ethanol gave a yield of 27.34% and 10.36% respectively. Finally, an extraction of linseed oil by the Soxhlet chemical method gave an oil yield of around 60.8%. Antibacterial activity tests by the disk diffusion method applied for the four bacterial strains *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*; The results showed a significant inhibitory effect of the soxhlet extract against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* with a zone of inhibition of 13 mm and 11 mm respectively, but for the other extracts (methanolic, aqueous, H.F.E, H.F.P). are somewhat sensitive to this bacterial strain tested with zones of inhibition ranging from (10 to 6.5) mm. While the bacterial strains *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* are sensitive to the extract (soxhlet) with a zone of inhibition of 9 mm and 8 mm respectively, but without resistant to the extract (methanolic, aqueous, H.F.E, H.F.P).

In the light of this work, we can emphasize that traditional medicine is widespread on a large scale; it must therefore be valued to benefit from its active principles.

Key words: *Linum usitatissimum* L., antibacterial activity, physico-chemical characters, phytochemical screening.

Table des matières

*DEDICACE*

REMERCIEMENT

Résumé

List des tableaux

List des figures

Liste des Abréviations

Introduction

Synthèse Bibliographique

Chapitre I. Etude sur la plante (*Linum usitatissimum* L.)

I.1. Historique.....	5
I.2. production de graine de lin .....	6
I.3. Description botanique .....	8
I.4. Classification botanique du lin.....	9
I.5. Noms vernaculaires.....	9
I.6. plan morphologique .....	10
I.6.1. Morphologie et botanique de plante .....	10
I.6.2. Morphologie et microstructure de graine .....	11
I.7. Culture du lin .....	12
I.8. Composition chimique de grain de lin.....	13
I.8.1. huile de lin .....	15
I.8.2. Protéines .....	16
I.8.3. Composés glucidiques .....	16
I.8.4. Composés antioxydants de lin .....	16
I.9. Propriétés et utilisation de lin .....	16
I.9.1. Graine de lin .....	16

I.9.2. huile de lin .....	17
I.10. Effets thérapeutiques du lin .....	19
I.10.1. Effets anti inflammatoires, antioxydants et anticancéreux.....	20
I.10.2. Effets sur le système respiratoire et immunitaire.....	20
I.10.3. Effet laxatif et émollient.....	20
I.11. Toxicité et effet indésirable de la graine de lin.....	21
a/ Interactions avec des plantes médicinales ou des compléments .....	21
b/ Interactions avec des médicaments .....	21

## Chapitre II . Les troubles digestifs

II.1. Définition Des troubles digestifs .....	23
II.2. Causes des troubles digestifs .....	23
II.3. Symptômes des troubles digestifs.....	23
II.4.Traitement des troubles digestifs.....	24
II.4.1.par méthode traditionnelle.....	24
II.4.2.par méthode moderne .....	24

## Chapitre III. Métabolites Secondaires et l'Activité Antibactérienne

III.1. métabolites secondaires.....	27
III.1.1. Généralités .....	27
III.1.2. Classification des métabolites secondaires .....	27
III.1.2.1. composés phénoliques .....	28
III.2. Activité anti bactérienne.....	38
III.2.1. Définition de l'activité antibactérienne.....	38
III.2.2. principales substances antibactériennes .....	39
III.2.3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	39

## Partie 02 Etude expérimentale

### Chapitre I. Matériels et Méthodes

I.1. Matériels .....	55
----------------------	----

I.1.1. Matériel végétale .....	55
I.2. Méthodes.....	55
I.2.1. Préparation de matériel végétal .....	55
I.2.2. Screening phytochimique .....	57
I.2.3. Rendement et Composition chimique de l'extrait de lin.....	60
I.2.4. Activités antibactériennes.....	63
Chapitre II Résultats et discussions	
II.1. Screening phytochimique .....	75
II.1.1. Résultats .....	75
II.1.2. Discussion .....	82
II.2. Rendement et Composition chimique de l'extrait de lin.....	82
II.2.1. Résultats .....	82
II.2.1.1. Rendement de l'extrait de Soxhlet .....	82
II.2.2. Discussion .....	85
II.3. Activités antibactériennes .....	86
II.3.1. Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques.....	87
II.3.3. Discussion .....	98
Conclusion et perspectives.....	100
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 01: Production de graine de lin dans le monde .....	6
Tableau 02: classification du lin.....	9
Tableau 03: Bienfaits potentiels du lin pour la santé .....	14
Tableau 04: composition en acides gras de l'huile de lin.....	15
Tableau 05: Principaux acides hydroxybenzoïques .....	29
Tableau 06: Principaux acides hydroxycinnamiques .....	30
Tableau 07: Classification des alcaloïdes.....	36
Tableau 08: Classification de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
Tableau 09: Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	41
Tableau 10: Classification d' <i>Escherichia Coli</i> .....	44
Tableau 11: Classification de <i>Bacillus cereus</i> .....	47
Tableau 12: Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	50
Tableau 13: Espèces de <i>Pseudomonas sp</i> appartenant aux groupes fluorescent ou non fluorescent .....	51
Tableau 14: Caractéristiques des souches bactériennes utilisées .....	64
Tableau 15: Résultats de screening phytochimique .....	75
Tableau 16: Caractéristique organoleptique de l'huile fixe .....	84
Tableau 17: Rendement des l'extraits.....	84
Tableau 18: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) en présence des deux antibiotiques ..	87
Tableau 19: l'activité antibactérienne de l'extrait de lin.....	89

Liste des figures

Figure 01: Fresques égyptiennes .....	5
Figure 02:Diversité génétique chez le lin cultivé," <i>Linum usitatissimum L</i> " .....	8
Figure 03 : Planche botanique du lin cultivé ( <i>Linum usitatissimum</i> ).....	10
Figure 04 : Gamme de couleurs des graines de lin.....	11
Figure 05 : Culture du lin en champs et évolution de la plante de lin en serre, Du bouton de fleur à la capsule mature.....	13
Figure 06: Diagramme de l'utilisation du lin .....	18
Figure 07:Structure de polyphénole .....	28
Figure 08:Structure chimique de coumarine .....	31
Figure 09 : Squelette de base des flavonoïdes.....	32
Figure 10 : Classification des flavonoides .....	32
Figure 11:Types de tanins et leurs structures de base .....	34
Figure 12 : structure des alcaloïdes .....	35
Figure 13: structure de base des terpènes .....	37
Figure 14:l'espèce de germe <i>staphylocoques aureus</i> .....	40
Figure 15:l'espèce de germe <i>Escherichia coli</i> .....	43
Figure 16: l'espèce de germe <i>Bacillus cereus</i> .....	46
Figure 17: l'espèce de germe <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	49
Figure 18:les graines de lin .....	55
Figure 19: Préparation de la poudre .....	56
Figure 20:protocole de l'extraction par la poudre .....	57
Figure 21:Montage de l'extracteur soxhlet .....	61

Figure 22: montage de l'évaporateur rotatif de laboratoire.....	62
Figure 23:Souches bactériennes testées .....	65
Figure 24:Préparation du milieu MH .....	66
Figure 25 : Préparation du milieu BN .....	67
Figure 26:Préparation de l'eau physiologique .....	67
Figure 27:des disques de papier d'wattman 03 coupés et stérile .....	68
Figure 28:le repiquage des bactéries sur la gélose nutritive.....	69
Figure 29:La technique de dilution des extraits .....	70
Figure 30:Le coulage des boites de Pétri .....	70
Figure 31:L'activation des souches et la préparation de l'inoculum.....	71
Figure 32: L'ensemencement les boites par écouvillonnage.....	72
Figure 33: Le dépôt d'extraite sur les disques.....	73
Figure 34:Résultat du test des alcaloïdes .....	76
Figure 35:Résultat du test des Flavonoïdes .....	76
Figure 36:Résultat du test des Cardénolides .....	77
Figure 37:Résultat du test des Stérols et terpènes .....	77
Figure 38:Résultat du test des anthraquinones libres .....	78
Figure 39:Résultat du test des glucosides .....	78
Figure 40:Résultat du test des Coumarines .....	79
Figure 41:Résultat du test des tanins.....	79
Figure 42:Résultat du test des Saponines .....	80
Figure 43:Résultat du test des anthocyanes.....	80
Figure 44:Résultat du test des Leuco-anthocyanes .....	81

Figure 45:Résultat du test des Polyphénols.....	81
Figure 46: Extrait de Soxhlet après l'évaporation .....	82
Figure 47: Extrait aqueux et extrait méthanolique après l'évaporation .....	83
Figure 48: Extrait d'huile fixée par éthanol et par pressage.....	83
Figure 49 : Rendement des extraits .....	85
Figure 50: Effet des antibiotiques sur les bactéries étudiées.....	88
Figure 51: Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>Linum usitatissimum</i> vis-à-vis de <i>E.coli</i> .....	90
Figure 52:Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis <i>E.coli</i> .....	91
Figure 53: Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>Linum usitatissimum</i> vis-à-vis de <i>S.aureus</i> ... .....	92
Figure 54:Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis <i>S.aureus</i> .....	93
Figure 55: Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>Linum usitatissimum</i> vis-à-vis de <i>P.</i> <i>aeruginosa</i> .....	94
Figure 56:Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> .....	95
Figure 57: Le diamètre des zones d'inhibition d' <i>Linum usitatissimum</i> vis-à-vis de <i>B.cereus</i> ..	96
Figure 58 : Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis <i>B.cereus</i> .....	97

*Liste des Abréviations*

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGMI : Acide gras mono insaturé

AGPI : Acide gras poly-insaturé

AGS : Acide gras saturé

ALA : Acide Alpha Linoléique

CHCl<sub>3</sub> : Chloroforme

CH<sub>3</sub>COOH: Acide acétique

CN<sub>10</sub> : Gentamicine

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH : Alcool éthylique

DHA : Acide docosahexaénoïque

DMSO : Dimethylsulfoxyde

EPA : Acide eicosapentaénoïque

EX.Aq : Extrait aqueux

EX.Méth : Extrait méthanolique

FeCl<sub>3</sub> : Chlorure ferrique

GC : Coefficient de chargaff

HCL : Acide chlorhydrique

HFE : Huile fixe d'éthanol

HFP : Huile fixe de pressage

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:Acide sulfurique

J.C : Jésus-Christ.

KOH : Hydroxyde de potassium

LDC : Lysine décarboxylase

Lin : *Linum usitatissimum* L.

NaCl : Chlorure de sodium

NH<sub>4</sub>OH : Hydroxyde d'ammonium

ODC : L'ornithine décarboxylase

OMS : Organisation mondiale de la santé

**R** % : Rendement en %

SDG : Sécoisolaricirésinol diglucoside

Sxt<sub>25</sub> : Cotrimoxazol

μl : Microlitre

μm : Micromètre

% : Pourcentage

# *Introduction*



### *Introduction*

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement (huillier, 2007). Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager ses maux. On sait que les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques (Bouguerra, 2011). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (MA *et al.*, 1997). Parmi les milliers de molécules produites par métabolisme secondaire, l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus...) et de corriger ses troubles métaboliques, parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les terpènes, les polyphénols et les huiles. Ces derniers et de manière générale, occupent une place importante dans le secteur agricole et agroalimentaire. La production d'huile végétale est considérée depuis plusieurs années comme l'une des filières les plus prometteuses pour la diversification des productions agricoles dans le domaine des applications alimentaires et non alimentaires (Belluzzi, 2002).

Le lin (*Linum usitatissimum L.*) 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 L.* » (lin de tous les usages) (Tzang *et al.*, 2009). De nos jours, l'identification de nouveaux principes actifs et la découverte de nouvelles propriétés pharmacologiques, en balance avec les effets néfastes de certains médicaments de synthèse, ont contribué à faire de la phytothérapie une médecine à part entière et à faire comprendre que les plantes pouvaient être d'authentiques médicaments (Bouzouita, 2016). *Linum usitatissimum L.* fait partie des plantes les plus employées en médecine traditionnelle en raison des diverses propriétés de ses différentes parties notamment sa graine qui est documenté pour avoir un rôle bénéfique contre l'inflammation. La graine de lin englobe de nombreux composés et éléments biologiquement actifs, y compris les alcaloïdes, l'acide linoléique, les lignanes, les peptides cycliques et les polysaccharides (Ganorkar et Jain, 2013). L'ingestion de la graine comme prévention du cancer du sein, utérin, de la prostate et éventuellement une protection contre une

récidive. Elle est également considérée comme efficace en cas de troubles respiratoires et urinaires. Elle calme les douleurs pulmonaires et à un moindre degré l'irritation de l'appareil urinaire. Elle s'avère efficace contre la toux chronique ou aiguë, la bronchite, l'emphysème et la cystite chronique, également comme une prévention utile contre l'angine de poitrine, le rhume et l'artériosclérose. Ainsi pour réduire les taux de glycémie postprandiale et du cholestérol (Halligudi ,2012).

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'Activité antibactérienne des extraits de *Linum usitatissimum* L. utilisée au traitement des troubles digestifs sur quelques bactéries pathogènes et non pathogènes.

Notre travail a été divisé en deux parties, nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne les généralités de la plante du lin, les principales caractéristiques physico-chimiques de lin et son effet thérapeutique, le deuxième chapitre concerne Les troubles digestifs, Le troisième chapitre est consacré Métabolites secondaires et L'activité antibactérienne.

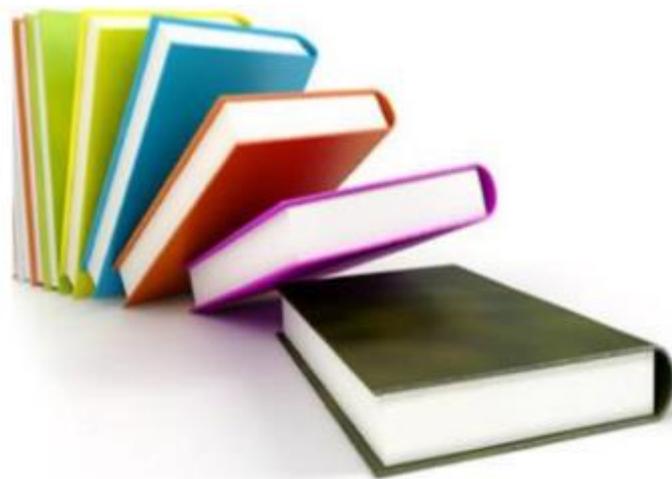
La deuxième partie décrit l'ensemble des techniques analytiques et les dispositifs expérimentaux utilisés au cours de cette étude. Cette partie comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre traite le matériel et les différentes méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront par la suite suivis d'une discussion.

Pour terminer, une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude sera donnée et complétée par d'éventuelles perspectives qui seront dégagées.

*Synthèse*

*Bibliographique*



*Chapitre I.*

*Etude sur la plante*

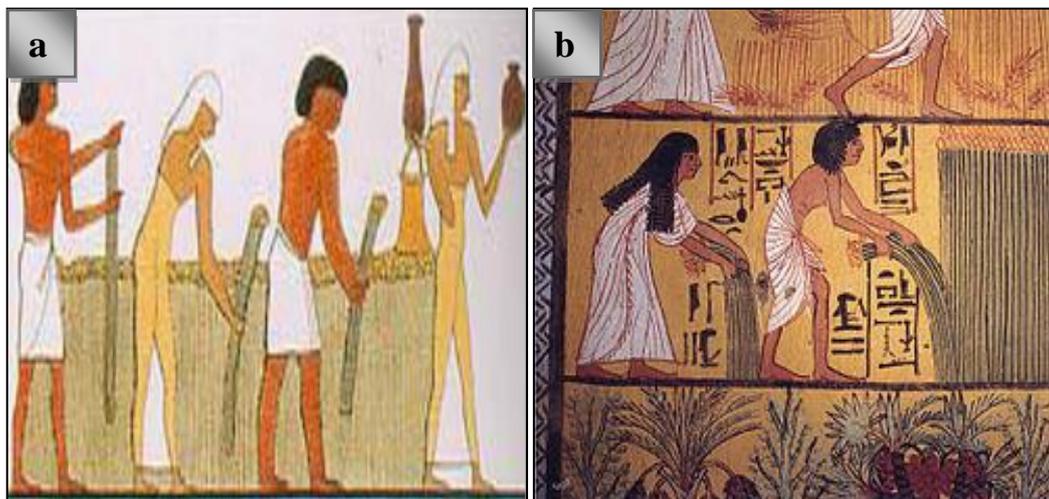
*(Linum usitatissimum L.)*

## I.1. Historique

Le lin est une plante de la famille des Linacées, l'un des premières plantes cultivées par l'homme. Des traces de son existence datant de - 8000 ans avant J.C. ont ainsi été découvertes dans des cités laestriennes. Néanmoins son origine (probablement des hauts plateaux d'Asie) n'est pas connue. Son utilisation a été étendue par la civilisation égyptienne. Des pharaons où les momies étaient entourées de bandelettes de lin. De plus, des fresques retrouvées dans les pyramides illustrent la culture du lin (Savoire, 2008).

Le lin est une des plantes cultivées pour son huile et ses fibres, son nom botanique est *Linum usitatissimum* L. qui a été donné par Linné en 1753. 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. (Beroual, 2014).

*Linum usitatissimum* L. 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).



(a) Détail d'un relevé de fresque par Cailliaud ; (b) Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem, der el Medineh, XIXème dynastie

Figure 01: Fresques égyptiennes (Savoire, 2008).

## I.2. Production de graine de lin

Du point de vue de la production mondiale, le Canada est le principal producteur et exportateur de graines de lin. La production est assez variable (entre 720 000 et 930 000 tonnes ces dernières années), et exportée pour l'essentiel (Anonyme 01).

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).

Tableau 01 : production de graine de lin dans le monde (Anonyme 01).

Production en tonnes de graines de lin. Chiffres 2010, Données de FAOSTAT (FAO)		
Canada	423 000	22 %
Chine	350 000	18,2 %
États-Unis	230 030	12 %
Russie	178 210	9,3 %
Éthiopie	150 000	7,8 %
Inde	146 000	7,6 %
Kazakhstan	94 610	4,9 %
Royaume-Uni	72 000	3,7 %
Argentine	52 075	2,7 %
Ukraine	46 800	2,4 %
France	35 000	1,8 %
Suède	23 900	1,2 %
Autres pays	220 753	6,3 %
Total	1 922 759	100 %

### I.3. Description botanique

Le genre *Linum* de la famille des *Linaceae* comprend environ 230 espèces, pouvant être divisées en six sections basées sur des caractères morphologiques : *linum*, *Dasylinum*, *linastrum*, *Cathartolinum*, *Syllinum* et *Cliococca*. Parmi les espèces de *Linum*, le lin (*L. usitatissimum*, " le plus utile ") est le plus commun, cultivé à la fois pour ses fibres et ses graines (McVetty et Lukow, 2004).

Le lin cultivé (*Linum usitatissimum* L.) est une angiosperme dicotylédone annuelle, herbacée, Dressé, avec un système racinaire peu profond et a besoin d'humidité suffisante pendant la saison de croissance (Hocking *et al*, 1997). Deux différents types se distinguent au sein de cette espèce : le type *vulgare* destinées à l'utilisation des fibres pour le textile et le type *humile* pour l'huilerie. En effet, les variétés destinées à la production de fibres ont des tiges longues et peu ramifiées conduisant à une faible production de graines (de mauvaise qualité) tandis que les variétés à huile présentent des tiges courtes et très ramifiées permettant une production de graines plus importantes (Warrand, 2004).

- Tige : unique se terminant par une inflorescence en forme de cyme.
- Hauteur : entre 0,8 et 1,2 m.
- Diamètre au collet : de l'ordre de 1 à 2 millimètres.
- Feuilles : allongées et sessiles (entre 80 et 100 feuilles par tige).
- Fleurs : 5 pétales.
- Pollinisation : auto-pollinisation (cléistogamie).
- Durée de floraison : 15 jours (mais seulement quelques heures par fleur).
- Couleur des fleurs : bleues, rouges ou blanches (plus ou moins rosées).
- Fruit : une capsule contenant 10 graines riches en huile.
- Graines : couleur brune (parfois jaune clair), lisses, plates, petites et légères (4 à 7 grammes pour mille graines).
- Génome : compose de 15 paires de petits chromosomes ( $2n=30$ ).



(a) La couleur des fleurs varie du blanc aux nuances de rose ou de bleu.

(b) À maturité, certaines accessions ont des capsules (ou capsules) complètement fermées, tandis que d'autres sont légèrement ou complètement déhiscentes.

(c) La couleur de l'enveloppe de la graine de lin peut varier du jaune vif à olive en passant par le brun foncé et peut même inclure des panachées (Bommareddy *et al* ,2009).

Figure02 : Diversité génétique chez le lin cultivé, "*Linum usitatissimum* L." (Renouard, 2011).

## I.4. Classification botanique du lin

La famille du Linaceae est géographiquement répandue avec environ 300 espèces dans le monde entier.

Cette famille est positionnée dans le royaume des plantes comme suit (Tableau 02) :

Tableau 02: classification du lin (Bloedon *et al.*, 2004)

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

## I.5. Noms vernaculaires

Nom anglais: Lin ou flax ou linseed

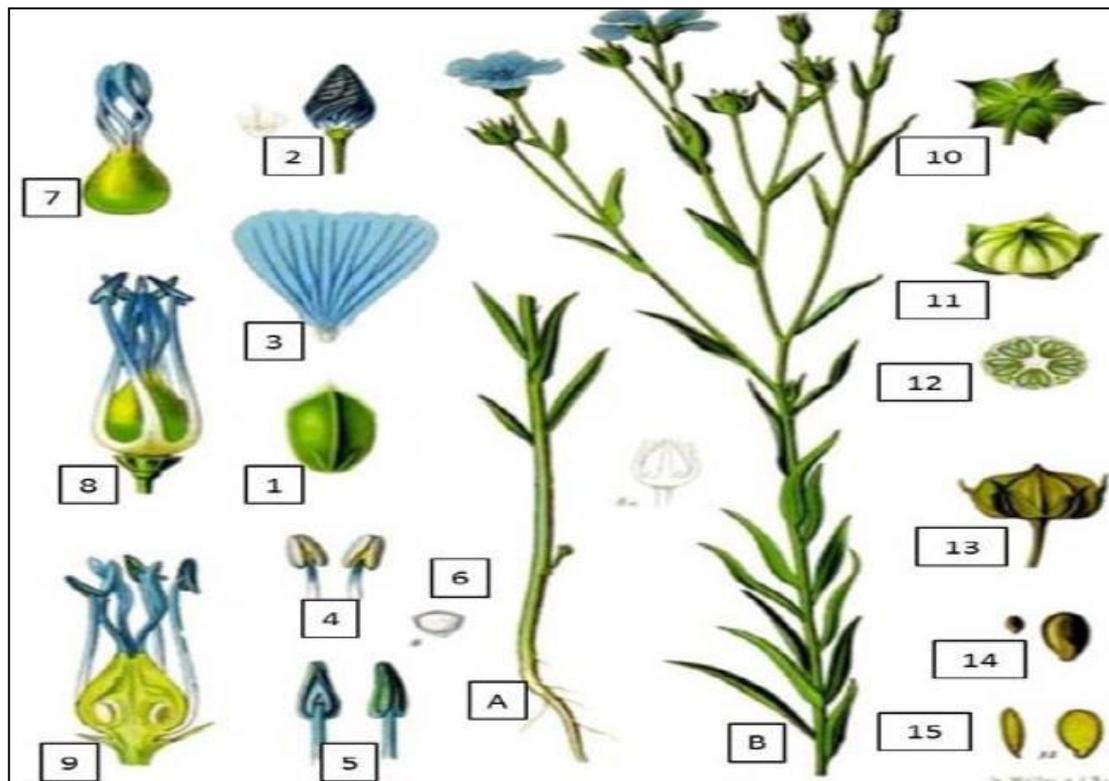
Nom latin :*Linum usitatissimum* L.

Nom arabe : Zerriat al kettane ( زريعة الكتان ) (El Abdali, 2017).

## I.6. Plan morphologique

## I.6.1. Morphologie et botanique de plante

La plante atteinte une hauteur comprise entre 0,8 et 1,2 mètre pour un diamètre à la base de l'ordre de 1 à 2 mètre. L'inflorescence est en forme de cyme qui porte plusieurs fleurs bleues ou blanches. La fleur hermaphrodite et hypogyne, elle est de type 5 : 5 sépales, 5 pétales, 5 étamines et un pistil formé de 5 carpelles séparés par autant de fausses cloisons. La pollinisation du lin par les insectes est possible mais rare, le pollen étant collant. Les graines de forme ovale ont une surface lisse colorée du brun-rouge à l'orange ont une longueur de 3 à 6,4 mm. Le lin possède une courte racine pivotante pourvue de radicelles fibreuses de longueur variable allant jusqu'à 120cm. Les feuilles disposées tout le long de la tige dressée sont simples et sessiles et ont trois nervures d'une longueur de 25 mm environ (Casa *et al.*, 1999).



A, B : plante; 1 : sépales; 2 : bourgeon sans calice; 3 : pétale; 4 et 5 : étamines; 6 : grain de pollen; 7 : pilon avec 5 colonnes; 8 et 9 : Fleur sans calice, corolle et étamines; 10 et 11 : fruit non mur (capsule); 12 : coupe transversale d'une capsule de lin; 13 : fruit mature; 14 : graine de lin brune; 15 : coupe longitudinale des graines de lin brune.

Figure 03 : Planche botanique du lin cultivé (*Linum usitatissimum* L.) (Casa *et al.*, 1999).

### I.6.2. Morphologie et microstructure de graine

La graine de lin a une forme ovale, aplatie et lisse. La graine contient un bec plus ou moins recourbé à son extrémité. Le tégument de la graine prend des couleurs variant du jaune au marron (figure 04). Les dimensions des graines commerciales sont variables: de 3,0 à 6,4 mm de longueur de 1,8 à 3,4 mm de largeur et 0,6 à 1,5 mm d'épaisseur en moyenne (Freeman, 1995). Le poids de mille grains varie entre 5 et 10 g (Labalette *et al.*, 2011). La variabilité de ce poids est relative à la date et à la densité de semis et rend compte de la bonne formation et alimentation des graines (FAO, 2012).



Figure 04 : Gamme de couleurs des graines de lin (Dybing et Lay, 1981).

La graine est formée d'un embryon entouré d'un albumen huileux, l'ensemble étant protégé par des téguments. Ces téguments comprennent cinq assises cellulaires dont (de l'intérieur vers l'extérieur) (Karleskind, 1992) :

- Une assise mucilagineuse transparente,
- Une assise verdâtre à aspect parenchymateux,
- Une assise fibreuse à membranes épaisses, colorée en jaune,
- Une couche de débris cellulaires informe, mince et incolore,
- Une couche monocellulaire rouge (donne sa couleur à la graine, si elle est absente, les graines sont vertes ou jaune et brun foncé si elle est atrophiée).

### I.7. Culture du lin

Cultivé dès les premiers âges de l'humanité, le lin favorise pour sa culture, une terre légère, fraîche. La récolte du lin s'effectue à sa parfaite maturité, on l'arrache, on le fait sécher en plein air ou à l'abri, on bat les tiges pour en détache les graines. Une soufflée d'air chaud termine le séchage et élimine les fibres ou le feuille restantes (Figure 05) (Pierre et Lis, 2011). Le lin est une culture qui a atteint la maturité entre 120 et 130 jours après le semis. La période de croissance est donc très longue et les récoltes sont généralement effectuées tard à l'automne. Pour des semis effectués en mai (D1 et D2), la récolte a pu être effectuée à la mi-septembre ou avant le 15 octobre. Pour des semis plus tardifs, la période des récoltes est également retardée et les risques de mauvaises conditions au moment de la récolte sont plus élevés. La culture pourrait ne pas atteindre la maturité et les travaux de sol suivant la récolte du lin seraient également retardés si les semis sont effectués en juin. Selon le Flax Council of Canada (2002), la récolte peut être plus difficile avec des semis tardifs car les risques de croissance secondaire de la plante deviennent plus élevés, les tiges encore vertes peuvent être présentes ce qui nuit aux opérations de récolte. Pour des semis hâtifs, les risques associés aux gels printaniers sont également faibles car les jeunes plantules peuvent supporter des températures de  $-3^{\circ}\text{C}$  (Flax Council of Canada 2002). Lorsque les plantes ont atteint le stade de formation des feuilles, ils peuvent supporter des températures aussi basses que  $-8^{\circ}\text{C}$ . Il est difficile de généraliser la portée d'un essai effectué à un seul site à l'ensemble des zones agricoles à climat frais. Toutefois, les résultats sont en accord avec une majorité de travaux recommandant un semis hâtif de lin. Des semis hâtifs, préférablement en mai, devraient permettre de maximiser les rendements en grains et les contenus en huile des graines (Pageau et La jeunesse, 2011).

Les variétés commerciales de lin oléagineux sont différenciées en variétés de printemps et d'hiver, pour une production végétale adaptée aux conditions climatiques (29 variétés de lin de printemps contre 9 variétés de lin d'hiver sont inscrites au catalogue français de 2012 ; GEVES, 2012). Les lignées d'hiver sont issues du croisement de lignées de printemps puis sélectionnées pour leur tolérance aux basses températures. Le lin d'hiver est semé en septembre et le lin de printemps en mars.

Le lin d'hiver, présente un rendement en graine plus stable, car la variété est plus tolérante au froid et moins sensible aux stress environnementaux. Les variétés hivernales représentent actuellement 80% du lin en France (Labalette *et al*, 2011). L'évolution de la

plante de lin du bouton de fleur jusqu'à la capsule mature est présentée sur la figure 5. La période végétative, permettant la croissance des tiges et des feuilles, s'étend de 45 à 60 jours. Durant les 15 à 25 jours suivants, les boutons floraux apparaissent à l'extrémité des tiges. Les fleurs évoluent en capsules durant la maturation (Figure 5), qui se déroule sur les 30 à 40 jours suivants. Au terme de la maturation, la plante est sèche et jaunie, les capsules contenant les graines sont récoltées. Chaque capsule compte 5 loges, contenant au maximum 10 graines chacune (Oomah, 2001).



Figure 05 : Culture du lin en champs et évolution de la plante de lin en serre,

Du bouton de fleur à la capsule mature (Oomah, 2001).

### I.8. 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).

Tableau 03 : Bienfaits potentiels du lin pour la santé (Alachaher, 2018).

Composés de graines de lin	Bienfaits potentiels pour la santé
Graine entière ou broyée	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Réduction du cholestérol total et du cholestérol (LDL).</li> <li>-Réduction de la réponse glycémique postprandiale</li> <li>-Diminution de l'inflammation et du risque du cancer</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Fibres solubles</li> <li>Fibres insolubles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Réduction de la cholestérolémie et de la glycémie</li> <li>-Régulation de la fonction intestinale</li> </ul>
Acides alpha- linoléique (ALA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Réduction de la cholestérolémie et des concentrations de biomarqueurs inflammatoires</li> <li>-Réduction du risque de coronaropathie, d'accident vasculaire cérébral et de cancer</li> </ul>
Lignanes (SDG)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Traitement de l'hypertrophie de la prostate</li> <li>-Prévention du cancer (cancer du sein, du colon, et du poumon, leucémie)</li> <li>-Maitrise de la néphropathie lupique (insuffisance rénale)</li> <li>- Réduction des risques liés aux maladies cardiovasculaires, aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, à la polyarthrite rhumatoïde et au diabète</li> <li>-Effet antitumorigène sur certains cancers</li> <li>-Effets hypocholestérolémiant</li> </ul>

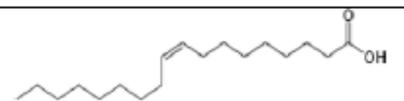
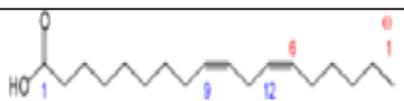
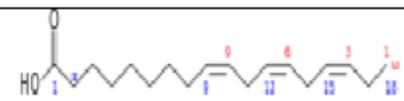
I.8.1. Huile de lin

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).

L’huile de lin est composée majoritairement de 5 types d’acides gras (Tableau 04), l’acide palmitique (C16 :0) (4 à 6 %), l’acide stéarique (2 à 3 %), l’acide oléique (10 à 22 %), l’acide linoléique (12 à 18 %) et l’acide linoléique(ALA) (50 à 62 %). Il est composé aussi de stérols, hydrocarbures, tocophérols et alcools triterpéniques (Sultana, 1992).

La composition chimique de l’huile de lin peut varier selon les lieux de culture et les variétés (Lafond *et al.*, 2008).

Tableau 04: 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.8.2. 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.8.3. 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.8.4. Composés antioxydants de lin

Deux catégories de molécules possédant une activité antioxydant sont présentes dans la graine de lin : les tocophérols et les polyphénols (Fisk *et al.*, 2006).

## I.9. Propriétés et utilisation de lin

### I.9.1. Graine de lin

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 oestrogènes 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 (Alachaher, 2018).

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 (Rafieian-Kopaei *et al.*, 2017).

Les mucilages favorisent le drainage du colon et contribuent à ramollir les selles et à faciliter leur évacuation. Aussi grâce aux mucilages, ses graines prodiguent un effet calmant et anti-inflammatoire réduisant l'irritation du colon dans des affections comme les colites, l'inflammation intestinale et les hémorroïdes (Iserin, 2001 ; Halligudi ,2012).

Le lin contient également des lignines qui appartiennent à la famille des phytoestrogènes ; ces lignines sont douées des propriétés anti oxydantes et anticancéreuses (Thompson, 2003).

### I.9.2. Huile de lin

L'huile de lin est utilisée pour peindre et vernir, pour saturer la matière des ardoises, pour mettre au point le savon noir et pour protéger les pièces de monnaie de même que l'acier rouillé. Elle est imprégnée et protège le bois à l'intérieur comme à l'extérieur : protection contre l'humidité, les champignons et les insectes et contre la poussière par son caractère antistatique (Bloedon et Szapary, 2004).

Elle est conseillée chez les personnes souffrant de sclérose en plaque ou de diabète. Elle a aussi un effet sur les systèmes hormonal et immunitaire. L'utilisation quotidienne d'huile de lin protège la membrane gastrique et urinaire. Elle convient aussi pour le visage, la peau irritée et le corps, elle reconnue pour ses propriétés adoucissantes et émoullientes.

Elle est employée aussi pour le traitement des cuirs, pour nourrir les sabots des chevaux (Bloedon et Szapary, 2004).

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

Des études ont également montré qu'une consommation d'huile de lin permettait une diminution de la pression artérielle, prévention de thrombose, diminution de 48 % de la quantité de protéines réactives C, d'une diminution de 32 % de sérum amyloides A (Massaro *et al.*, 2010).

L'huile de lin est également une huile qui présente un grand intérêt dans la consommation humaine par son profil en acides gras et notamment ses teneurs très élevées en  $\alpha$ -linoléique (50-62 %), en acide linoléique (12-18 %), ce sont deux acides gras essentiels non synthétisés par l'homme. Les désaturases et des élongases humaines peuvent convertir le

C18 :2 et le C18 :3 en acide eicosapentaénoïque (EPA), acide docosahexaénoïque (DHA) et acide arachidonique longues chaînes (C20 :5 ω3 ; C22 :6 ω6 ; C20 :4 ω) bénéfiques pour la santé humaine (Massaro *et al.*, 2010).

En effet, la consommation de ces oméga-3 est nécessaire pour le développement normal du système nerveux et de l'acuité visuelle au niveau de la rétine.

L'huile de lin a un effet inhibiteur sur les tumeurs, effet lié à la présence des lignanes et de l'acide alpha-linolénique (Thompson *et al.*, 1996).

Les altérations du métabolisme et de la balance redox associées à l'obésité au cours du vieillissement peuvent être corrigées par la consommation de l'huile de lin selon les travaux (*in vivo*) de Ayad *et al.* (2013) et Laissouf *et al.* (2013).

Les effets bénéfiques d'huile de lin concernent une réduction du poids corporel, une diminution de la glycémie, des teneurs plasmatiques en insuline, adiponectine et leptine ainsi que des teneurs en cholestérol et triglycérides sériques et des lipoprotéines (Ayad *et al.*, 2013).

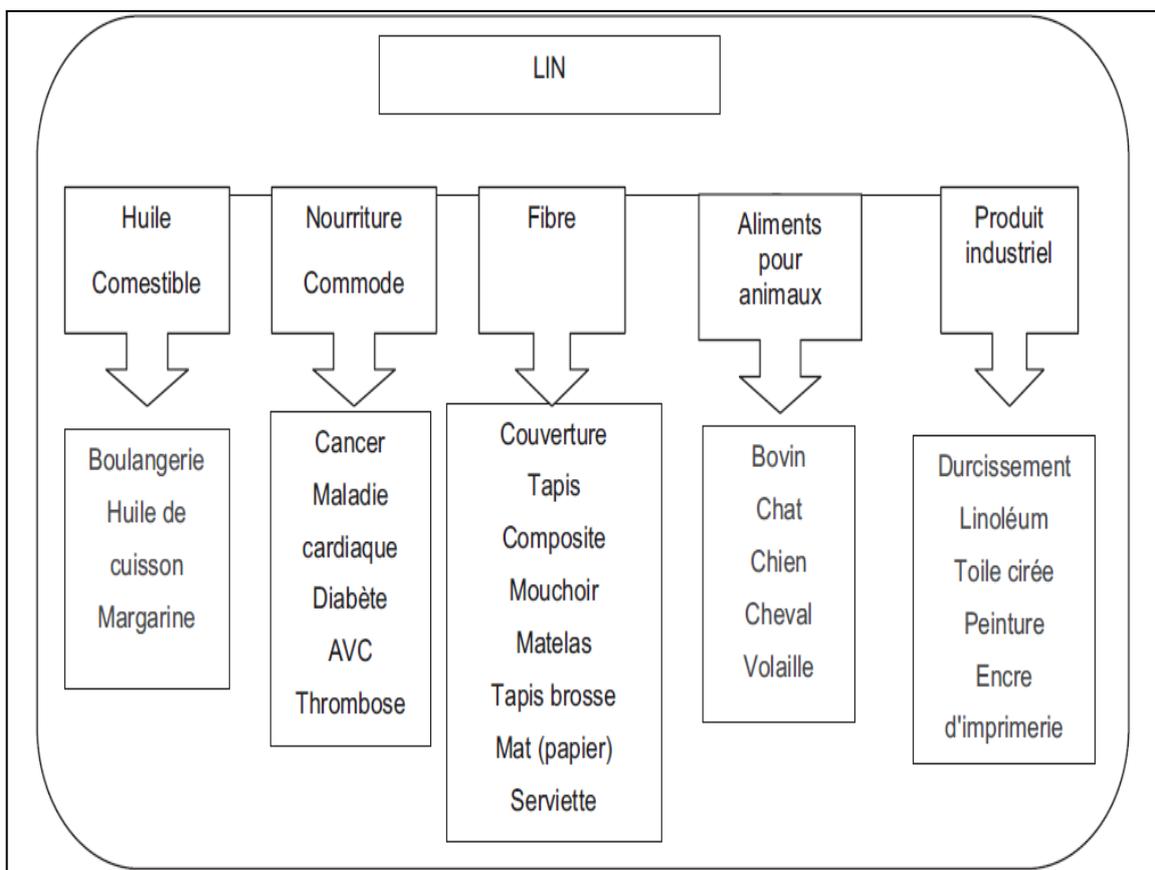


Figure 06:Diagramme de l'utilisation du lin (Jhalla et Hall, 2010).

Il existe deux usages de *Linum usitatissimum* L. au traitement des troubles digestifs :

\*En usage interne

□ Contre les constipations chroniques par amélioration du transit, troubles fonctionnels du côlon, cholestérol (hypercholestérolémie, action contre le LDL ou mauvais cholestérol), inflammations des muqueuses gastrique et intestinale, brûlures d'estomac, Macération : 15 à 20 g de graines pour 1 litre d'eau froide. Laisser macérer une nuit, filtrer. Un verre le matin à jeun puis 4 à 5 verres dans la journée, en dehors des repas.

□ Contre les troubles liés à la ménopause (toujours après avis d'un médecin phytothérapeute) Graines entières : bien mâcher (en salivant) 2 à 4 cuillères à café (selon son poids) avant d'avaler. Une fois par jour.

□ contre les yeux secs (les oméga-3 seraient responsables de l'effet, contre les yeux secs prenez 1 à 2 cuillères à café par jour d'huile de lin), hypertension (Anonyme 02).

\*En usage externe

Contre les inflammations articulaires (Pour faire des cataplasmes à utiliser contre les rhumatismes, ainsi que la toux), et dermatoses, prurits, contusions Cataplasme : Verser lentement de l'eau (la moins calcaire possible) sur de la farine de lin jusqu'à obtenir une pâte onctueuse. Faire réchauffer à feu doux et étaler tiède sur une gaze en 1 cm d'épaisseur. Appliquer 1 à 3 fois par jour (Anonyme 02).

Un cataplasme de graines concassées ou de farine de lin appliquée sur les furoncles et les anthrax, calme les ulcérations et draine le pus (Iserin, 2001). Dans le temps, les femmes bouillaient les graines dans l'eau et utilisaient le lin sous forme de gel pour adoucir leurs cheveux (Halligudi ,2012).

Enfin, il est nécessaire de ne pas utiliser les graines de lin immatures car elles peuvent être toxiques La graine de lin contient également des facteurs antinutritionnels destinés à les défendre des oiseaux ; ces facteurs appartiennent à la famille des cyanogènes (Hermier *et al.*, 2004).

## I.10. 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.10.1. Effets anti inflammatoires, antioxydants et anticancéreux

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.10.2. 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 (Halligudi, 2012).

#### I.10.3. Effet laxatif et émoullient

Les mucilages sont des polysaccharides qui possèdent une très importante capacité de gonflement en milieu humide, c'est à eux que la graine de lin doit ses capacités laxatives et émoullientes citées dans de nombreux traités. Notamment en cas de constipation chronique sous forme concassée, les graines de lin absorbent les liquides intestinaux. Les mucilages favorisent le drainage du colon et contribuent à ramollir les selles et à faciliter leur évacuation (Blumenthal, 2000).

### I.11. Toxicité et effet indésirable de la graine de lin

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

Ces graines sont contre –indiquées en cas d'antécédents personnels ou familiaux de cancer hormonaux dépendants tels que le cancer du sein ou des ovaires, car la lignane contenue dans le lin fait partie des phytoestrogènes et par conséquent peut alimenter directement une tumeur oestrogéno-dépendante.

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

Cette plante ne doit pas être prise sans avis médical dans l'indication "troubles de la ménopause". Elle est proscrite en cas d'antécédent de cancer du sein. Il faut aussi faire attention aux farines périmées. Enfin, le lin ne doit pas être utilisé en cas d'occlusion intestinale. Ne l'administrez jamais chez l'enfant de moins de 6 ans sans avis médical (Rédaction Medisite, 2011).

Quand les doses sont trop fortes en début de traitement, le lin peut provoquer des flatulences ou avoir un effet laxatif trop marqué (Anonyme 03).

#### a/ Interactions avec des plantes médicinales ou des compléments

Il est indispensable de toujours laisser passer une période de deux heures entre la consommation de lin et celle d'autres plantes ou de compléments (Anonyme 03).

#### b/ Interactions avec des médicaments

Il est nécessaire de laisser passer deux heures entre une prise de lin et celle de médicaments. Il est déconseillé de consommer du lin en même temps qu'un traitement ralentissant le transit intestinal (Anonyme 03).

## *Chapitre II .Les troubles digestifs*

### II.1. Définition Des troubles digestifs

Les troubles digestifs regroupent un ensemble de manifestations résultant de problèmes de digestion. D'une manière générale, de nombreuses personnes sont concernées par au moins un trouble digestif. Selon la nature du trouble digestif, les causes, les symptômes et les traitements diffèrent. Des troubles digestifs peuvent être bénins et passagers, tandis que d'autres sont graves et nécessitent une prise en charge médicale adaptée (Anonyme 04).

### II.2. Causes des troubles digestifs

En fonction de leur nature, les troubles digestifs peuvent avoir plusieurs origines.

- L'alimentation, par exemple les aliments épicés qui peuvent irriter les muqueuses digestives chez certaines personnes ou encore une alimentation insuffisamment riche en fibres responsable d'une constipation chronique.
- Des allergies alimentaires, qui induisent généralement des symptômes digestifs, associés ou non à des symptômes respiratoires ou cutanés.
- Une maladie chronique systémique, par exemple la sclérose en plaques, qui s'accompagne souvent d'une constipation chronique ou la maladie cœliaque, qui provoque des douleurs abdominales.
- Une maladie digestive, comme une maladie de Crohn ou une rectocolite hémorragique.
- Une infection, par exemple une gastro-entérite ou un ulcère gastroduodéal.
- L'état général de santé, et notamment la fatigue ou le stress, peuvent induire des troubles digestifs. Plusieurs études scientifiques ont démontré le rôle du stress dans le développement de maladies digestives associées à des troubles digestifs.
- La prise de médicaments, car de nombreux médicaments sont susceptibles de provoquer des troubles digestifs comme effets secondaires.
- Un cancer des voies digestives, comme un cancer de l'estomac ou un cancer colorectal (Anonyme 04).

### II.3. Symptômes des troubles digestifs

Les troubles digestifs, en fonction de leur nature, peuvent entraîner différents signes Clinique, d'intensité variable (Oullay et Chamek, 2018).

- ✓ Ballonnement
- ✓ Brûlure de l'estomac
- ✓ Constipation
- ✓ Diarrhées
- ✓ Dyspepsie
- ✓ Dysphagie
- ✓ Eructation
- ✓ Nausées et vomissements

## II.4.Traitement des troubles digestifs

### II.4.1.par méthode traditionnelle

Les graines de lin gonflent au contact de l'eau dans l'intestin pour former une substance gélatineuse (un mucilage). Cela aide à rendre les selles plus molles et à passer plus facilement dans l'intestin. De plus, l'effet de gonflement des graines de lin élargit l'intestin et cet effet de distension accélère le passage des selles dans l'intestin. Il est probable que le mucilage des graines de lin tapisse la muqueuse du tube digestif et la protège ainsi contre l'irritation. Cet effet peut réduire la gêne gastro-intestinale

(European Medicines Agency, 2016).

Actuellement, selon les estimations de l'OMS, plus de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (Boumediou et Addoun, 2017).

### II.4.2.par méthode moderne

Ce type de traitement présenté par des nouvelles molécules par l'industrie pharmaceutique utilisées comme des médicaments dans le but de soigner contre les maladies ,dans la plupart des cas ces substances chimique obtenus a partir des plantes végétales confirmée par la recherche scientifique ,a dosage quantifié et a qualité contrôlés cela pour répandre aux besoins de soin de santé des population ,ces médicaments sont vendus sous

différent formes: présentation traditionnel , poudres, tisane, gélules, sirops ou des pommades en cité des exemples des produits chimiques présenté dans les pharmacie formé a partir des plantes utilisé spécifiquement au traitement des troubles digestifs sont : Charbonel plus ,Lacto Fibre , Kalnagas ,Santé vie et Eucarbon(sanogo ,2006).

## *Chapitre III.*

*Métabolites Secondaires et*

*L'Activité Antibactérienne*

### III.1.Métabolites secondaires

#### III.1.1.Généralités

En biologie végétale, les composés produits par les plantes sont subdivisés en deux groupes de molécules, les métabolites primaires qui jouent un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal (protéines, lipides, glucides, acides aminés, acides nucléiques, vitamines) (Huang et Ferraw, 1991; Li *et al.*, 2007) et les métabolites secondaires qui sont des composés chimiques dans les plantes, responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Le terme «métabolite secondaire», qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques. Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures.

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (Boudjouref, 2011). Ces molécules organiques caractérisées généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux. Et aussi marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

En 1987 Plus de 8500 métabolites secondaires sont déjà connus. Les plus grands groupes sont les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les composés phénoliques. Ils présentent une énorme valeur économique (en particulier pour l'industrie pharmaceutique, alimentaire et la cosmétique). Ils sont largement utilisés en thérapie comme anti inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires.

#### III.1.2.Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003; Haven *et al.*, 2000).

### III.1.2.1. Composés phénoliques

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 sont divisés en plusieurs classes selon le nombre de cycles de phénol qu'ils contiennent et aux éléments structurels qui lient ces anneaux les uns aux autres (Grootaert *et al.*, 2015).ils représentent plus de 8000 structures phénoliques (Miranda *et al.*, 2016).

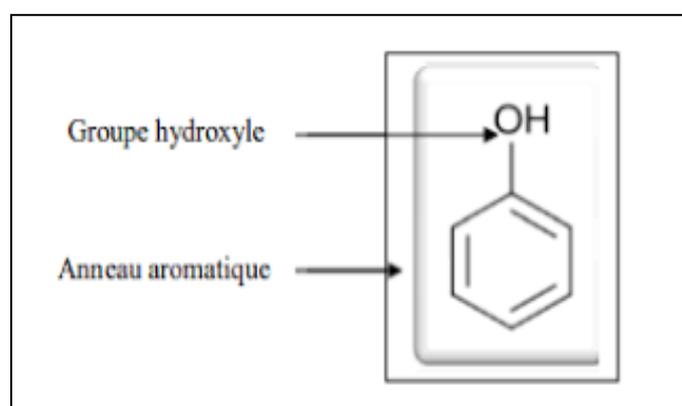


Figure 07:Structure de polyphénole(Manallah, 2012).

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'acétyl Coenzyme) qui aboutit à des composés tels que les naphtoquinones (Bruneton,1999;Naczk et Shahidi,2004).

Les recherches récentes sur les composés phénoliques sont très poussées, en raison de leurs divers propriétés physiologiques, comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anti-carcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000;Ksouri *et al.*, 2007). Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines: la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Ralston *et al.*, 2005).

### III.1.2.1.1. 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).

#### III.1.2.1.1.1. Polyphénols simples (C6)

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, on distingue :

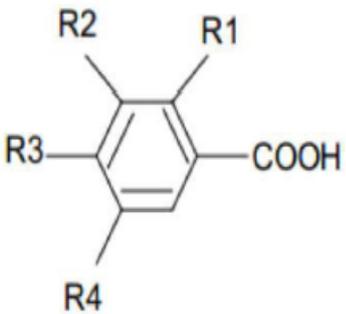
➤ Acide hydroxy benzoïque

-Dérivent de l'acide benzoïque

-Structure générale de base de type (C6-C1) (Tableau 05)

Tableau 05: Principaux acides hydroxybenzoïques(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
H	H	H	H	Acide benzoïque
H	H	OH	H	Acide phydroxy benzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatechique
H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
H	OH	OH	OH	Acide gallique
H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique



Le diagramme illustre la structure générale d'un acide hydroxybenzoïque. Il s'agit d'un noyau benzène avec un groupe carboxyle (-COOH) fixé à la position 1. Les positions 2, 3, 4 et 5 sont respectivement substituées par des groupes fonctionnels R1, R2, R3 et R4.

➤ Acide hydroxy cinnamique

-Dérivent de l'acide cinnamique.

- Structure générale de base de type (C6-C3) (Tableau 06)

Tableau 06 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

R1	R2	R3	Acides phénoliques
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide p-coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

➤ 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 8).appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- $\alpha$ -pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres (O'Kennedy et Thornes, 1997).

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.

Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer un moyen de défense de type phytoalexine (O'Kennedy et Thornes,

1997).et possèdent des activités : anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, diurétique, antimicrobienne, antivirale et analgésique (Stefanova *et al.*, 2007).

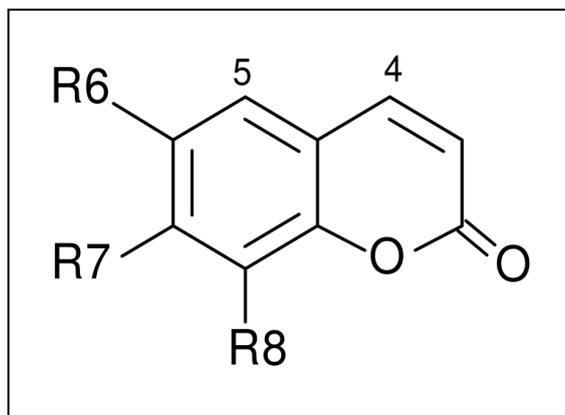


Figure 08:Structure chimique de coumarine (O’Kennedy et Thornes, 1997).

### III.1.2.1.1.2 Composés phénoliques complexes

#### ➤ Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les principaux métabolites secondaires végétaux (Ralston *et al.*, 2005). Ils constituent un grand groupe de composés phénoliques ayant une structure benzol-<sup>3</sup>-phénylpropanoïdes (Winkel-Shirley, 2000).

Ils se trouvent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides, en général dans toutes les plantes vasculaires (Havsteen *et al.*, 2002). Connus pour avoir une forte activité anti-oxydante, en inhibant d'une part des enzymes produit. Autres activités : diurétiques, antispasmodiques, anti-ulcère gastrique, anti-inflammatoire....

Les flavonoïdes sont des molécules pratiquement atoxiques et bien tolérées chez l’homme mais leur action est lente.

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C<sub>6</sub>, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale) (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes sont en outre classés en sous-classes définies par différents groupes fonctionnels et niveaux d'oxydation dans le cycle en C, et par différentes connexions entre

les cycles B et C. Les variations entre les composés d'une sous-classe sont constituées de différents substituants sur les anneaux A et B (Fantini *et al.*, 2015).

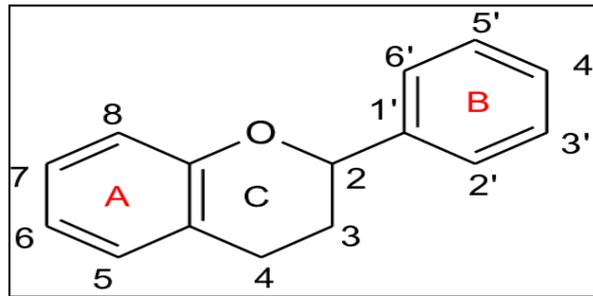


Figure 09: Squelette de base des flavonoïdes (Erlund, 2004).

On recense 4 000 flavonoïdes dans le règne végétal. Ils constituent le type de polyphénol le plus abondant dans l'alimentation, représentant environ les deux tiers de la consommation, selon leur structure chimique, ils peuvent être classés anthocyanidines, flavan-3-ols, flavanones, flavones, flavonols et isoflavones (Sebastian *et al.*, 2015).

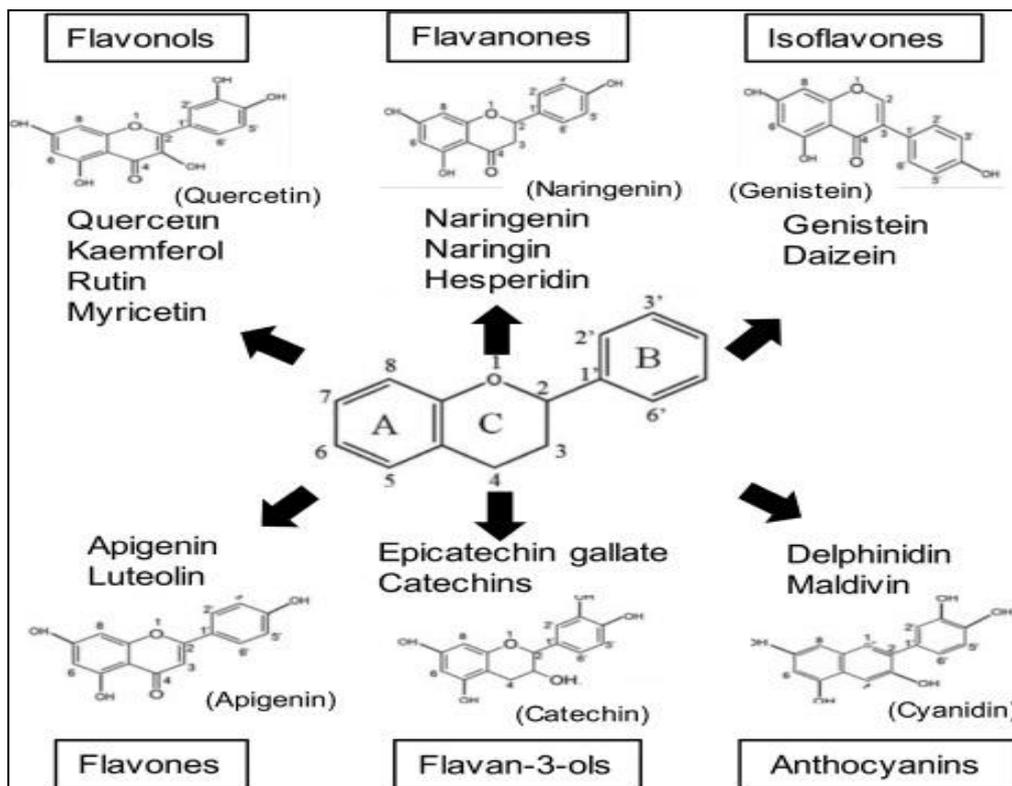


Figure 10 : Classification des flavonoïdes (Crozier *et al.*, 2006).

### ➤ Tanins

Les tannins sont très abondants chez les angiospermes dicotylédones (Tannins Hydrolysables) et les gymnospermes (Tannins condensés). Leur masse moléculaire est comprise entre 500 et 3000 PM (Atefeibu, 2002). Sont répandus, particulièrement, dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ces composés ayant en commun la propriété de tanner la peau combinaisons à des macromolécules (Protéines, Polysaccharides...) par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes). Ils sont utilisés dans le traitement des aliments et la clarification des vins, des bières et des jus de fruits (propriétés biologiques).

Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques. Ils sont constitués soit de polyol (ou polyalcool ou glycol, caractérisé par des groupes hydroxyle) (glucose le plus souvent) ou de catéchine ou de triterpénoïde auquel sont attachés des unités galloyles (ou leurs dérivés) ou soit d'oligomères ou polymères de flavanols (Bruneton, 2009).

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).

#### ❖ 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).

### ❖ Tanins condensés (TCs)

Les tannins condensés, ou proanthocyanidols, sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes. Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavanoïdes. L'unité de base (ou monomère) des TCs est un flavan-3-ol (catéchine). Liés par des liaisons de type C-C (Type B) ou C-O-C (type A) (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992).

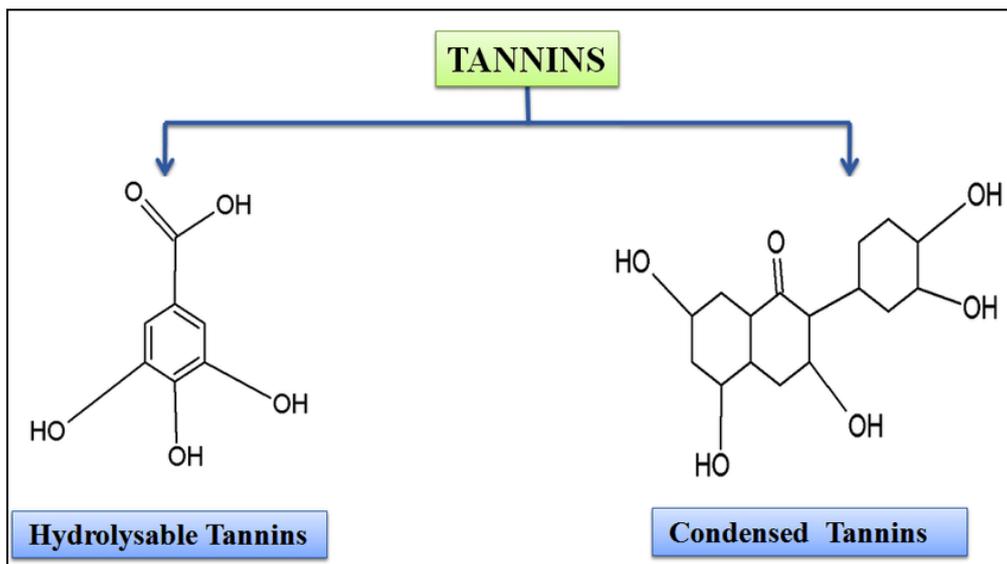


Figure 11:Types de tanins et leurs structures de base (Mueller-Harvey et Mc Allan, 1992).

#### III.1.2.2. Alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin. Il présente une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011).

Les alcaloïdes sont caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool et peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat). Ils exercent en générale de puissantes actions pharmacologique.

Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (Rakotonanahary;2012).

On divise les alcaloïdes en trois genres :

### ➤ Alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N Oxyde (Badiaga; 2011).

### ➤ Pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga; 2011).

### ➤ Proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés in vivo à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (Badiaga; 2011).

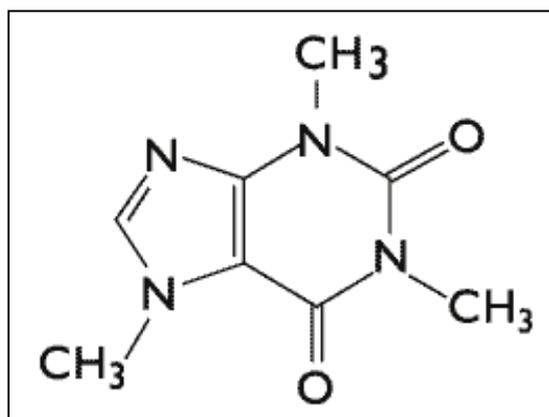


Figure 12 : structure des alcaloïdes (Badiaga; 2011).

Leurs propriétés sont généralement variées et dépendant de leur comportant chimiques par exemple :

√ Action sur le système nerveux central, comme antidépresseur ex (codéine, morphine...).

√ Action sur système nerveux autonome : existant du sympathique (hordéine, éphédrine...).

√ Action sur les vaisseaux : hypertenseur, hydrastine.

√ Action sur la circulation sanguine : action antibiotique, antiparasitaire, anthelminthiques à des doses variées (quinine toxique pour l'hématozoaire du paludisme (Harborne, 1973).

## *Chapitre III Métabolites Secondaires et l'Activité Antibactérienne*

### III.1.2.2.1. Classification des alcaloïdes

Tableau 07 : Classification des alcaloïdes (Mauro, 2006; Wilhelm, 1998).

Les dérivés des alcaloïdes	Les propriétés
Alcaloïdes dérivés de la lysine	<ul style="list-style-type: none"><li>-Utilisée dans les préparations pour lutter contre les tabagismes l'extrait brut de la plante est largement employé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite.</li><li>-Très toxique mais le sel de sulfate correspondant est utilisé en médecine comme agent stimulant de rythme cardiaque.</li><li>-utilisée pour provoquer la contraction de l'utérus au cours de l'accouchement.</li><li>-Leur action contre le virus du SIDA(HIV).</li></ul>
Alcaloïdes dérivés de la tyrosine et de la phénylalanine	<ul style="list-style-type: none"><li>-Médicament analgésique et anti- allergique.</li><li>-Une activité vasodilatatrice Propriétés hypnotiques et analgésique.</li><li>-A un effet calmant sur des zones du système nerveux central.</li><li>-Inhibe la sensation de douleur.</li><li>-Effet analgésique associé a un effet euphorisant.</li></ul>
Alcaloïdes dérivés de l'acide anthranilique	<ul style="list-style-type: none"><li>-Propriétés antipyrétiques et antiparasitaires.</li><li>-Une activité anti-tumorale sur différents modèles de tumeurs humaines du poumon du colon et des ovaires.</li></ul>
Alcaloïdes dérivés de l'acide nicotinique	<ul style="list-style-type: none"><li>-Effet contre les attaques des herbivores et des insectes Stimulant respiratoire.</li><li>-Agent aidant le processus des evrage tabagique.</li></ul>
Alcaloïdes dérivés de l'histidine	<ul style="list-style-type: none"><li>-Utilisée en ophtalmologie dans le traitement du glaucome.</li></ul>
Alcaloïdes dérivés du tryptophane	<ul style="list-style-type: none"><li>-Utilisée dans les traitements de la crampe nocturne de la jambe.</li><li>-Tue les mérozoïtes de l'agent vecteur de la malaria.</li></ul>
Alcaloïdes dérivés de l'ornithine	<ul style="list-style-type: none"><li>-Utilisée dans le domaine de l'odontologie.</li><li>-Elle étouffe les symptômes des fatigues et d'épuisement.</li></ul>

### III.1.2.3. Terpènes

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 ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub> (Qureshi et Porter, 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).

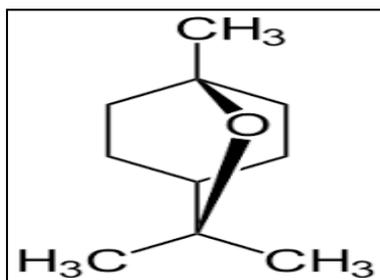


Figure 13: structure de base des terpènes (Benaissa, 2011).

#### III.1.2.3.1. Classification de terpènes

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en  $C_{10}$ , les sesquiterpènes en  $C_{15}$ , les diterpènes en  $C_{20}$ , les triterpènes  $C_{30}$ , et les tétraterpènes  $C_{40}$  (Guignard, 1996).

##### - Monoterpènes

Les monoterpénoïdes sont des composants majeurs des arômes de plantes. Ces produits naturels volatiles, appelés huiles essentielles, constituent la base de l'industrie de la parfumerie et des arômes (Hanson, 2003).

##### - Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des molécules à 15 atomes de carbone constituées de trois unités isopréniques et dérivant du Farnésyldiphosphate (Wink, 2003). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules.

##### - Diterpènes

Les di terpènes sont formés de quatre unités isoprènes ( $C_{20}H_{32}$ ) (Hernandez, 2005), il comprend les gibbérellines phytohormones du développement impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux tels que la germination (Graebe, 1987).

### - Triterpénoïdes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C<sub>30</sub> issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du scalène (Krief, 2003). Les stéroïdes sont dérivés de triterpène estérocycliques. Beaucoup de stérols se produisent sous forme de glycosides caractérisés par les saponines stéroïdiens (Hanson, 2003).

### - Saponines (Groupes des stéroïdes)

Le mot saponine est dérivé du mot latin *sapo*. Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (Hart *et al.*, 2008). Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (Wallace, 2004).

## III.2. Activité anti bactérienne

### III.2.1. Définition de l'activité antibactérienne

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires) (Kaufmann, 1997).

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 01µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (Nauciel et Vildé., 2005).

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou composé présente au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe ou tue le développement d'une bactérie. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien (Nicola et Daniel., 1998).

### III.2.2. Principales substances antibactériennes

#### ❖ Antibiotiques

L'élimination des microorganismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques, ces derniers sont synthétisés par des microorganismes (le plus souvent des Champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Elghozi et Duval, 1992). Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui ont été à l'origine de plus grands succès de la médecine. En effet, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection des souches bactériennes multi résistantes et donc a évoqué un problème de santé publique. Pour cette raison, plusieurs chercheurs s'orientaient vers de nouveaux substituts notamment les végétaux qui représentent une source d'inspiration dans les recherches médicales (Ali-shtayeh *et al.*, 1998). Si la découverte et l'utilisation des antibiotiques ont été à l'origine des plus grands succès de la médecine, aujourd'hui, l'émergence et la diffusion des bactéries multi-résistantes dans les populations humaines sont devenues des problèmes de santé publique très préoccupants (Lozniewski et Rabaud, 2004).

### III.2.3. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

#### III.2.3.1. *Staphylococcus aureus*

##### III.2.3.1.1. 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  $\mu\text{m}$ . *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 ( $\alpha$  ou  $\beta$  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 ( $\alpha$ -hémolysine) (Alioua, 2015).

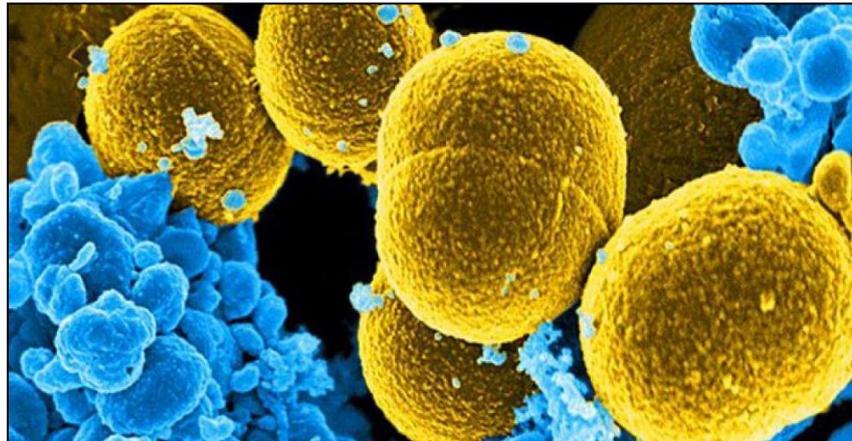


Figure 14 : l'espèce de germe *staphylocoques aureus* (Alioua, 2015).

#### III.2.3.1.2. Taxonomie

Selon la 09 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 (coefficient de chargaff) , dans le phylum des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Bacillales et de la famille de Staphylococcaceae (Belkacem, 2017).

Tableau 08:Classification de *Staphylococcus aureus* (Belkacem, 2017).

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

### III.2.3.1.3. 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 09 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Davido, 2010).

Facteur de virulence	Mécanisme d'action
Composants de l'enveloppe	
Capsule	Résiste à la phagocytose et diminue l'accès des neutrophiles à la bactérie, lui donnant le pouvoir de persistance dans le tissu infecté.
Facteurs d'adhésion	
Protéine A(FnbpA)	Cette protéine s'adhère au fibrinogène et au plasma de l'hôte ce qui favorise l'attachement de <i>S. aureus</i> . D'autre part la protéine A se lie sur la région Fc des Ig G dans une mauvaise orientation ce qui Perturbe l'opsonisation et la phagocytose.
Biofilm	La formation du biofilm par les souches de <i>S.aureus</i> procure à cette dernière une persistance et une dispersion dans

	l'environnement et une meilleure résistance.
Enzymes	
Coagulase	La liaison du Clumping factor au fibrinogène du plasma et sa transformation en fibrine coagule le plasma de l'hôte ce qui favorise la dissémination du germe et sa résistance à la phagocytose.
Toxines	
Leucocidine Pantonvalentine (PVL)	S'insère sur la membrane cytoplasmique des leucocytes et forme des pores. Elle est 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 cytolitique 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 $\alpha$ , IFN $\beta$ ) à des niveaux toxiques ce qui cause une altération des organes.

#### III.2.3.1.4. 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 tariés 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).

### III.2.3.2. *Escherichia Coli*

#### III.2.3.2.1. 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).



Figure 15 :l'espèce de germe *Escherichia coli* (Zhar, 2011).

#### III.2.3.2.2. Caractéristiques

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des Entérobactériaceae, appartenant à la classe des Protéobactéries (tableau 10). Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à Gram négatif, aéro-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

### Chapitre III Métabolites Secondaires et l'Activité Antibactérienne

péritriche (quelques souches rares sont devenues immobiles) et non sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires. *E.coli* est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole et possède différentes enzymes telles que la lysine décarboxylase (LDC) et l'ornithine décarboxylase (ODC). La majorité des souches fermentent le sorbitol. La plupart des caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des *E.coli* en dehors du sérotype O157 :H7 qui ne fermente pas le sorbitol (Baliere, 2016).

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

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

Tableau 10: 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>

### III.2.3.2.3. Pathogénicité et facteurs de virulence

#### III.2.3.2.3.1. 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).

#### III.2.3.2.3.2. 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).

#### III.2.3.2.4. 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* résistant aux Carbapénèmes est devenue un grave problème de santé publique dans le monde entier (Tian *et al.*, 2020).

### III.2.3.3. *Bacillus cereus*

#### III.2.3.3.1. 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).



Figure 16: l'espèce de germe *Bacillus cereus* (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 11). 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	Bacillus
Espèce	<i>Bacillus cereus</i>

### III.2.3.3.2. Pathogénicité et facteurs de virulence

#### III.2.3.3.2.1. 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 qu'*Escherichia coli*. Cette bactérie tire son pouvoir pathogène de sa capacité d'adaptation aux conditions environnementales et de sa capacité à sécréter des toxines. Alors que le syndrome émétique a pour agent étiologique une toxine unique, le syndrome diarrhéique est probablement causé par la combinaison et l'action synergique de plusieurs toxines et enzymes de dégradation (Yobouet, 2016).

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

➤ La première forme, la période d'incubation est de 8 à 16 heures et le symptôme exclusif ou principal est une diarrhée persistant de 12 à 14 heures. De nombreux aliments peuvent être à l'origine d'un tel syndrome : viandes, légumes, sauces... etc.

➤ La seconde forme, la période d'incubation n'est que de 1 à 5 heures et les vomissements, cédant en 6 à 24 heures, sont au premier plan. Les intoxications alimentaires provoquées par *B. cereus* ne s'accompagnent pas de fièvre. L'évolution est toujours bénigne et ne nécessite le plus souvent aucun traitement particulier.

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

### III.2.3.3.2.2. 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).

### III.2.3.3.3. 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* résistants 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).

### III.2.3.4. *Pseudomonas aeruginosa*

#### III.2.3.4.1. 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).

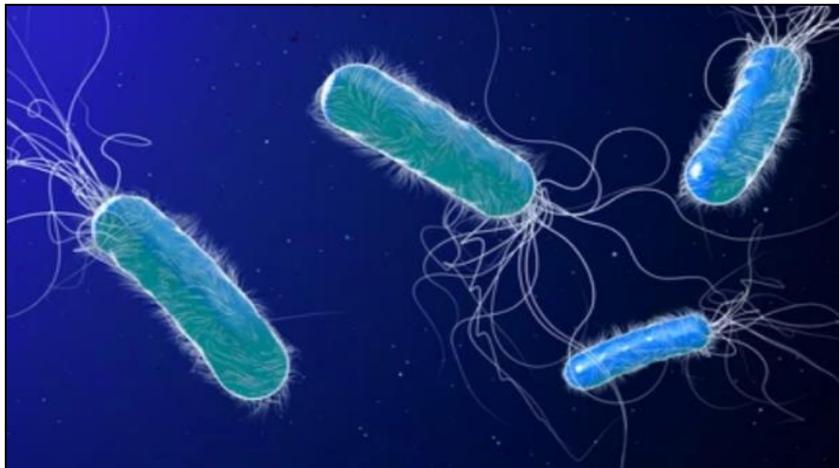


Figure 17: l'espèce de germe *Pseudomonas aeruginosa* (Jonathan, 1999).

### III.2.3.4.2. Classification

Le genre *Pseudomonas* appartient au phylum des Protéobactéries, à la classe des Gammaprotéobactéries, de l'ordre des Pseudomonadales, et la famille des Pseudomonadaceae (tableau 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>

### III.2.3.4.3. 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

### Chapitre III Métabolites Secondaires et l'Activité Antibactérienne

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>	

#### III.2.3.4.4. 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).

### III.2.3.4.5. 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  $\beta$  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 02*

*Etude expérimentale*

# *Chapitre I. Matériels et Méthodes*

L'étude de l'espèce *Linum usitatissimum* L. a été menée dans le laboratoire du Centre Universitaire Abdelhafid Boussof-Mila au cours de la période 2021-2022.

## I.1. Matériels

### I.1.1. Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans notre étude porte sur les graines de lin, *Linum usitatissimum* L. Qui s'appellent localement « Zaria'at el ketan », achetées d'un magasin d'herboriste de la ville Mila.



Figure 18:les graines de lin (photo personnelle, 2022).

## I.2. Méthodes

### I.2.1. Préparation de matériel végétal

Les graines de *Linum usitatissimum* L. ont été nettoyées après essayé de filtré en suite séchage pendant 5 jours dans l'etuve à 37°C puis broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre est récupérée après tamisage et conservé dans des flacons en verre fermés hermétiquement et stockés à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur a 04°C jusqu'à utilisation.

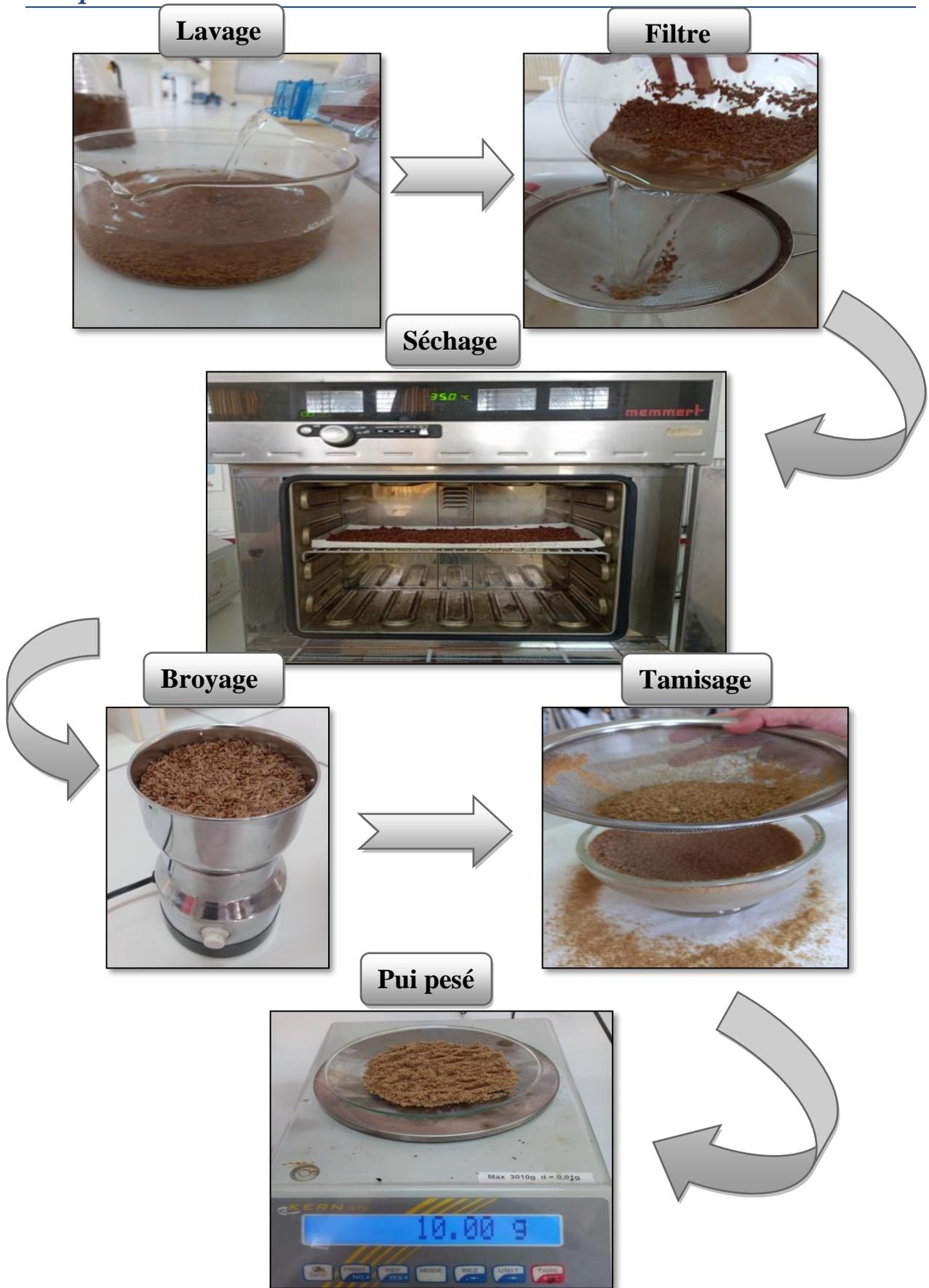


Figure 19 : Préparation de la poudre (Cliché personnel, 2022).

## I.2.2. Screening phytochimique

Le screening photochimique ou le criblage ; c'est ensemble des méthodes et des Techniques d'analyse des substances organique naturelles de la plante. Il représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents composés et groupes chimiques contenus dans un organe végétal, Ces groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines et les saponosides, ...etc (Lendvai *et al.*,2002). Les résultats obtenus ont été évalués comme suit :

(+) Test positif, (-) Test négatif, (±) Trace

## I.2.2.1. Tests préliminaires sur la poudre (drogue végétale):

Le protocole d'extraction consiste à peser 5 g du matériel végétal broyé puis les mettre dans 30 ml d'eau distillée et 70ml d'éthanol et laisser agir pendant 5 jours à température ambiante .Ensuite, l'extrait est soumis à une filtration, puis évaporé par rotavapeur.

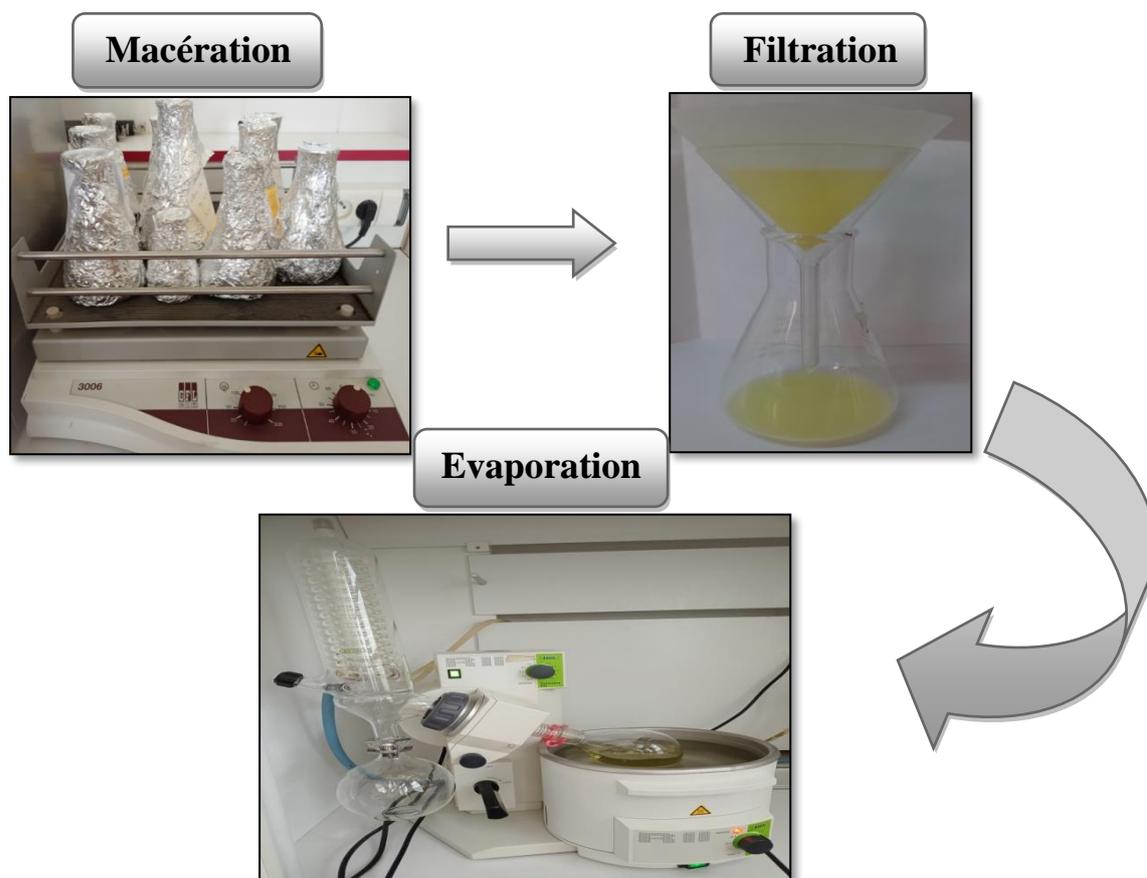


Figure 20 : protocole de l'extraction par la poudre (Cliché personnel, 2022).

➤ Recherche des Alcaloïdes :

Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 02 heures de 02 g de la poudre végétale dans 40 ml de HCl dilué à 01%, Ce mélange est ensuite filtré. Dans un tube à essai, introduire 05ml de filtrat et ajouter quelques gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'une couleur marron indique la présence des alcaloïdes (Benzahi, 2001 ;Chaouch, 2001).

➤ Recherche des flavonoïdes :

Pour le criblage des flavonoïdes, une solution à base de 5 g de poudre et 150 ml d'HCl (à 1%) a été préparée, après une macération de 24h, le mélange a été filtré. 5 ml du filtrat ont été ensuite récupérés puis rendus basiques par ajout progressif de KOH. L'apparition d'une couleur jaune atteste de la présence de flavonoïdes dans le milieu (Tadros, 1979).

➤ Recherche des Cardénolides

Pesé 01g de poudre sèche est macéré dans 20ml d'eau distillée pendant 03h après avoir filtré le mélange, prélever 10ml du filtrat l'extraire avec un mélange de 10ml de CHCl<sub>3</sub> et de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, évaporer la phase organique dans un bain de sable T° 90° C, après le précipité est dissout dans 03ml de CH<sub>3</sub>COOH glacial, ajoutant quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> suivi de 01ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré sur les parois du tube. L'apparition d'une couleur vert bleu dans la phase acide indique la présence des Cardénolides (Chaouch, 2001).

➤ Recherche des Terpènes et des Stéroïdes

Mettre 05g de poudres sont macéré dans 20ml d'éther de pétrole, après avoir filtré évaporer la phase organique dans un bain de sable T°90°C le résidu est dissout dans 0.5ml d'acide acétique en ajoutant 01ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, dans la zone de contact entre les deux liquides un cercle violé ou marron puis devient gris indique la présence des Stéroïdes et Terpènes (Solfo, 1973).

➤ Recherche des Anthraquinones libres

A 01 g de poudre, ajouter 10 ml de chloroforme et chauffé pendant 03 minutes. Filtrer à chaud et compléter à 10 ml si nécessaire. A 1 ml de l'extrait chloroformique obtenu ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres (Solfo, 1973).

➤ Recherche des composés réducteurs (les glycosides)

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, la solution est ensuite chauffée dans un bain Marie. L'observation d'une précipitation rouge brique indique la présence de composés réducteurs (Trease et Evans, 1987).

➤ Recherche des coumarines

Les coumarines sont révélées à partir de la macération de 20g de la poudre, dans 20 ml d'éthanol, après filtration on ajoute au 5 ml du filtrat 5 ml de KOH (10%) et 5 ml de HCl (10%), l'apparition d'une précipitation rouge brune révéla la présence des coumarines (Koffi *et al.*, 2009).

I.2.2.2. Tests préliminaires sur l'infusé :

Préparation de l'infusé à 10% : 10g de drogue en petits fragments dans 100ml d'eau bouillante, on filtre avec expression après 15mn d'attente

➤ Recherche des Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'extrait éthanolique, 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) diluée à 0,1%. L'apparition d'une coloration vert foncé indique la présence de tanins catéchiques ou bleu-vert indique la présence des tanins galliques (Harborne, 1998).

➤ Recherche des Saponosides

05 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée Pendant 2mn. La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des saponosides (Karumi *et al.*, 2004).

➤ Recherche des Anthocyanes

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10% avec le changement du pH :

Nous avons ajouté quelques gouttes d'HCl pur et nous avons observé le changement de la couleur, ensuite nous avons rajouté quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH le changement de la couleur indique la présence des Anthocyanes (Solfo, 1973).

➤ Recherche des Leuco-anthocyanes

Nous avons pris 5ml d'infusé, mêlé de 4ml d'alcool chlorhydrique (éthanol/HCl pur 3/1 v/v). Après un chauffage au bain-marie à 50° pendant quelques minutes l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des Leuco-anthocynes (Solfo, 1973).

➤ Recherche des substances polyphénoliques

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction au chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) a été utilisée. Ainsi, à 2 ml de l'extrait est ajoutée une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%.

Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivées polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée (Békro *et al.*, 2007).

### I.2.3.Rendement et Composition chimique de l'extrait de lin

#### I.2.3.1.Extraction par Soxhlet (Selon Bentoumi et Boukhalifa, 2019)

##### I.2.3.1.1.Matériel 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, puis tamiser jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui est conservée au congélateur pour servir aux analyses chimiques.

##### I.2.3.1.2. 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.

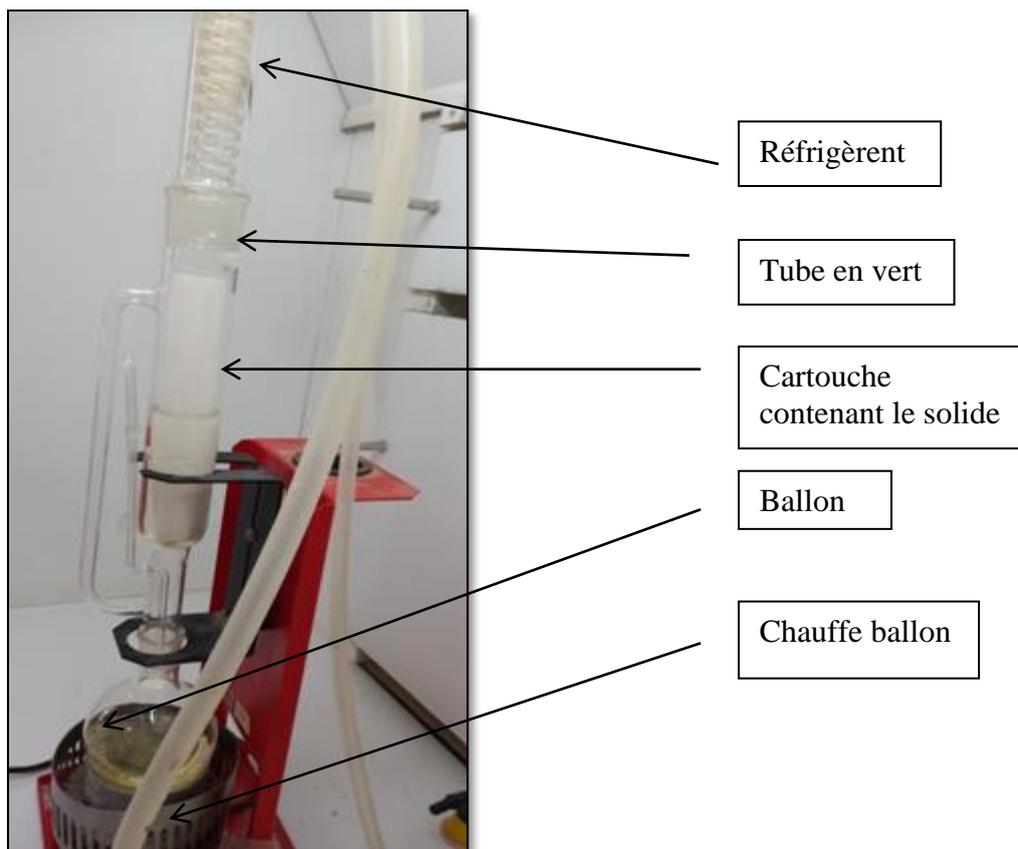


Figure 21 : Montage de l'extracteur soxhlet (Cliché personnel, 2022).

#### ➤ 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 pure (96%) dans le ballon et porté à ébullition (78C°). Ouvrir le robinet d'eau passant par le réfrigérant. Pendant 04 heures, on a fait l'extraction (Amirah&Reddy, 2012).

## I.2.3.1.3. Evaporation

La fraction obtenue par Soxhlet a été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur en fixant la température de l'évaporation à 40 C°, Cette dernière dépend de la température d'ébullition du solvant.



Figure 22: montage de l'évaporateur rotatif de laboratoire (Cliché personnel, 2022)

L'extrait sec (visqueux) est reprisé dans de l'éthanol absolu (10ml) puis conservé à 4 C° jusqu'à l'utilisation.

## I.2.3.2. Extraction des polyphénols

## I.2.3.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique

Une quantité de 10g de la poudre est macérée dans une solution de méthanol/eau (70 : 30,V/V) sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2 à 3 jours, après filtration, le filtrat obtenu est soumis ensuite à une évaporation par rotavapeur permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur jaune claire, qui est considéré comme étant le résidu sec, qui est ensuite stocké dans des boîtes de Pétries en verre fermés hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

## I.2.3.2.2. Préparation de l'extrait aqueux

Pour préparer un extrait aqueux, une quantité de 10g de broya de *Linum usitatissimum* L. est macérée dans 100 ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant 24 h à une température ambiante. La solution obtenue est filtrée à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est ensuite évaporé à une température de 40 °C pour éliminer l'eau. Le résidu sec obtenu est conservé dans un flacon opaque à basse température jusqu'à leur utilisation.

### I.2.3.3.Extraction des huiles fixes

#### I.2.3.3.1. Extraction par éthanol

L'huile des graines de lin a été obtenue à partir de la macération de 50 g de la poudre dans 200 ml de l'éthanol sous agitation mécanique pendant une nuit à une température ambiante, puis séparation des deux phases (Surnageant du culot). Le surnageant est évaporé dans le rotvapeur, puis conservée l'huile obtenue à 4°C à l'abri de l'air et de la lumière (Irshad *et al.*, 2012).

#### I.2.3.3.2. Extraction par pressage

Les graines de lin ont été lavées avec l'eau courante pour éviter d'éventuelle contamination, ensuite séchées dans un endroit à l'abri de lumière. Les graines de lin ont été écrasées un peu d'eau froide a été ajouté et le mélange obtenu a été versée dans une compresse stérile puis pressé pour machine mécanique. L'huile obtenue a été stockée dans des flacons en verre bien remplis, hermétiquement fermées et gardaient au frais à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

#### I.2.3.4. 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).

#### I.2.4. Activités antibactériennes

Ce test nécessite un travail dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter les problèmes de contamination (Treki *et al.*, 2009). En outre, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 15 minutes (Hayes et Markovic, 2002).

## ➤ Principe

C'est une technique basée sur l'application des disques, imprégnés des extraits à tester sur la surface de gélose préalablementensemencée par les bactéries choisies. L'activité antibactérienne se manifeste alors par des zones d'inhibition autour des disques.

## ➤ Souches bactériennes testées

Quatre souches bactériennes de références ont été testées : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*, elles proviennent de laboratoire Laghouat Oum Elbaouaghi.

Tableau 14 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Famille	Genre et espèce	Gram	Référence
Enterobacteriacées	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC11303
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC25923
Pseudomonadacées	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC27853
Bacillaceae	<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC10987

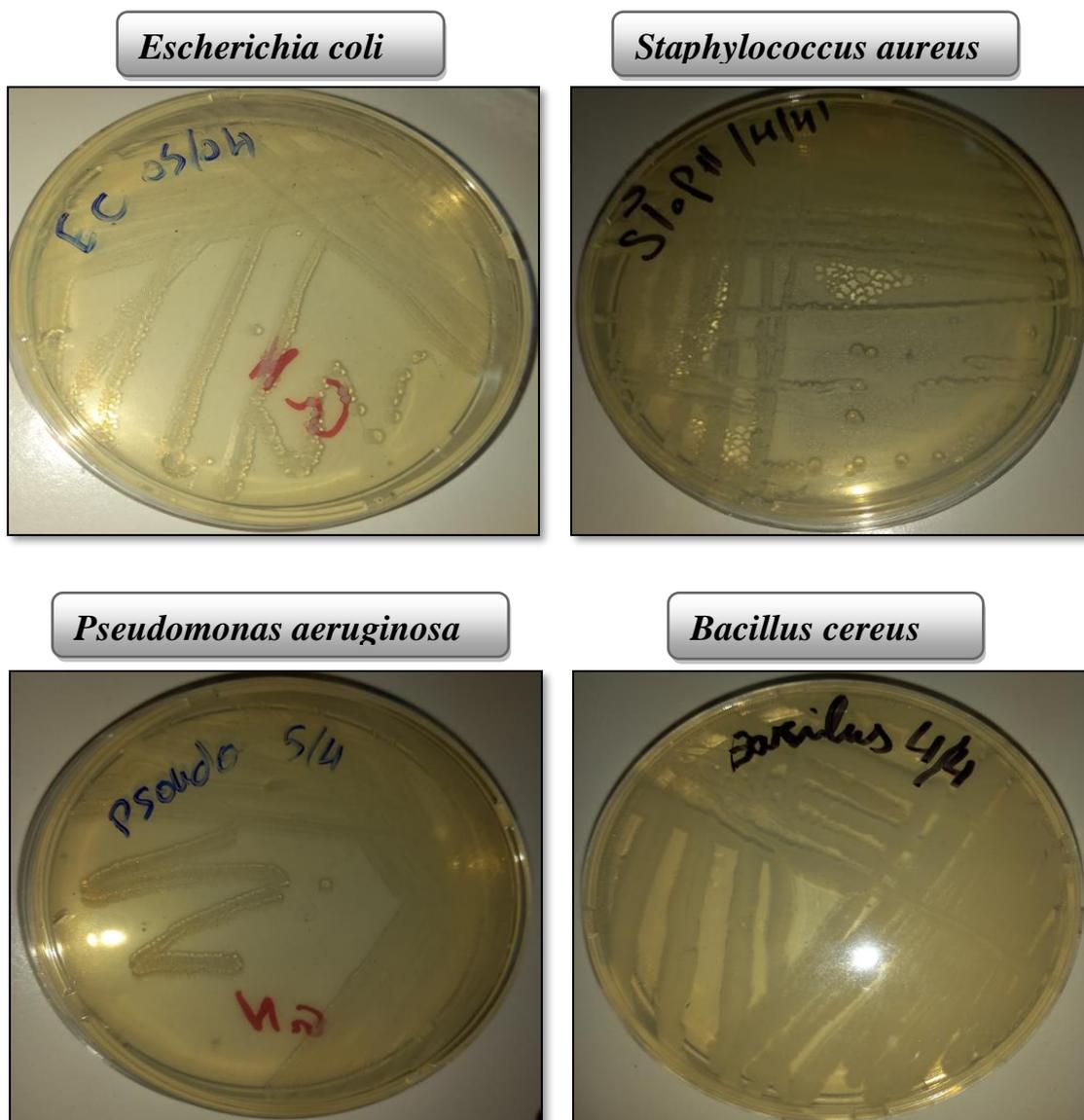


Figure 23 : Souches bactériennes testées (Cliché personnel, 2022).

➤ L'antibiotique utilisé

Pour valoriser l'activité antibactérienne, on a utilisé deux types d'antibiotique comme témoins positifs : la Gentamicine (CN<sub>10</sub>) et Cotrimoxazol (SXT<sub>25</sub>).

I.2.4.1. Préparation de milieu de culture

I.2.4.1.1. Le milieu MH (Mueller Hinton)

Le milieu de culture approprié à cette étude est la gélose Muller-Hinton préparé comme suite :

38 g de gélose Muller-Hinton sont dispersés dans un litre d'eau distillée puis bouillis sous agitation jusqu'à la dissolution complète. Le milieu est ensuite autoclavé à 121°C pendant 15 minutes.

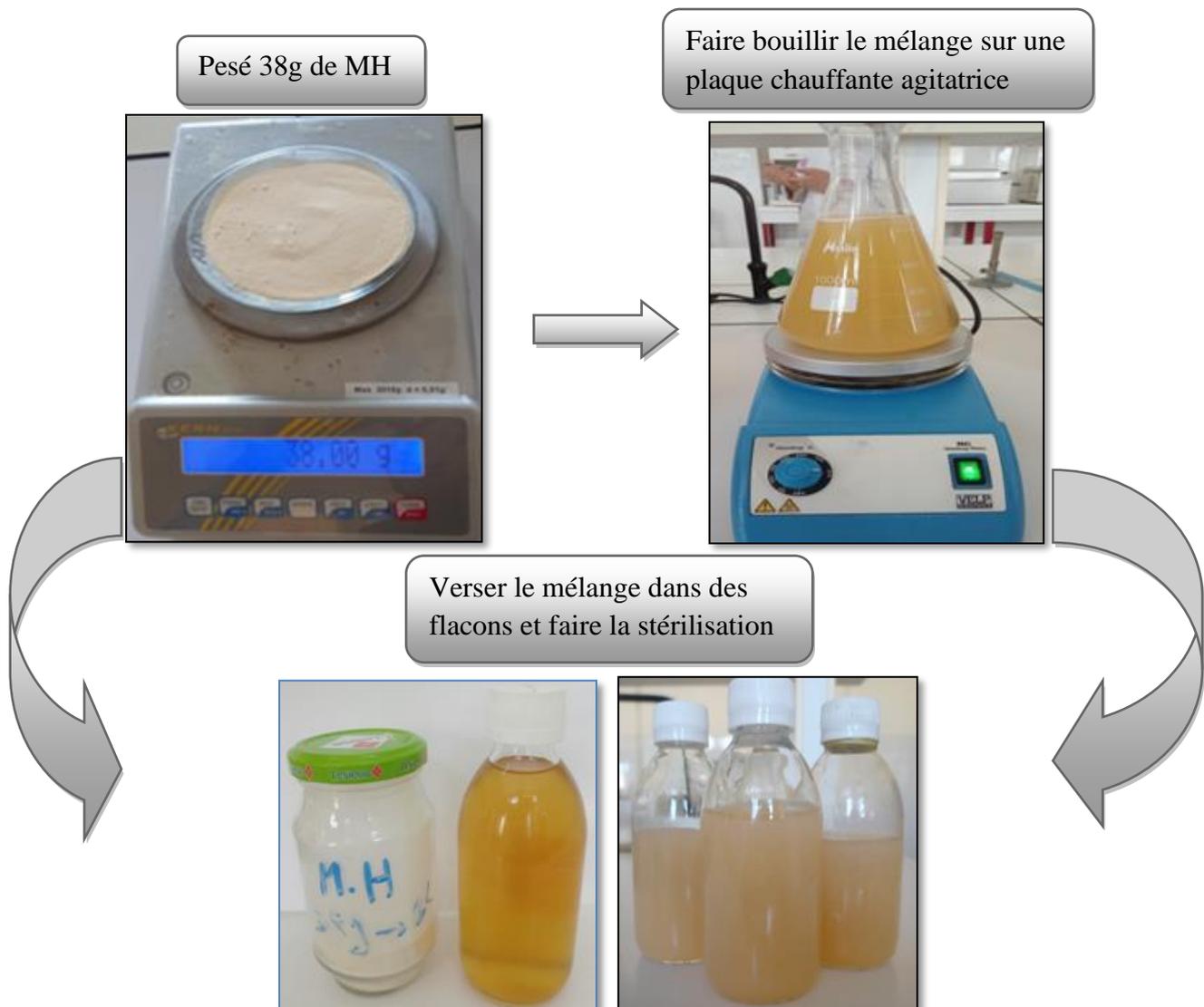


Figure 24 : Préparation du milieu MH (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.1.2. Le milieu BN (bouillon Nutritive)

Il a été préparé pour le but de la réactivation et l'entretien des souches bactériennes par l'ajout de 5g de BN à 01 L d'eau distillé sous agitation pendant quelques minutes, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vesse.

- (1) Peser 5g de BN.
- (2) Faire bouillir le mélange sur une plaque chauffante agitatrice.
- (3) Verser le mélange dans des flacons et faire la stérilisation.

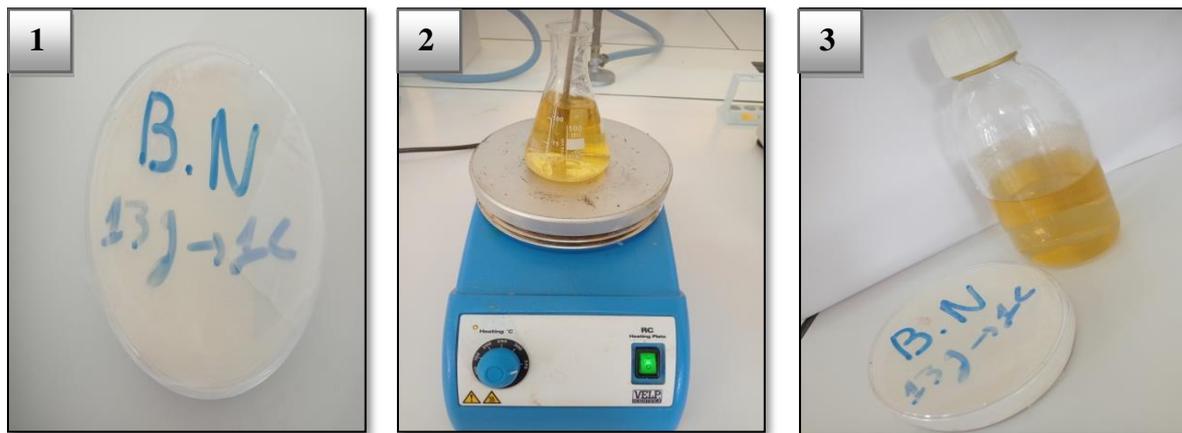


Figure 25 : Préparation du milieu BN (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.1.3. Préparation de l'eau physiologique

L'eau physiologique est préparée pour l'ensemencement des souches. Elle est réalisée par solubilisation de 0.9g de NaCl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes et divisée dans des tubes en verre à visse.

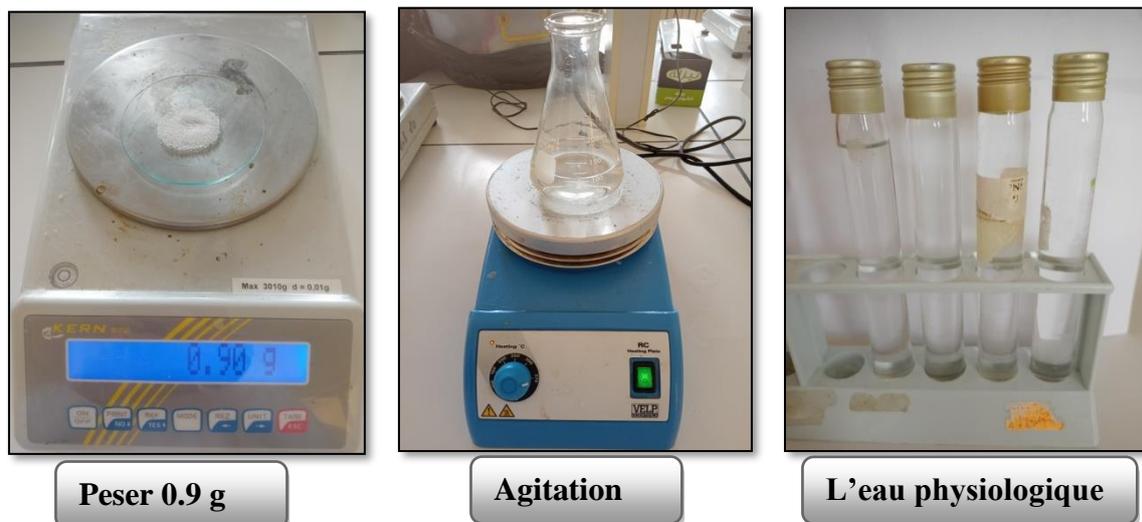


Figure 26: Préparation de l'eau physiologique (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.1.4. Préparation des disques d'aromatogramme

Feuilles de papier Wattman N °3 sont coupées en disques de 6 mm de diamètre. Ces disques sont ensuite mis dans un tube à vis, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation (Figure 27).



Figure 27: des disques de papier d'wattman 03 coupés et stérile (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.2. Test des activités antibactériennes *in vitro*

##### I.2.4.2.1. Réactivation des souches bactériennes

Les souches bactériennes sont réactivées dans des tubes à vis contenue de BN stérile et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance.

##### I.2.4.2.2. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive en boîte de pétri. A l'aide d'un écouvillon, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien (Figure 28).

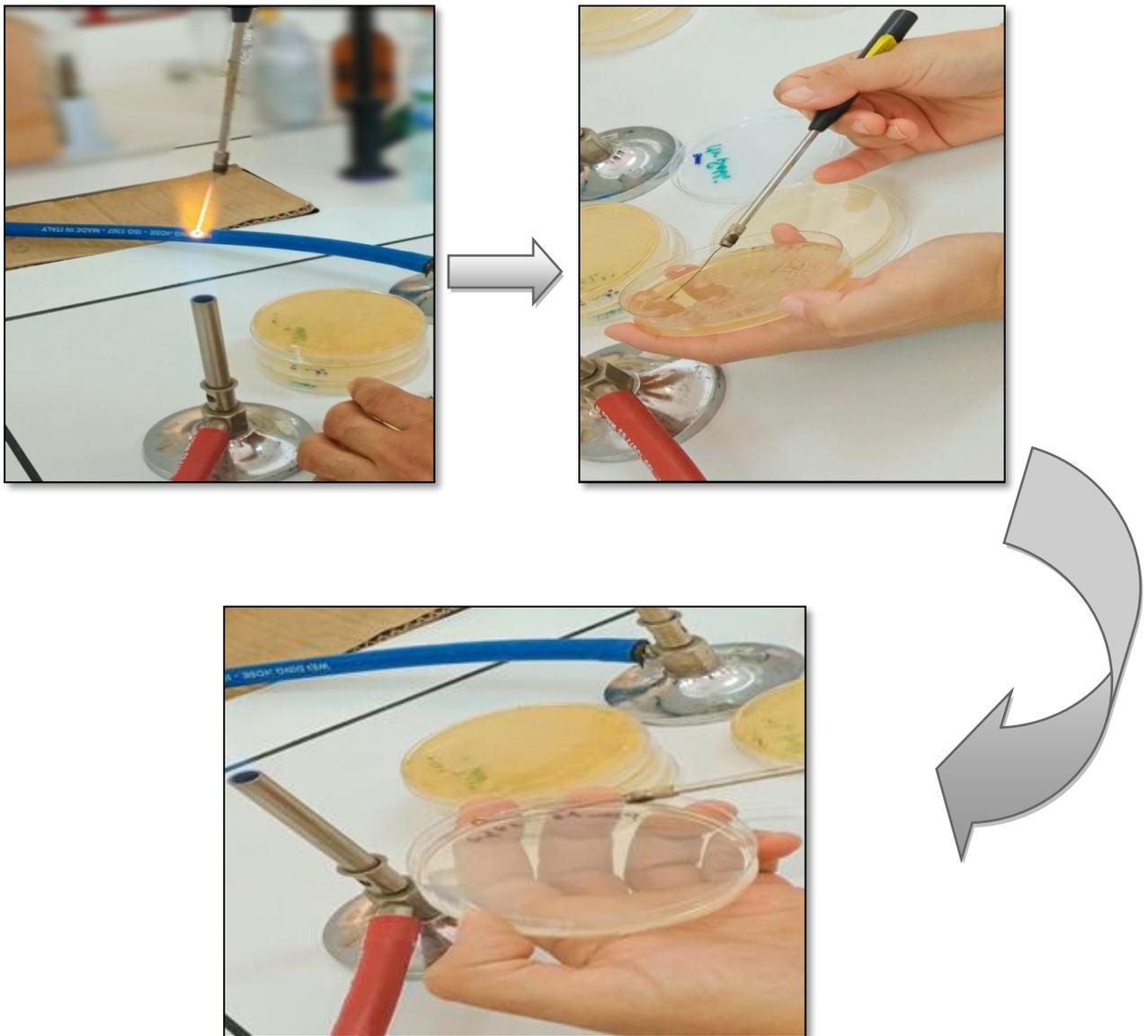


Figure 28: le repiquage des bactéries sur la gélose nutritive (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.2.3. Préparations des dilutions des extraits

Les extraits ont été repris avec le diméthyle sulfoxyde (DMSO), les concentrations des extraits sont réalisées à l'analyse selon les méthodes suivantes :

- Solution mère (SM) : 10g d'extrait avec 100 ml (DMSO).
- 1/2 : 200 µl d'extrait (SM) avec 200 µl (DMSO) ,50%
- 1/4 : 200 µl d'extrait (1/2) avec 200 µl (DMSO) ,25%



Figure 29 : Les différentes dilutions des extraits (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.2.4. Préparation de milieu de culture (MH)

Le milieu de culture Muller Hinton stérile prêt à l'usage (liquéfier la gélose dans un bain-marie) ont été coulés dans des boîtes de Pétri stériles de 90mm de diamètre autour du bec Bunsen. L'épaisseur de la gélose est de 4mm répartie uniformément dans les boîtes et on a laissé quelques minutes 'jusqu'à la solidification.

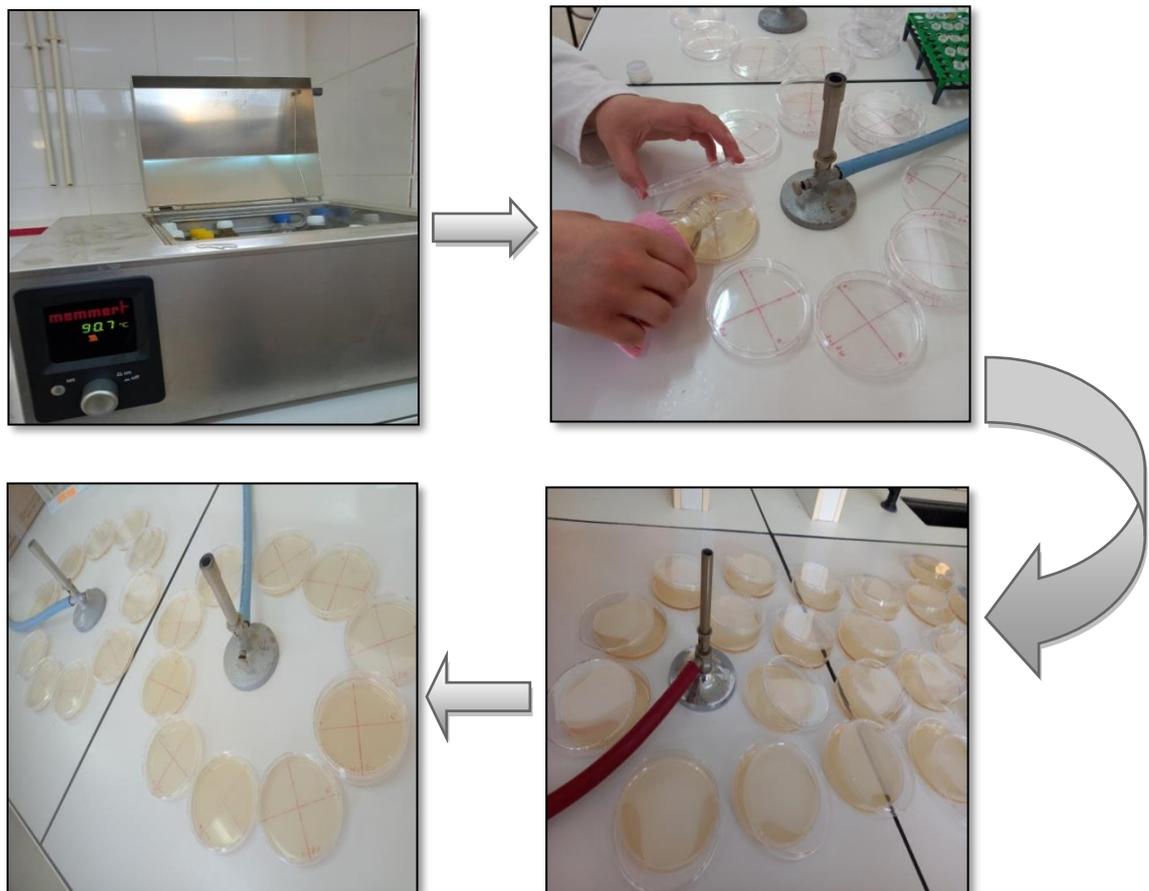


Figure 30: Le coulage des boîtes de Pétri (Cliché personnel, 2022).

## I.2.4.2.5. Préparation de l'inoculum bactérienne

- A l'aide d'une pipette pasteur, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques de chacune des souches bactériennes à tester préalablement cultivées dans la gélose nutritive.
- Décharger une pipette pasteur dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne. Pour cela la concentration des différentes solutions est évaluée par turbidité et est exprimée par la mesure des densités optique (entre 0,08 à 0,10 nm à une longueur d'onde de 625nm) sur un spectrophotomètre UV.
- L'ensemencement doit se faire en moins en quelques minutes après la préparation de l'inoculum.

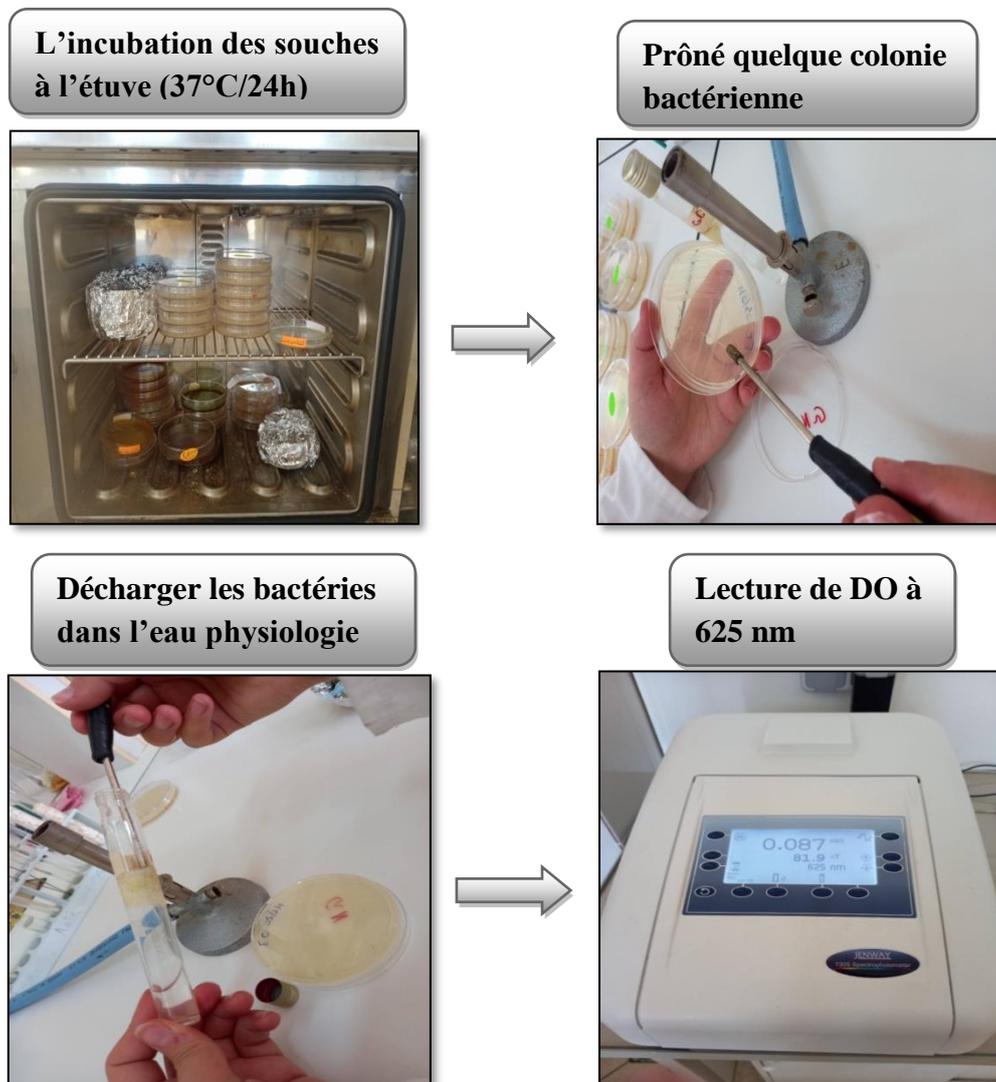


Figure 31:L'activation des souches et la préparation de l'inoculum (Cliché personnel, 2022).

## I.2.4.2.6. Ensemencement des bactéries

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec bunsen.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (sans contamination).
- Toute la surface de la gélose Mueller Hinton est étalée trois fois en tournant la boîte à chaque fois à environ 60° afin qu'on puisse écouvillonner partout autour du bord de la surface de la gélose.
- Finalement, les boîtes ont été fermées et laissées à côté pour l'étape suivante.

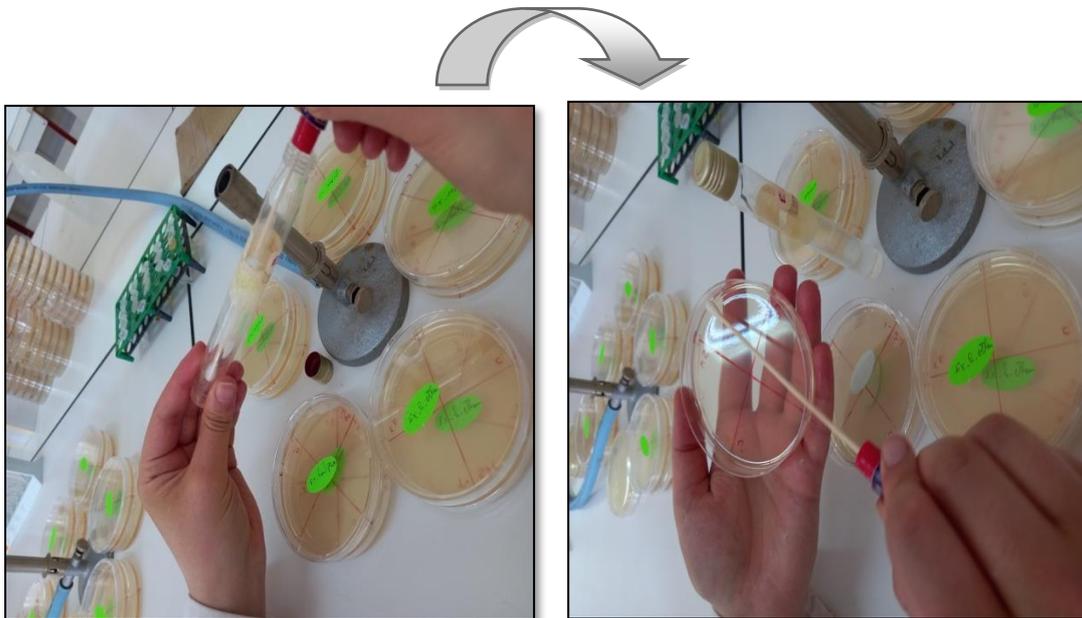


Figure 32: L'ensemencement des boîtes par écouvillonnage (Cliché personnel, 2022).

## I.2.4.2.7. Dépôt des disques

Après l'ensemencement des boîtes de Pétri et dans des conditions aseptiques, des disques de 6mm de diamètre de papier Wathman n°3 stériles, sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen (3 disques de l'extrait pour chaque boîte de Pétri (10µl) et 2 disques d'antibiotique (CN<sub>10</sub>) et (SXT<sub>25</sub>). pour contrôle positif et 1 disque de (DMSO) pour contrôle négatif (10µl).

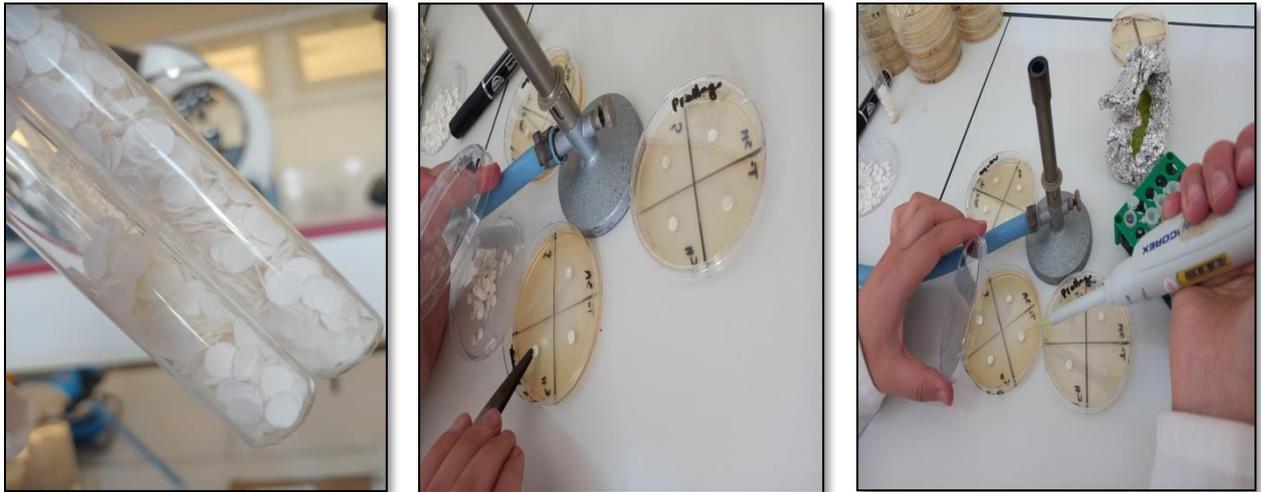


Figure 33: Le dépôt d'extraite sur les disques (Cliché personnel, 2022).

#### I.2.4.2.8. Incubation et lecture des résultats

Les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après l'incubation, l'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour de chaque disque. L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque, 6mm). Plus le diamètre de la zone est grand, plus la souche bactérienne est sensible.

## *Chapitre II*

### *Résultats et discussions*

## II.1. Screening phytochimique

## II.1.1. Résultats

Le Screening phytochimique qualitatif basé sur des réactions colorées ou des précipitations par des réactifs chimiques spécifiques sur les extraits de grains de lin à pour but de révéler les différentes familles de substances existantes dans les grains de la plante étudiée. Les résultats des tests phytochimiques sont représentés dans le tableau 15.

Tableau 15: Résultats de screening phytochimique

Test	Résultat
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Cardénolides	+
Stérols et triterpènes	+
Anthraquinones libres	-
Glucosides	+
Coumarines	±
Tanins	+
Saponosides	-
Anthocyanes	+
Leuco-anthocyanes	-
Polyphénols	+

(+) Test positif, (-) Test négatif, (±) Trace

□ Les alcaloïdes

La présence des alcaloïdes est confirmée par la présence L'apparition d'un couleur Marron au contact avec le réactif de Wagner (figure34) .



Figure 34 : Résultat du test des alcaloïdes (Cliché personnel, 2022).

□ Flavonoïdes

Pour ce test l'apparition de la couleur jaune claire dans l'extrait de (Lin) confirme leur richesse en flavonoïdes (figure 35).

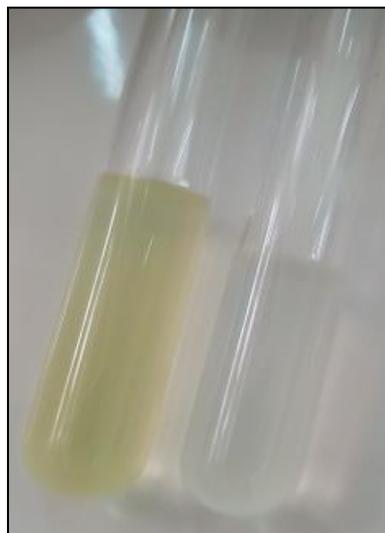


Figure 35 : Résultat du test des Flavonoïdes (Cliché personnel, 2022).

□ Cardénolides

Après l'ajout de quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 10 ml d'infusé une couleur vert bleu a indiqué la présence des cardénolides (Figure 36).

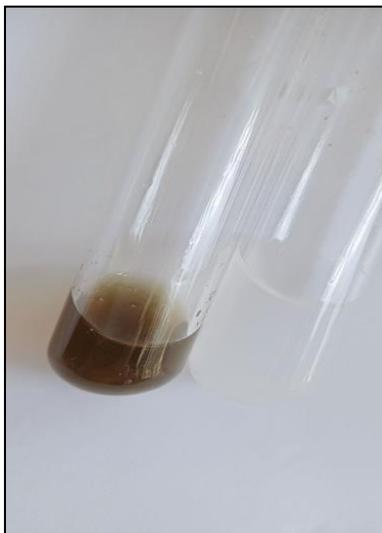


Figure 36 : Résultat du test des Cardénolides (Cliché personnel, 2022).

□ Terpènes et des Stérols

La présence d'un cercle violé ou marron puis devient gris à la zone de contact des deux liquides, révèlent la présence des Terpènes et des Stérols (figure 37).

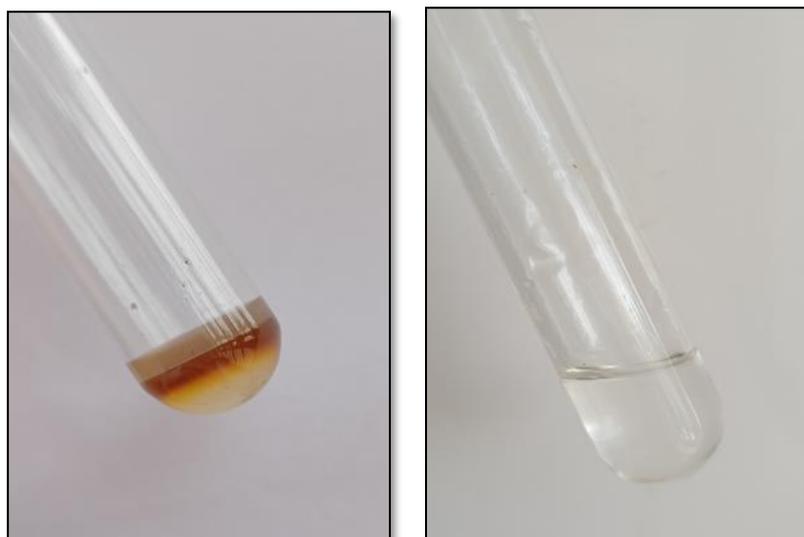


Figure 37 : Résultat du test des Stérols et Terpènes (Cliché personnel, 2022).

□ Les anthraquinones libres

Les résultats de test des anthraquinones libres (figure 38), ne révèlent pas la présence coloration rouge, cela confirme leur absence dans les graines de (Lin) (Figure 38).

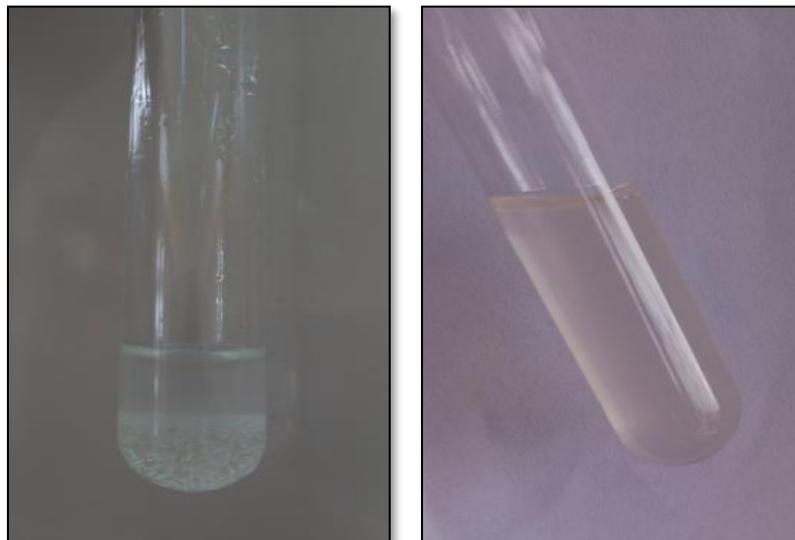


Figure 38 : Résultat du test des anthraquinones libres (Cliché personnel, 2022).

□ Les glucosides

L'apparition d'une précipitation rouge-brique (figure 39) indique la présence des glycosides (composés réducteurs) dans l'extrait de (Lin)(Figure 39).



Figure 39: Résultat du test des glucosides (Cliché personnel, 2022).

□ Coumarines

Le résultat du test des coumarines montre la présence de quelques traces des coumarines (figure 40).



Figure 40 : Résultat du test des Coumarines (Cliché personnel, 2022).

□ Les tanins

L'apparition d'une intensité de la couleur verte foncée dans l'extrait de (Lin), prouve la présence des tanins (figure 41).

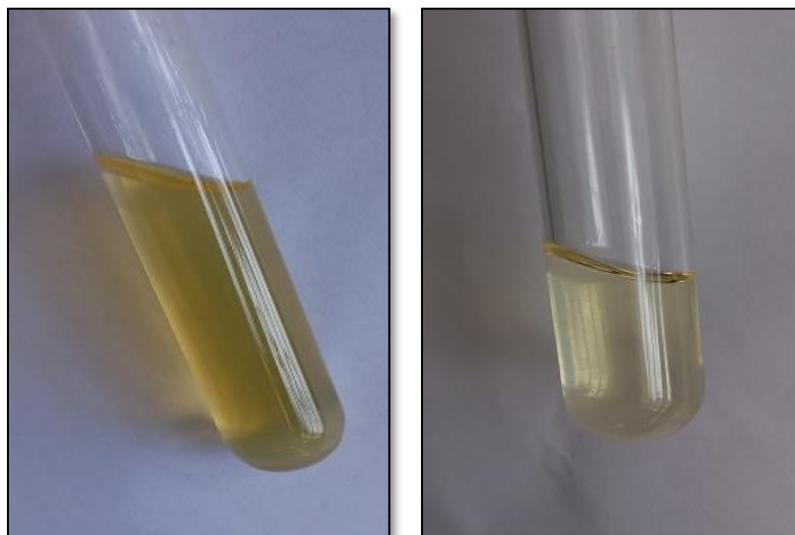


Figure 41: Résultat du test des tanins (Cliché personnel, 2022).

□ Saponines

Nous remarquons l'apparition d'une mousse non persistante avec une hauteur inférieure à 1 cm, ce résultat indique l'absence des saponines (figure 42).

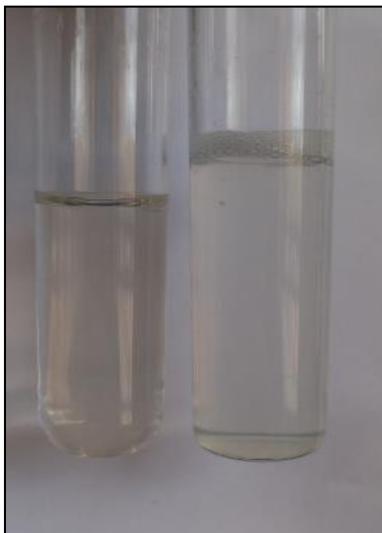


Figure 42 : Résultat du test des Saponines (Cliché personnel, 2022).

□ Les anthocyanes

Après l'ajout de quelques goutte de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10% à 05 ml d'infusé le changement de la couleur a indiqué la présence des anthocyanes (figure 43).



Figure 43 : Résultat du test des anthocyanes (Cliché personnel, 2022).

□ Leuco-anthocyanes

Les résultats de test Leuco-anthocyanes (figure 44), ne révèlent pas la présence coloration rouge cerise, cela confirme leur absence dans les graines de (Lin).



Figure 44 : Résultat du test des Leuco-anthocyanes (Cliché personnel, 2022).

□ Polyphénols

D'après le résultat du test l'apparition de la couleur verte montre la présence des composés phénoliques dans l'extrait de (Lin) (figure 45).

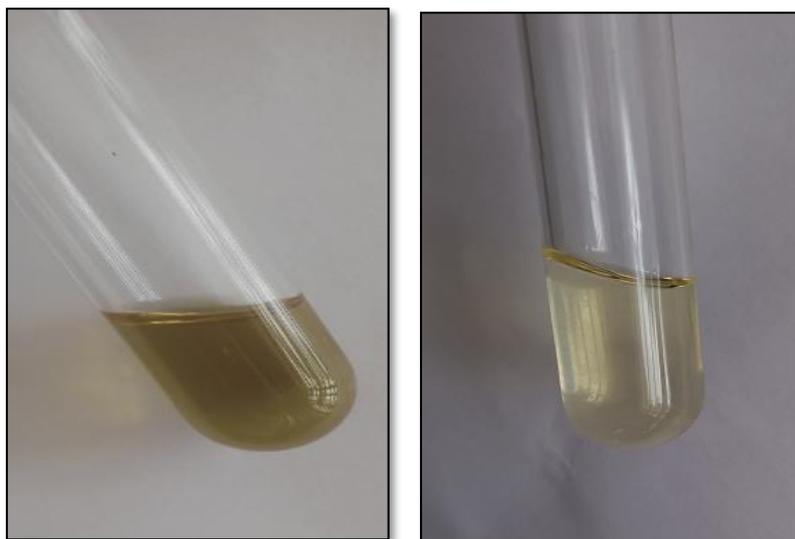


Figure 45 : Résultat du test des Polyphénols (Cliché personnel, 2022).

### II.1.2. Discussion

Les tests phytochimiques effectués sur les extraits de *Linum usitatissimum* L. révèlent la présence des flavonoïdes, des polyphénols, des alcaloïdes, des stérols et terpènes des tanins, des glucosides, des cardénolides, des anthocyanes et quelques traces des coumarines ; tandis que les tests des saponosides, leuco-anthocyanes et anthraquinones libre sont négatifs. Les mêmes résultats du screening phytochimique réalisés par (ALAchaher, 2018), ont montré que l'espèce *Linum usitatissimum* L. contient les flavonoïdes, glucosides, alcaloïdes. Mais ne contient pas les saponosides ce qui s'accordent avec nos résultats.

Les graines de *Linum usitatissimum* L. contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des stérols et des terpènes ; ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par (Zafar *et al.*, 2019).

## II.2. Rendement et Composition chimique de l'extrait de lin

### II.2.1. Résultats

#### II.2.1.1. Rendement de l'extrait de Soxhlet

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

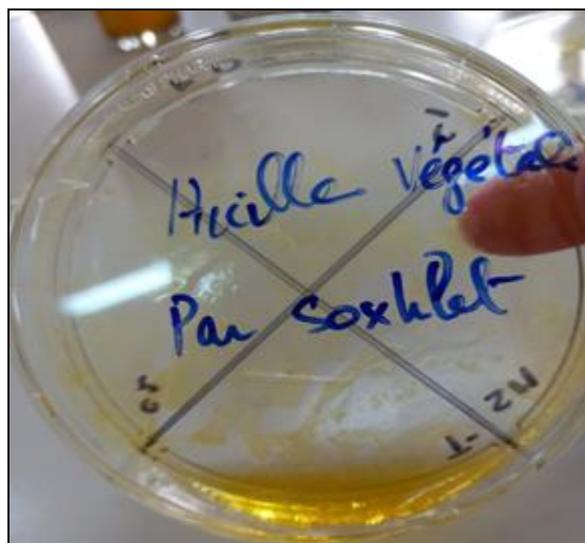


Figure 46: Extrait de Soxhlet après l'évaporation (Cliché personnel, 2022).

## II.2.1.2. Rendement des extraits composés phénolique

Les extraits ont été préparés par une macération à température ambiante du broyat des grains de *Linum usitatissimum* L. Celle-ci a été effectuée par des solvants présentant des polarités distinctes, à savoir l'eau, le méthanol-eau. Les extraits obtenus sont donc l'extrait aqueux (Ex.Aq) et l'extrait méthanolique (Ex.Meth).

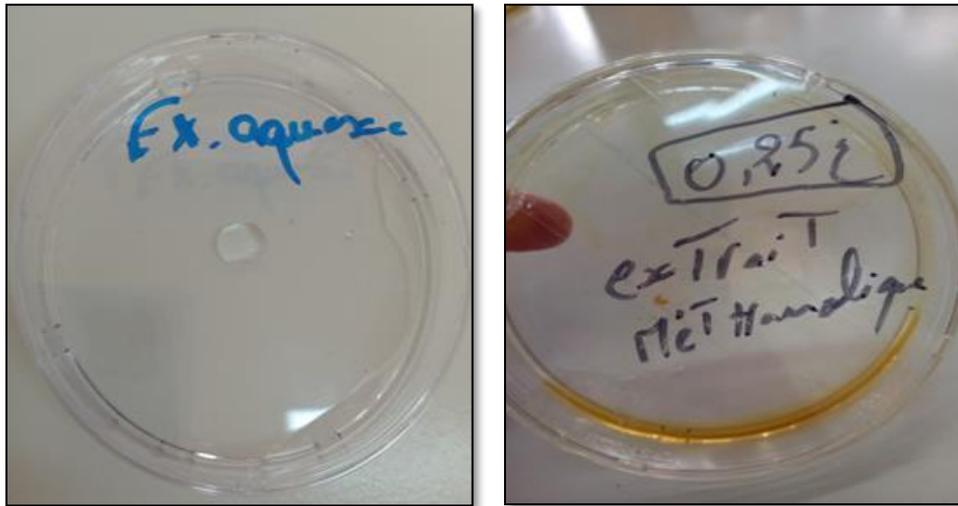


Figure 47: Extrait aqueux et extrait méthanolique après l'évaporation (Cliché personnel, 2022).

## II.2.1.3. Rendement d'extraction de l'huile fixe

L'huile fixe de graines de *Linum usitatissimum* L. a été obtenue par la méthode d'extraction en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction et par pressage mécanique.

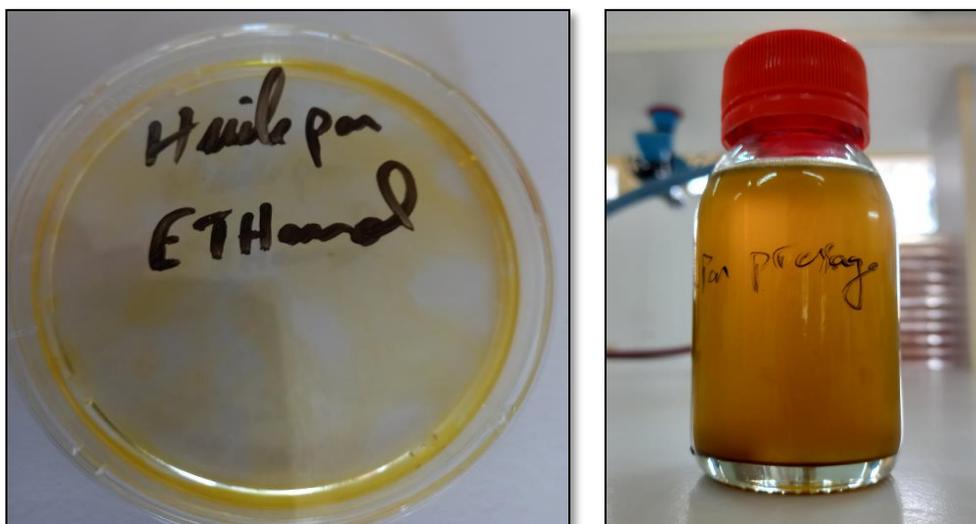


Figure 48 : Extrait d'huile fixe par éthanol et par pressage (Cliché personnel, 2022).

## II.2.1.3.1. Caractéristique organoleptique d'huile fixe extraite

La saveur des huiles fixes est similaire chez les deux extraits, cependant, la couleur différée d'un extrait à l'autre.

Tableau 16 : Caractéristique organoleptique de l'huile fixe

Extrait \ Caractère	Saveur	Couleur
H .F. à éthanol	Fort	Jaune d'orée
H .F. à pressage	Fort	Jaune d'orée foncé

Les résultats de rendement des l'extraits de *Linum usitatissimum* L. obtenu est mentionné dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Rendement des l'extraits

Extrait	Extrait de Soxhlet	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	Extraction par pressage	Extraction par éthanol
Masse de l'extrait récupérée (g)	6.08 g	1.55 g	0.25 g	54.69 g	5.18 g
Masse de la prise d'essai(g)	10 g	10 g	10 g	200 g	50 g
Rendement de l'extrait (%)	60.8 %	15.5 %	2.5 %	27.34 %	10.36 %

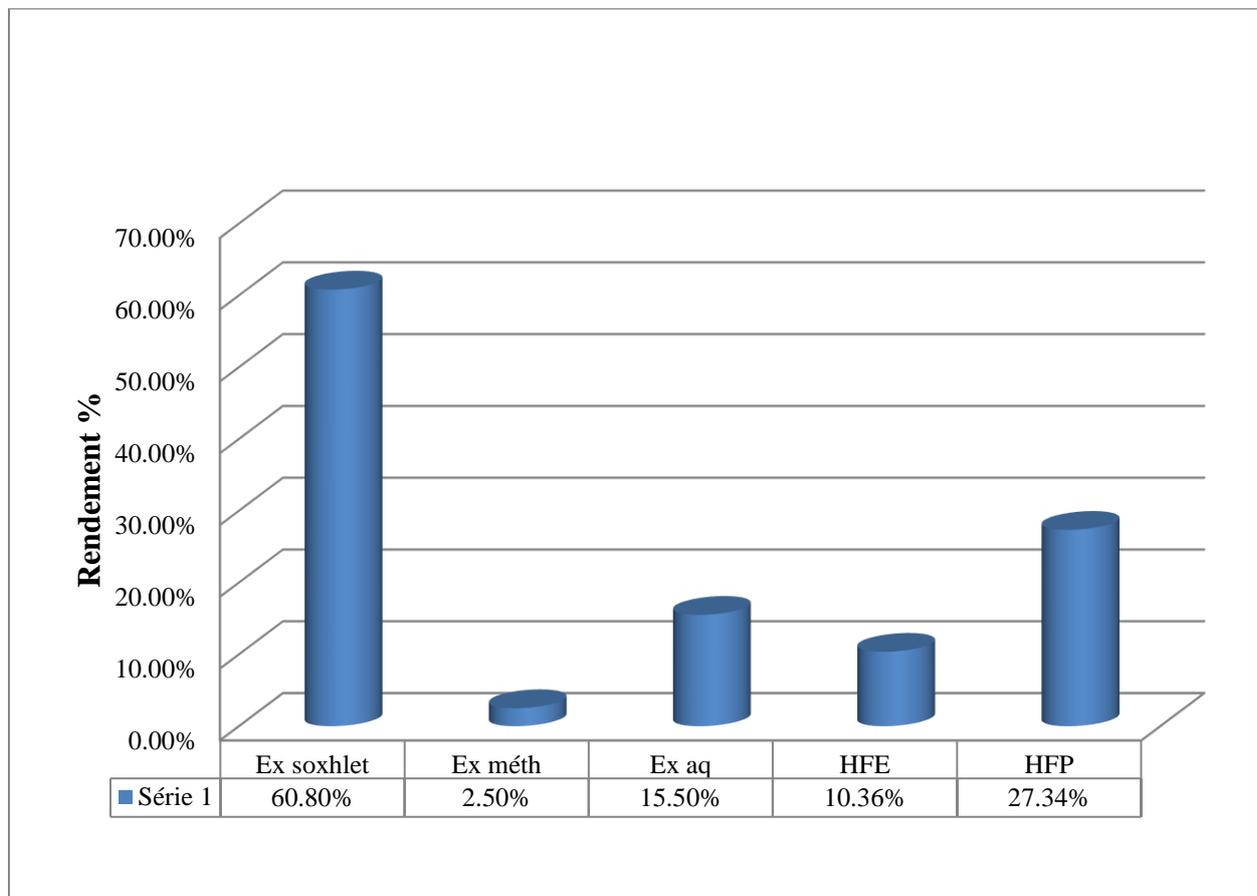


Figure 49:Rendement des extraits

Au vu des résultats rapportés dans la figure, il ressort qu'il y a un écart remarquable entre le rendement de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux de Lin. Ces rendements sont estimés de 2,5 % et de 15,5% respectivement.

L'observation des résultats des rendements d'extraction des huiles fixes (Tableau 17) montre que l'extraction par pressage à froid donne le meilleur rendement d'extraction:27,34%. En revanche, l'extraction d'éthanol donne le plus faible rendement 10,36 %.

### II.2.2. Discussion

L'huile de graines de *Linum usitatissimum* L. a été extraite par la méthode soxhlet en utilisant l'éthanol comme solvant. Dans notre travail le rendement, obtenu après quatre heures d'extraction est de 60.8 %. Ce rendement est Supérieure de celui obtenu par Amrouche (2013) qui est de 39.96 %.

L'opération de l'extraction des polyphénols par le méthanol et l'eau a permis d'obtenir un extrait avec un rendement de 2.5 % ,15.5 %. Ce rendement est inférieur de celui obtenu par Boukeria *et al.*, (2020) qui est de 38,49% et de 22,95% respectivement.

L'extraction des huiles fixes par éthanol et par pressage à permis d'obtenir un extrait avec un rendement de 10.36 % ,27.34 % successivement. Ce rendement est Supérieur de celui obtenu par Boukeria *et al.*, (2020) qui est 4,45% et de 7,14% respectivement.

On peut expliquer ces différences remarquables par les conditions climatique, édaphique et aussi l'état de maturité des graines de *Linum usitatissimum* L. utilisée dans notre expérimentation. La composition du lin varie selon la variété et les facteurs environnementaux (Daun *et al.*, 2003).

### II.3. Activités antibactériennes

Nous avons étudié in vitro, le pouvoir antibactérienne des différents extraits du graine du lin par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller- Hinton). Cette méthode est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et les extraits de plantes. (Gülçin *et al.*, 2004).Le DMSO a été testé comme solvant témoin, les résultats montrent que ce dernier est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches bactérienne Bouharb *et al.*, (2014).

L'activité antibactérienne des HF, des polyphénols et des extraits de soxhlet des graines de lin a été estimée en termes de diamètre de zone d'inhibition autour des disques contenant l'huile fixe ou le polyphénol ou extrait de soxhlet à tester vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*). La détermination de la zone d'inhibition permet de donner une estimation d'un caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne contre des extraits testés.

D'après Bouharb *et al.*, (2014), la sensibilité à l'extrait a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de 6 mm.
- Sensible (+) pour les diamètres de 6 à 14 mm.
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour des diamètres plus de 20 mm.

## II.3.1. Résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité ou la résistance des souches vis-à-vis des antibiotiques. Les résultats de l'antibiogramme qui sont donnés par la méthode de diffusion en disque des cinq souches testées sont représentés dans le tableau 18 et la figure 50ci-dessous.

Tableau 18 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) en présence des deux antibiotiques

Antibiotiques Bactéries	Témoin positif		Témoin négative
	Gentamicine (CN <sub>10</sub> )	Cotrimoxazol (Sxt <sub>25</sub> )	DMSO
<i>Escherichia coli</i>	16mm	23mm	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	15mm	20mm	0
<i>Bacillus cereus</i>	23mm	30mm	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30mm	13mm	0

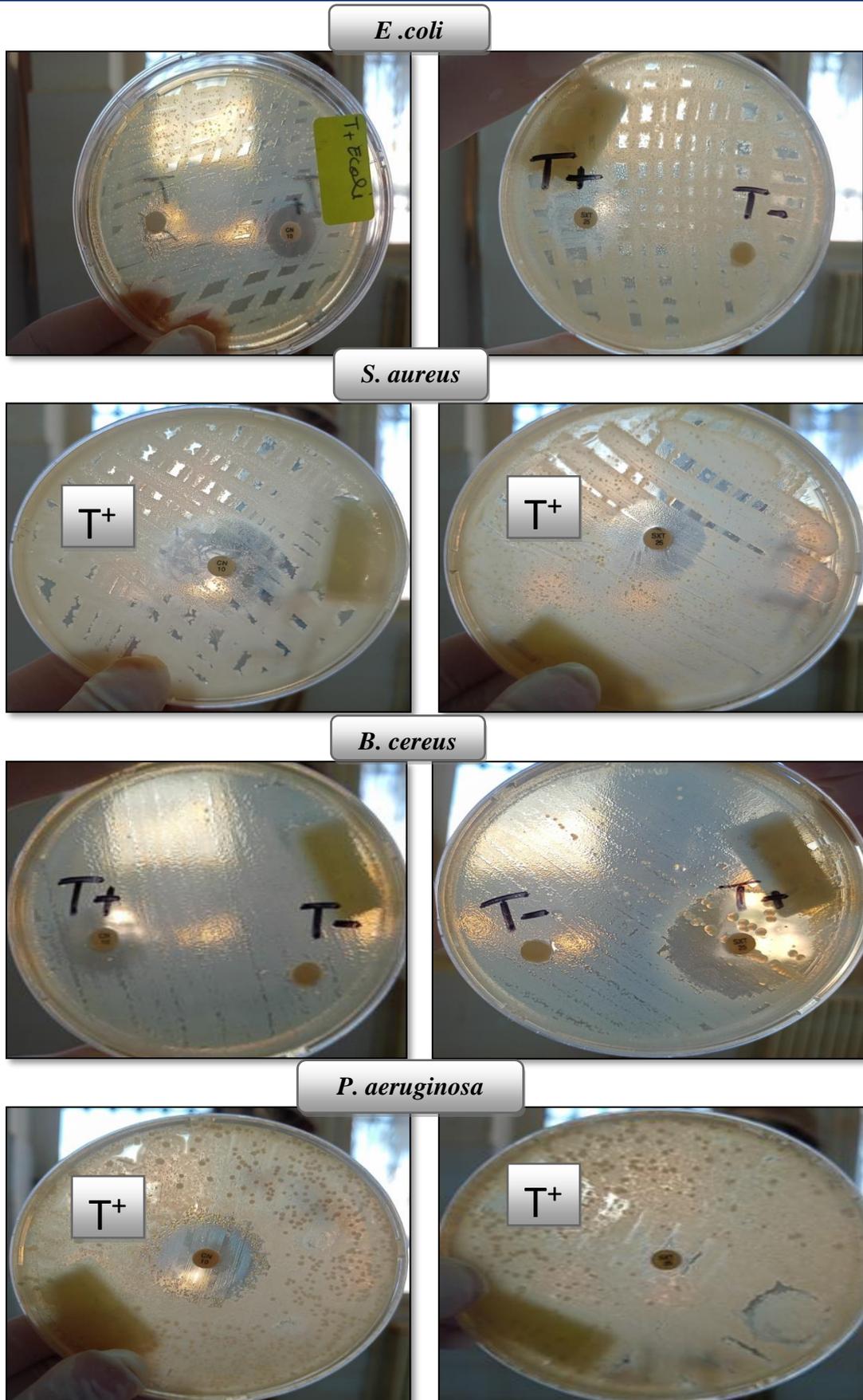


Figure 50: Effet des antibiotiques (CN<sub>10</sub> et SxT<sub>25</sub>) sur les bactéries étudiées (photo personnelle, 2022).

D'après les résultats suscités (Tableau 18 et Figure 50), on observe que les différentes souches bactériennes étudiées réagissent différemment aux deux antibiotiques testés (la gentamicine et cotrimoxazol). Le cotrimoxazol (SXT<sub>25</sub>) a été révélé extrêmement actif contre *B.cereus*, *E. coli* et *S. aureus* avec des zones d'inhibitions égale à 30mm, 23mm et 20mm respectivement alors qu'il a été moins actif contre *P.aeruginosa* avec de zone d'inhibition égale à 13mm.

Par ailleurs la sensibilité de souche *P.aeruginosa* à la gentamicine (CN<sub>10</sub>) testée a montré un meilleur résultat par rapport aux autres bactéries étudiées avec un diamètre de zone d'inhibition de 30mm. L'absence de la croissance bactérienne de *B.cereus* et *E. coli* et *S.aureus* montre que CN<sub>10</sub> exerce une activité vis-à-vis de ces bactéries avec des diamètres de zones d'inhibition qui sont respectivement de : 23mm, 16mm et 15mm.

### II.3.2. Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait brut de polyphénol et des huiles fixes et de l'extrait de soxhlet des graines de lin et de leurs dilutions

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la plante médicinale étudiée sont estimés en termes de diamètre (mm) de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de quatre souches bactériennes. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau (19).

Tableau 19: l'activité antibactérienne de l'extrait de lin

Φ (mm)	Extrait	Concentration des souches (mg/ml)	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>
		l'extrait soxhlet	SM	9	13	8
½			7	9	0	9
¼			0	9	0	8
l'extrait méthanolique		SM	0	10	0	8.5
		½	0	9	0	7
		¼	0	8	0	0
l'extrait aqueux		SM	0	9.5	0	8
		½	0	9	0	7

		¼	0	8	0	6.5
H.F par éthanol	SM		0	10	0	9.5
	½		0	8	0	8
	¼		0	7	0	7
H.F par pressage	SM		0	8	0	8.5
	½		0	7.5	0	0
	¼		0	7	0	0

Les résultats exprimés dans le Tableau (19) montrent que les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différents vis-à-vis d'extrait testés.

On remarque que les souches bactériennes *S. aureus* et *B. cereus* sont présentes comme les plus sensibles aux l'extrait de lin quel que soit la dose. Alors que les souches bactériennes *E. coli* et *P.aeruginosa* sont sensible aux l'extrait (soxhlet) mais sans résistant a extrait (méthanolique, aqueux, H.F.E , H.F.P).

➤ Pouvoir antibactérienne de lin vis-à-vis *Escherichia coli*

L'effet antibactérien des cinq extraits d'*Linum usitatissimum* L.à été remarqué vis-à-vis d'*E.coli*. Leurs diamètres de zones d'inhibition varient de (7-9) mm pour le extrait soxhlet, Par contre les extraits (méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P) ne montre aucuns effets inhibiteurs contre *E.coli* avec toutes les dillution (Figure 51).

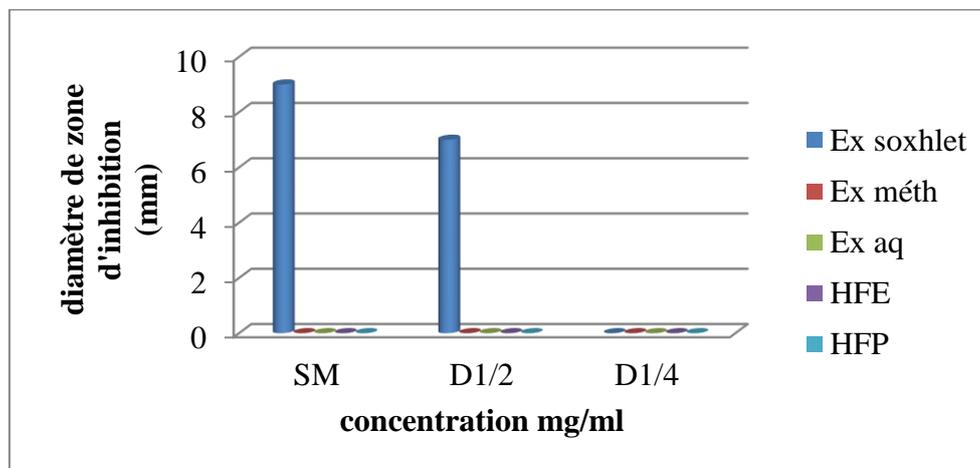


Figure 51: Le diamètre des zones d'inhibition des différentes extraits de *Linum usitatissimum* L. vis-à-vis la souche *E.coli*.

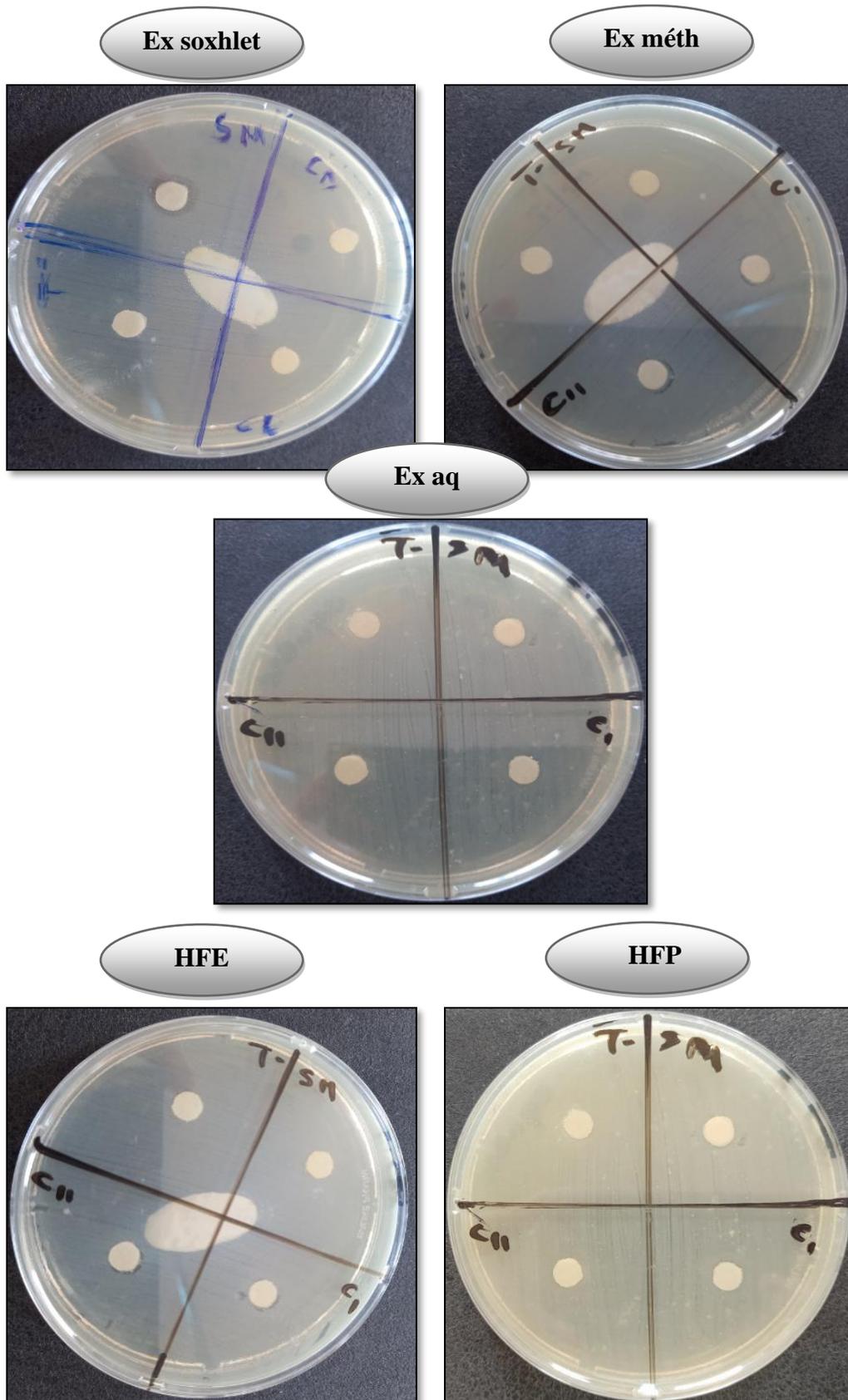


Figure 52 : Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *E.coli* (Cliché personnel, 2022).

➤ Pouvoir antibactérien de lin vis-à-vis *Staphylococcus aureus*

L'effet antibactérien des cinq extraits de *Linum usitatissimum* L. a été remarqué vis-à-vis la souche *S. aureus*. Leurs diamètres de zones d'inhibition varient de (9-13) mm, de (8 - 10) mm, de (8-9.5) mm, de (7-10) mm et de (7-8) pour l'extrait de soxhlet, méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P respectivement. L'extrait de soxhlet présente le meilleur effet antibactérien avec la plus grande zone d'inhibition enregistrée contre *S. aureus* de 13 mm (Figure 53).

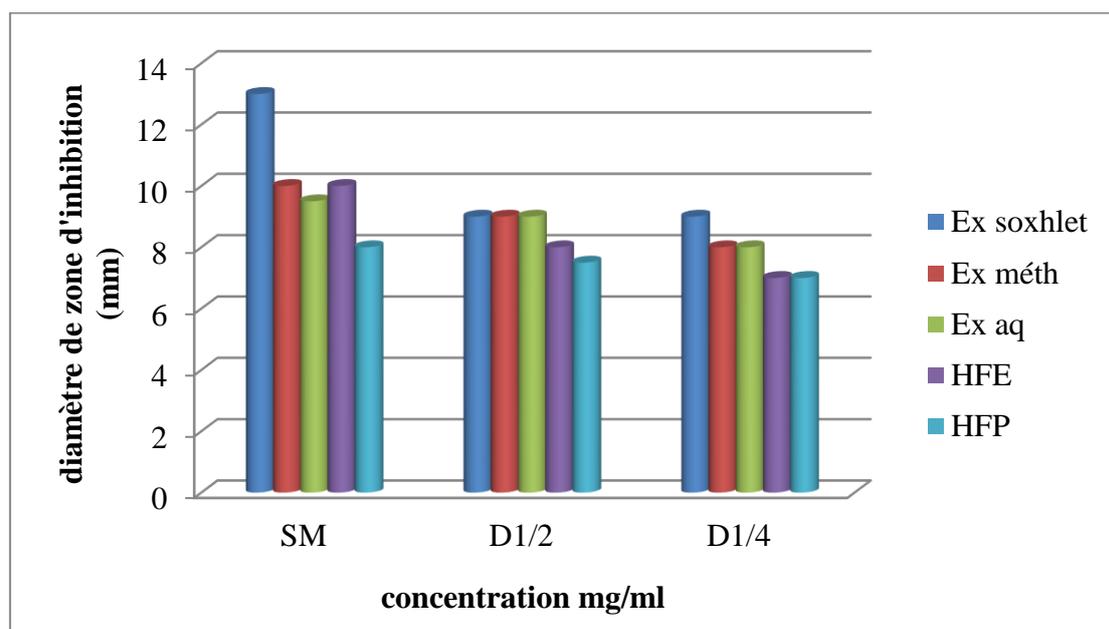


Figure 53 :Le diamètre des zones d'inhibition des différents extraits de *Linum usitatissimum* L. vis-à-vis la souche *S.aureus*.

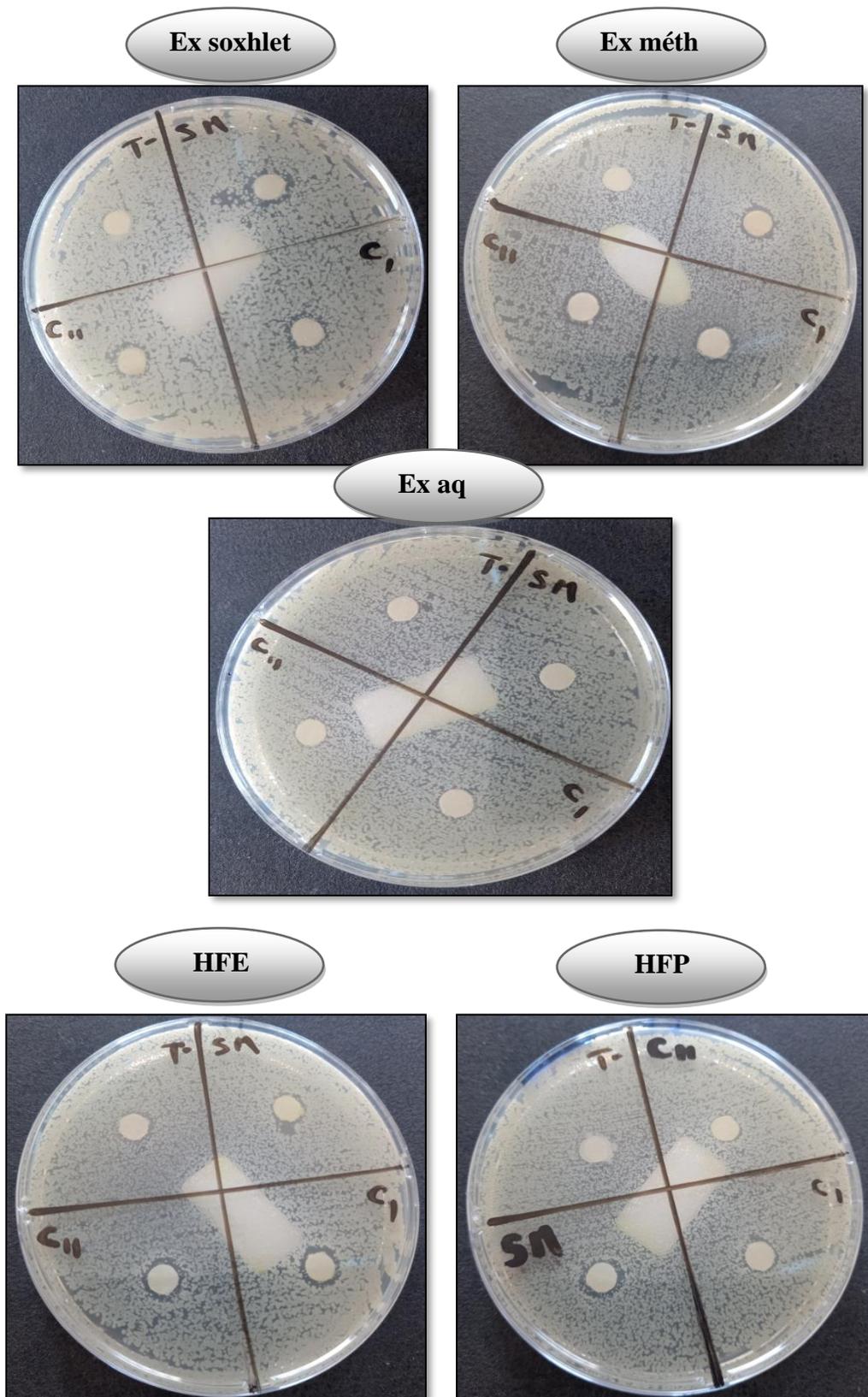


Figure 54 : Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *S.aureus* (Cliché personnel,2022).

➤ Pouvoir antibactérien de lin vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

L'effet antibactérien des cinq extraits d'*Linum usitatissimum* L. a été remarqué vis-à-vis de *P. aeruginosa*. Leurs diamètres de zones d'inhibition 8 mm dans SM pour l'extrait soxhlet, Par contre les extraits (méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P) ne montrent aucuns effets inhibiteurs contre *P. aeruginosa* avec toutes les dilutions (Figure 55).

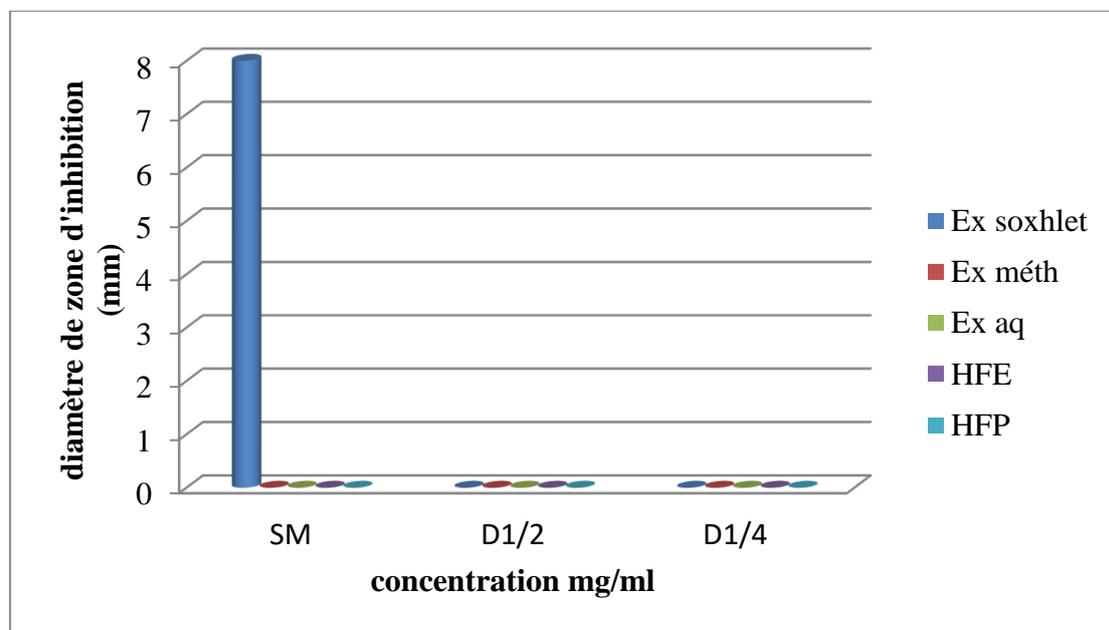


Figure 55: Le diamètre des zones d'inhibition des différents extraits de *Linum usitatissimum* L. vis-à-vis la souche *P. aeruginosa*

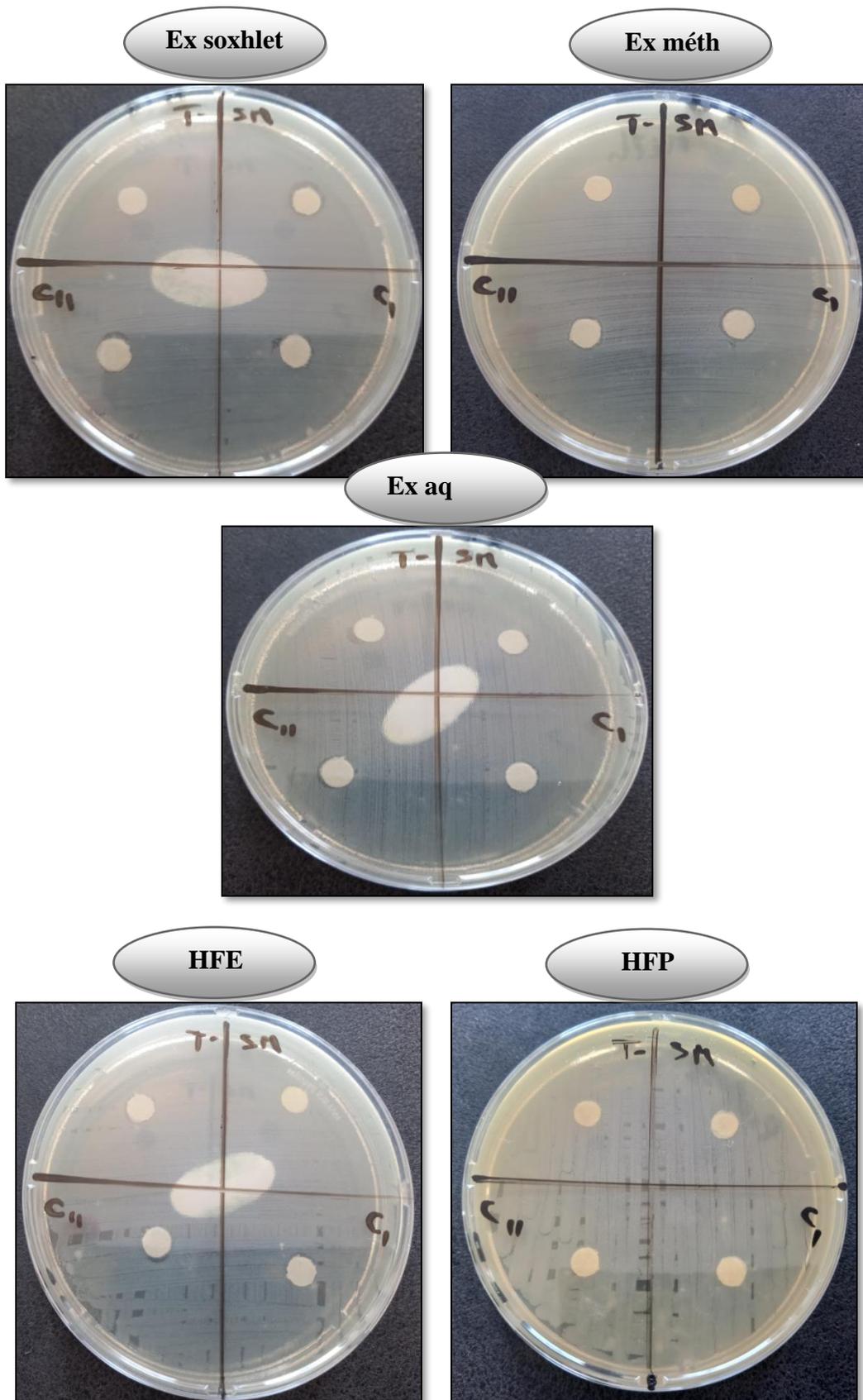


Figure 56 : Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *P. aeruginosa* (Cliché personnel,2022).

➤ Pouvoir antibactérien de lin vis-à-vis *Bacillus cereus*

La sensibilité de *B. cereus* marque des diamètres d'inhibitions pour l'extrait soxhlet variant entre 08 et 11 mm, pour l'extrait méthanolique 07 et 8.5 mm, pour l'extrait aqueux 6.5 et 08 mm, pour H.F.P 08.5 mm et d'autre diamètres varient entre 7 et 9.5 mm pour H.F.E.

La zone d'inhibition la plus large est de 11 mm contre *B.cereus*, est enregistrée avec l'extrait soxhlet . Cependant huile fixe par pressage a montré une zone d'inhibition 8.5 mm dans SM, mais cette activité disparaît avec la concentration 1/2 et 1/4 (Figure 57).

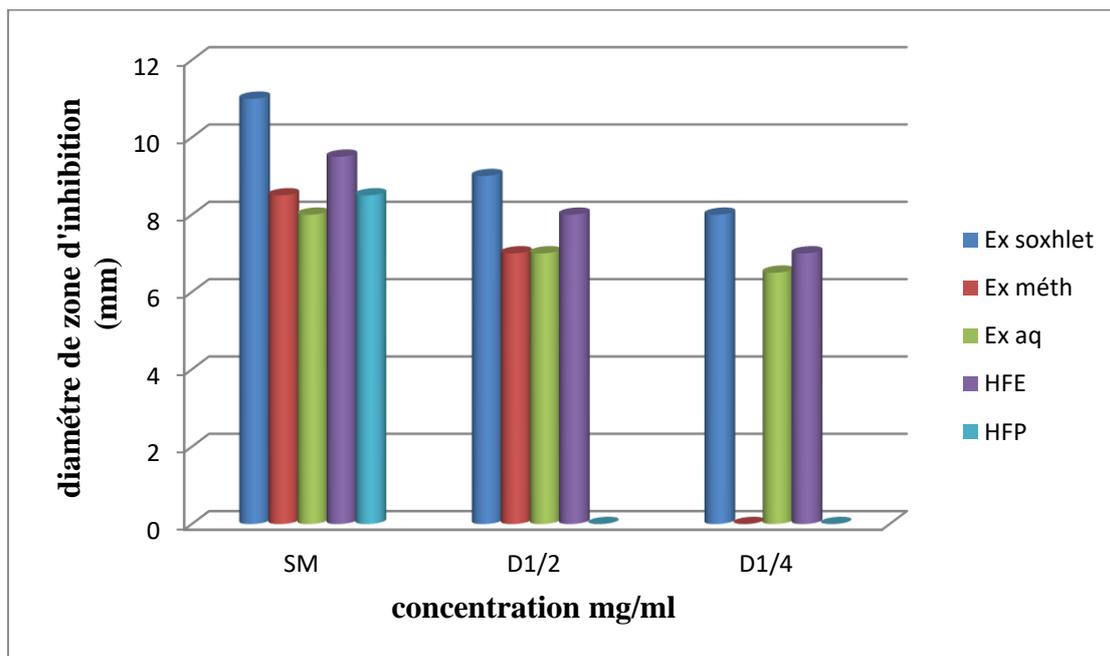


Figure 57: Le diamètre des zones d'inhibition des différents extraits de *Linum usitatissimum* L. vis-à-vis la souche *B.cereus*.

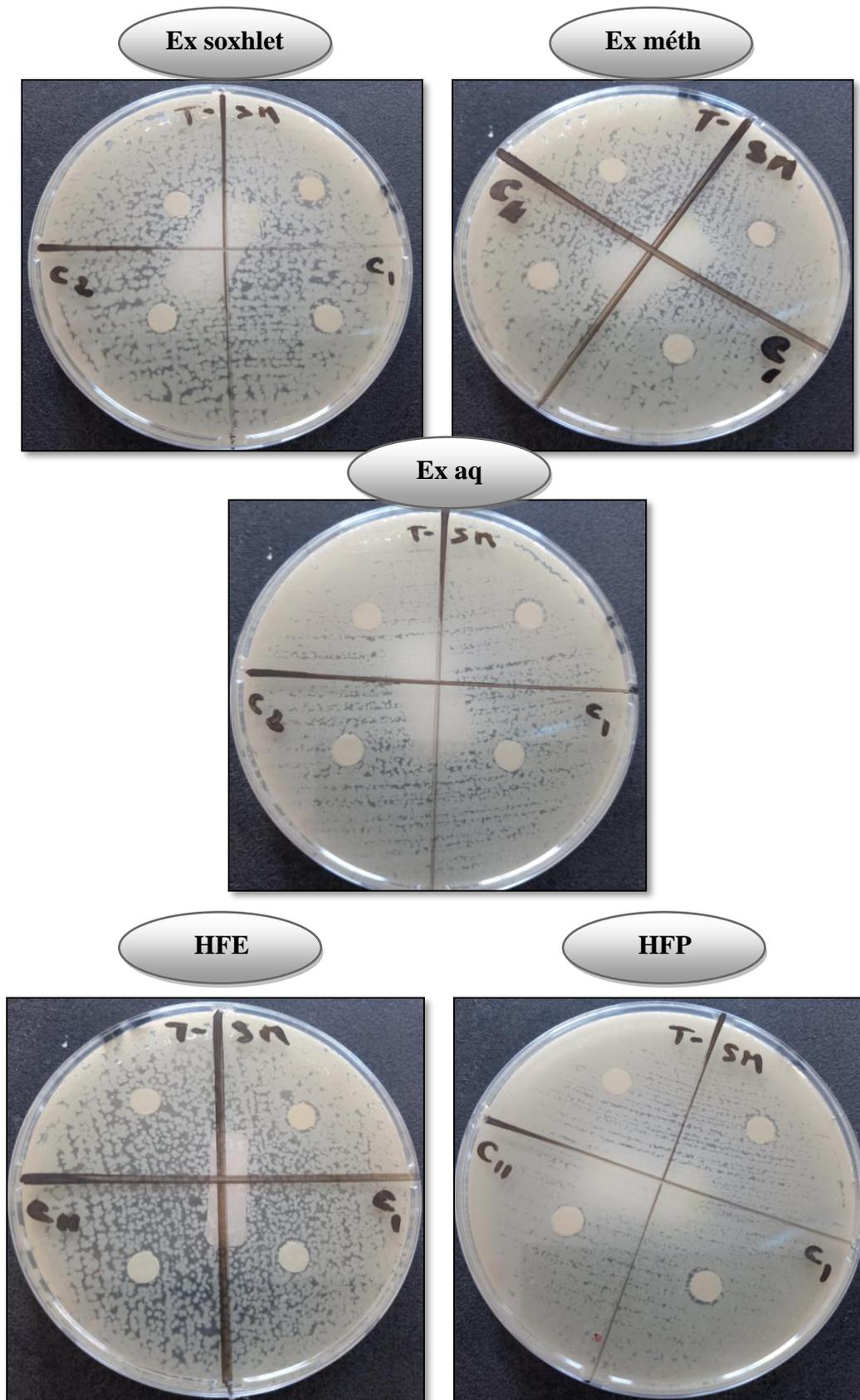


Figure 58: Aspect des zones d'inhibition des extraits vis-à-vis *B.cereus* (Cliché personnel, 2022).

## II.3.3. Discussion

L'activité antibactérienne de l'extrait soxhlet et des deux extraits phénoliques et des deux types des huiles fixes sur les souches bactériennes qui montrent que le pouvoir antibactérien des différents extraits est faible par rapport à l'activité, généralement enregistrées avec les antibiotiques sur ces mêmes souches.

Les résultats obtenus indiquent que tous les souches bactérienne testé sont présentent une certaine sensibilité vis-à-vis les extraits avec des zones d'inhibition allant de (6.5 à 13) mm. L'extrait par soxhlet présente, un pouvoir inhibiteur plus prononcé que les autres extraits vis-à-vis les quatre souches bactériennes testées. Cela peut être expliqué d'un part par sa teneur élevée en huile de grain du lin. En effet, la majorité des composés identifiés dans la plante de lin sont connus pour leurs effets antibactériens.

Il est probable que ce résultat est due à une différence de la capacité de pénétration des composés actifs présentent dans les extraits. Chez les bactéries à Gram positif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; par contre les bactéries à Gram négatif sont moins protégées contre les agents antibactériens.

Des études ont montrent que les activités antibactériennes donné des résultats positifs exprimés par une grande zone d'inhibition de 20 mm, 23 mm contre de *E.coli* par l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique successivement de l'espèce *Linum usitatissimum* L. (Vanharanta *et al.*, 2002).

Une étude récente sur l'activité antibactérienne d'HF de *Linum usitatissimum* L. a montré des résultats positifs exprimés par une grande zone d'inhibition de 15,83mm à l'égard de *S. aureus* ATCC29737. (Chytilova *et al.*, 2013). Ceci est supérieur par rapport à nos résultats obtenus par les HFP et HFE à l'encontre de *S. aureus*.

Une autre étude a aussi montré que l'huile de lin était douée d'une activité anti bactérienne contre plusieurs micro-organismes ; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis* (Kaithwas *et al.*, 2011).

## *Conclusion*



### Conclusion et perspectives

Ces dernières années, les plantes médicinales sont devenues un sujet de choix pour les chercheurs au niveau de nombreux laboratoires à travers le monde. Le grand intérêt donné à ces plantes revient en fait à leur richesse en composés naturels bioactifs d'une part et le besoin de chercher un moyen thérapeutique plus doux qui constituera un alternatif aux molécules de synthèse d'une autre part.

L'activité biologique autour de laquelle s'est articulé ce présent travail concerne le pouvoir antibactérien des différents extraits soit par soxhlet et des extraits phénoliques et des huiles fixes des graines de lin utilisées en médecine traditionnelle.

Après une analyse qualitative des extraits, réalisée par criblage phytochimique, il s'est avéré que les graines de *Linum usitatissimum* L. renferment plusieurs familles de composés naturels comme les flavonoïdes, les alcaloïdes, les stérols et les terpènes, les polyphénols, les composés réducteurs et les tanins. Ces substances sont généralement responsables de certaines activités biologiques des extraits des graines de lin.

Après extraction de plusieurs manières de grain de lin, a donné des rendements variables en extrait sec. Un faible rendement est obtenu par extraction méthanolique, par contre l'extraction par le soxhlet donne un rendement remarquable de l'ordre de 60.8%.

S'agissant de l'activité antibactérienne des cinq extraits, et des celle-ci a été réalisée sur quatre souches bactériennes : (*P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. aureus* et *E. coli*).

Les cinq extraits, n'ont exprimé aucune activité contre les bactéries testées (*P. aeruginosa*, *E. coli*). Par contre ont exercé un effet inhibiteur, vis-à-vis les souches bactériennes étudiées (*B. cereus*, *S. aureus*).

L'activité biologique impressionnante de plante *Linum usitatissimum* L. a ouvert la voie à davantage d'attention et de recherche pour identifier les composés actifs responsables de cette activité biologique, autre mécanisme d'action par lequel les extraits y exercent des activités antibactériennes.

Le lin est une plante médicinale riche en métabolites actifs. Une exploitation de ses propriétés pharmacologiques s'impose sur une recherche approfondie de ses principes actifs.

A cet effet, il est souhaité de :

- ✓ De nouvelles études doivent être entreprises pour élucider le mécanisme d'action par lequel les extraits y exercent leurs activités antibactériennes.
- ✓ Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui peuvent répondre aux problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments de synthèses.

## *Références Bibliographiques*

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
- 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.
- ALachaher Fatima Zohra. (2018). Effet de la supplémentation des grains brunes de lin sur le profil lipidique et les statuts redox et inflammatoire, chez les rats rendus diabétique par streptozotocine. Thèse de Doctorat, Université d'Ahmed Benbella, Oran, Alger.
- Ali S.M. et Yaghmour R, (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol*, p 60, 265–71.
- 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.
- Atefeibu E.S.I. (2002). Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne de *Acacia Nilotica* Var *Andesonii*. Thèse de doctorat, Université cheikh Anta Diop de Dakar. 33p.
- 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).
- Amrouche A. 2013. Etude in vitro de l'effet antifongique des huiles extraites de plantes médicinales et leurs effets chez des rats wistar contaminés par les mycotoxines, Thèse de doctorat (Université Abou-- Bekrbelkaid –Tlemcen).
- Ayad A, Merzouk H, Merzouk S.A, Narce M. 2013. Blood oxidant / antioxidant status in overfed aging rats: comparative effects of sunflower, olive and linseed oil rich diets. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26, 390-393.

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.
- BALIAN A., Hépatogastro-entérologie médicale et chirurgicale, Intermed, 7e édition, 2010.
- Békro Y.A., Békroj A. M., Bouab. B., Trab F. H. and Ehilé E. E. (2007). Etude Ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpinaceae). Rev. Sci. Nat, 4 (2) : p. 217-225.
- 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.
- Belluzzi A. (2002). Fatty acids for the treatment of inflammatory bowel diseases. Proceedings Nutrition Society, 61(3) : 391-395.
- 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.
- 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.
- Benzahi K, (2001). Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la Plante *cynodon Dactylon* L.(chindent), mémoire de Magister. Université d'Ouargla, 15-17p.
- Beroual K.(2014). Impact de *Linum usitatissimum* sur la régénération épithéliale et sur la pousse de poils. Thèse de Doctorat, Université Constantine 1-Constantine (Algérie). pp: 42-45.
- Bloedon L.T, Szapary P.O. 2004. Flaxseed and cardiovascular risk. *Nutrition Review*, 62(1), 18-27.
- Blumenthal, MA., Goldberg, J., Brinckmann, EDS. (2000). Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. *American Botanical Council*, Austin, TX, USA, pp 85.
- Bommareddy, A., Zhang, X., Schrader, D., Zeman, D., Mathees, D. P., Dwivedi, C (2009). Effects of Dietary Flaxseed on Intestinal Tumorigenesis in *Apc<sup>Min</sup>* Mouse.

J Nutrition and Cancer, 61(2),(21/02/2009).

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01635580802419764>

- Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *ClinicalPharmacology andTherapeutics*.
- Boros.E, Vladimir. A, Gurvich and Igor. E. 2010.Zverovich: Friendship two-graphs. *Graphs and Combinatorics* 26, 617-628.
- BoudjourefM.,(2011). Etude de l'activitéantioxydante et antimicrobienne D'extraitds'ArtemisiacampestrisL. Thèse de Magister en Biochimie.Université Ferhat Abbes, Sétif.Algérie. 99 p.
  - Bougandoura N et Bendimerad N., (2012). Evaluation De L'activité Antioxydante Des Extraits Aqueux Et Méthanolique De SaturejaCalaminthaSsp.nepeta (l.) Briq. *Revue Nature et Technologie*, 5 (2) (page consultée le 30/06/2013).

<https://www.asjp.cerist.dz/en/article/43129>

- Bouguerra A. 2011. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculumvulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, p10.
- Boukeria S, Mnasri SR, Kadi K., Benbott A, Bougueria H, BiriK, LazbbacheW(2020). Evaluation of the antibacterial and anticoagulant activity of phenolic extracts of *linumusitatissimum*L..J. *Fundam. Appl. Sci.*, 12(2), 667-682.
- Bouharb H., El Badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S., et Alaoui T., (2014).Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activitéantibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of AppliedBiosciences*.78.P:6685-6693.
- Bouzouita K. (2016).Phytovigilance : Enquête auprès des pharmaciens officinaux d'Oujda.Thèse de Doctorat, Université Mohammed V- Rabat (Maroc). p11.
- Bruneton J. (2009). *Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales*. 4èmeEd. Paris ;Tec & Doc Lavoisier, P. 207-211.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3ème Ed. Ed.médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.

C

- Casa R., Russell G., Cascio B. L., Rossini F. (1999). Environmental effects on linseed (*Linum usitatissimum* L.) yield and growth of flax at different stand densities. *European journal of agronomy*, 11(3) : 267-278.
- Chaouch N. (2001). Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L.) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya d'Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla 2001, 44.
- Chen, M., Cheung, FW., Chan, MH., et al. (2012). Protective roles of *Cordyceps* on lung fibrosis in cellular and rat models. *J Ethnopharmacol* 143: 448-454.
- Chytilova M., Mudrončova D., Nemcova R., Gancarcčíkova S., Buleca. V, Koščova. J, Tkacčíkova. L. (2013). Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of flax-seed oil and *Lactobacillus plantarum*–Biocenol™ LP96 in gnotobiotic pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republ *Research in Veterinary Science*, 95: 103-109.
- Crozier S.R, Javaid M.K, Harvey N.C, Gale C.R, Dennison E.M, Boucher B.J, Arden N.K, Godfrey K.M, Cooper.C. 2006. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *THE LANCET*. 367 (9504) (page consultée le 13/01/2006).

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673606679221>

D

- Davido B. (2010). Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à *Staphylococcus aureus*. 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 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.

- Dybing C. D., Lay C. (1981). Flax *Linum usitatissimum*. dans: CRC handbook of biosolar resources. Eds McClure, T. A., Lipinsky, E.S., CRC Press, Inc., Boca Raton, USA, II. Resource materials, p. 71-85

### E

- Edward JB. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile Human Pathogen. *Clin Microbiol Rev.* Vol.23.pp : 382-398.
- El Abdali Younes, (2017). Caractérisation phytochimique et activité antioxydante et immunostimulante de *lavandula dentata* et *linum usitatissimum*. Mémoire de Master, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Ville de Fès au Maroc.
- El Abdani S. (2016). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Rabat (Maroc). p1.
- Elghozi J L et Duval D. 1992. Pharmacologie 2ème ed : Médecine Flammarion. Paris. p. 289
- 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.
- Erlund I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24 : 851-874.
- European Medicines Agency, 2016. Reproduction is authorised provided the source is acknowledged. (20 octobre 2016).  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-summary/linseed-summary-public\\_fr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-summary/linseed-summary-public_fr.pdf)

### F

- Fantini Massimo , Benvenuto Monica , Masuelli Laura , Giovanni Vanni Frajese, Tresoldi Ilaria, Modesti Andrea et Bei Roberto, (2015). In Vitro and in Vivo Antitumoral Effects of Combinations of Polyphenols, or Polyphenols and Anticancer Drugs: Perspectives on Cancer Treatment. *Molecular Sciences.* 16 : 9236-9282 mécanismes Des maladies et potentiel thérapeutique.

- FAO (2012). Guide pratique - Stockage et conservation des grains à la ferme. Site consulté le 13 mars 2012, [www.fao.org/Wairdocs/X5163F/X5163f02.htm](http://www.fao.org/Wairdocs/X5163F/X5163f02.htm)
- Fisk I., White D., Calvalho A and Gray D. (2006). Tocophérol an intrinsic component of Sunflower seed oil bodies. Journal of the American oilChemists' society. Vol.83. pp :341-344.
- Fleuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- Freeman T. P. (1995). Structure of flaxseed. Dans: Flaxseed in human nutrition. Cunnane S. C., Thompson L. U. eds., AOCS Press, Champaign, USA, pp.

### G

- Ganorkar PM et Jain RK. (2013). Flaxseed- a nutritional punch. International Food ResearchJournal. Vol.20. pp: 519-525.
- 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.
- Graebe J.E., (1987). Gibberellin biosynthesis and control. Annu. Ruv. Plant physiol. Vol.(38): 419-465.
- GrootaertM. O, MartinsP. A. C, Bitsch.N, Pintelon.I, MeyerG. R, Martinet.W, SchrijversD. M. 2015.Defective autophagy in vascular smooth muscle cells accelerates senescence and promotes neointima formation and atherogenesis. Journal of Autophagy, 11 (11) (page consultée le 09/12/2015).

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15548627.2015.1096485>

- Guignard JI., (1996). Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.
- Guignard JI., et Dupont F., (2004). Botanique systématique moléculaire, 13ed MASSON, Belgique. P : 234-237.
- Gülçin I., Kufrevioglu OI., Oktay M., et Buyukokuroglu ME., (2004).Antioxdant,antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (Urtica dioica L.). J.Ethnopharmacology. 90. P: 205–215.

### H

- Hagerman, A.E. (2002). Tannin Chemistry ([www.users.muohio.edu/hagermae](http://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 flax seed: Review *Hygeia. Journal for drugs and medicines* 4 (2):70-77.
- Hanou S. (2018). Aptitude du lait de Chamelle au développement des bactéries lactiques et mise au point de laits fermentés. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba (Algérie). p : 35
- Hanson J. R., (2003). Natural products: the secondary metabolites. Ed.Royaume-Uni :Royal society of chemistry, Italy. 137 p.64. HARBORNE J.B., 1980- Plant Phenolics:Encyclopedia of Plant Physiology. New series. Vol. (8): 329-402.
- Hart K.J., Yáñez-Ruizd R., Duvals M., Mcewann R., NewboldcJ.,(2008) Plant extractsto manipulate rumen fermentation.*Animal feed science and technology*. Vol. (147) : 8–35.
- Harborne JB, (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*.Third Edition, ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB), 203-214 P.
- HarborneJB.phytochemicalméthodes ,London.Chapman ans Hall, Ltd , 1973;pop.49-188.
- HavenC. J,WongF. K, Luijt.R, Asperen. C, Jansen. J, Rosenberg. C,Wit.M, Roijers.J,Hoppener.J. 2000. A Genotypic and Histopathological Study of a Large Dutch Kindred with Hyperparathyroidism-Jaw Tumor Syndrome. *the journal of clinical endocrinology & metabolism*, 85 (4) (page consultée le 01/04/2000).  
<https://academic.oup.com/jcem>
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids.*Pharmacology& Therapeutics*, 96: 67-202.33
- Hayes A. J. et Markovic B. (2002).Toxicity of australian essential oil *BackhousiaCitriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. *FoodChem Toxicol*.40: 535-543.
- Hermier, D., Morise, A., Ferezou, J., Riottot, M., Fénart, E., & Weill, P. (2004).Influence de la forme d'apport des lipides de la graine de lin sur le métabolisme du cholestérol chez le hamster. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(3), 230-236.33..

- Hernandez-Ochoa L.R., (2005). Substitution de solvants et matières actives De synthèse parcombiné (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat stitut national plytechniques, Toulouse. France. 255p.
- Hocking P.J, Kirkegaard, J.A, Angus J.F. 1997. Comparison of canola, Indian mustard and linola in two contrasting environments. I. Effects of nitrogen fertilizer on dry matter production, seed yield and seed quality. *Field Crops Research*, 49, 2-3.
- Hoffman, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- Huang M T et Ferraw T. 1991. Phenolic compound in food and cancer prevention. *Phenolic compounds in food and their effects on health*. 3:83 p.
- huillier A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauriasalicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauriapolyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embeliaconcinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Toulouse.

### I

- Irshad, M., Aziz, S., ur-Rehman, H., Shahid, M., Naeem Ahmed, M., Minhas, F. Ribéreau-Garyon. P. (2012). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Paris, 254p.
- Iserin P. (2001). Encyclopedie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. 2ème édition Ed Larousse/ VUEF, p13- 16, p250, p291- 296.

### J

- Jean-Blain, C. (1998). Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Rev.Méd. Vét.* p149, 911-920.
- Jean-François, *Guillaume* (2008). Dans *Agora débats.jeunesses*, 4. (50), pages 68 à 78.
- Jhala, A. J., & Hall, L. M. (2010). Flax (*Linum usitatissimum* L.): current uses and future applications. *Aust J Basic Appl Sci*, 4(9), 4304-4312.33.
- Jonathan R. kerr. (1999). Bacterial inhibition of fungal growth and pathogenicity. *Microbial Ecology in Health and Disease*. Vol.11.pp: 129-142.

### K

- Karumi Y, Onyeyili PA, Ogugbuaja VO, (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci.* 4(3):179-182.
- KAUFMANN J.-C, (1997). *Le Cœur à l'ouvrage. Théorie de l'action ménagère.* Paris, Nathan.
- Karleskind A. (1992). Détermination des caractéristiques physiques. dans: *Manuel des corps gras.* Karleskind A. ed., Lavoisier Tec & Doc, Paris, France, vol. 2, p. 1290-1311.
- Kaithwas G, Mukerjee A, Kumar P, Majumdar D.K. 2011. *Linum usitatissimum* (linseed/flaxseed) fixed oil: antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *InflammoPharmacology*, 19, 45-52.
- Knaggs, A.R. (2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports.*
- Koffi N et al., (2009). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *Journal of Complementary and Alternative Medicine.* Vol. (9): 6-39.
- Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse de doctorat,* muséum national d'histoire naturelle.
- Krief S., (2003). *métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.* Thèse de doctorat. Muséum national d'histoire naturelle, Ouganda. 49p.
- Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh, H, Grignon, C, Abdelly C. 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 244-249.

### L

- Labalette F., Landé N., Wagner D., Roux-Duparque M., Sallet E. (2011). La filière lin oléagineuse française : panorama et perspectives. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18(3) : 113-122.
- LACHAINE R., *le système digestif, Anatomie et physiologie humaine*, 6e édition, 2005, 906-955.

- Lafond G.P, Irvine B, Johnston A.M, May W.E, Mcandrew D.W, Shirtliffe S.J, Stevenson F.C. 2008. Impact of agronomic factors on seed yield formation and quality in flax. *Canadian Journal of Plant Science*, 88(3), 485-500.
- Laissouf A, Mokhtari-Soulmane N, Merzouk H, Benhabib N. 2013. Dietary flaxseed oil supplementation improves the Oxidant/antioxidant status in obese aged rats. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences*, 3, 87-94.
- Leinmüller, E., Steingass, H. and Menke, K.H. (1991). Tannins in Ruminant feed stuff.
- LendvaibZelles T., Rozsa B., et Vizie S., (2002). Vinca alkaloid enchanges morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*. Vol: 59 (4). P: 257-260.
- Li W., Liu H., Luo X., Zhu W., Tang Y., Halpert J.R. & Jiang H. 2007. Possible Pathway(s) of Metyrapone Egress from the active Site of Cytochrome P450: A Molecular Dynamics Simulation. *American Society for pharmacology and Experimental Therapeutics*, 35 (4): 689-696.
- Lozniewski A, et Rabaud C, (2004). Résistance Bactérienne aux Antibiotiques. Fiches Conseil pour la Prévention du Risque Infectieux–Infections Associées aux Soins. Ed. CCLIN, Nancy, Lorraine, p4.

### M

- Macheix et al. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier 1-28.
- 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.
- Manallah A, (2012). Activités antioxydant et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L, Pour obtenir le Diplôme de magister. 87p.
- Marc T., Gerard W., et Denis L., (2001). Classification des anti-inflammatoires. *Guide pharmacologie*. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. P: 426.
- Massaro M, Scoditti E, Carluccio M.A, De Caterina R. 2010. Nutraceuticals and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated fatty acids and Mediterranean diet polyphenols. *Cardiovascular therapeutics*, 28, 13-19.

- Matar GM. (2018). Editorial: Pseudomonas and Acenitobacter. From Drug resistance to pathogenesis Front Cell Infect Microbiol. Vol.8. p 68.
- Mauro NM, (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxinea et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.
- Ma W.G, Tan R.X, Fuzzati N, Li Q.S, Wolfender J.L, Hostettmann K. 1997. Natural occurring and synthetic polyene glycosides. Phytochemistry, 45(2),411-415.
- McVetty, P., Lukow, O., (2004). PRODUCTION ET CONSOMATION DE GRAINS |
- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T.C. 2000. The effects of plant flavonoidson mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer.PharmacolReview, 52, 673-839.

Miranda. L, Sutton R. J, Eperon G. E, Parrott E. S, Kamino B. A, Patel J. B, Hörantner M. T, Johnston M. B, Haghighirad A.A , Moore D. T, Snaith H.J.2016. Bandgap-Tunable Cesium Lead Halide Perovskites with High Thermal Stability for Efficient Solar Cells. advanced energy materials, 6 (8) (page consultée le 02/02/2016).

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aenm.201502458>

- Mueller-Harvey I, (2001). Analysis of hydrolysable tannins. Anim. FeedSci.Technol. p91, 3-20.
- Mueller-Harvey I. et Mc Allan, A.B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties. Adv. Plant CellBiochem. Biotechnol.

### N

- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. Journal ofChromatography A.
- Nauciel. C., et Vildé, J.L., 2005. Bactériologie médicale, 2ème Ed. Masson. Paris.
- Nicola M., et Daniel C. (1998).Activité technologiques en microbiologie-Téchniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'aquitaine - Bordeaux, 152p.

### O

- O'kenedy R., Thornes R.D. (1997). Coumarins–Biology, Applications and Mode ofAction, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, Eds, 315p.

- Oomah, B D. (2001). Flaxseed as a functional food source. J Sci Food Agric [en ligne],81(9),(13/06/ 2001).<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.898>
- Oullay Lynda et Chamek Cylia,2018 .contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisée pour le traitement des affections de l'appareil digestif en kabylie ,mémoire de fin d'étude .université mouloud Mammeri ,faculté de médecine Tizi-Ouzou .28-2930p.

### P

- Pageau, D ., La jeunesse,J.(2011). Effet de la date de semis sur la productivité du lin oléagineux cultivé en climat frais. [Canadian Journal of Plant Science](https://cdnsiencepub.com/doi/10.4141/cjps10021)[en ligne],10(1),(1 Janvier 2011).<https://cdnsiencepub.com/doi/10.4141/cjps10021>
- Pierre L, Lis L. 2011. Secrets des plantes. France. Artémis.

### Q

- Qureshi. N, Porter. J. W, (1981). Biosynthesis of isoprenoidecompounds.johnwiley and sons.new York. Vol.1. p 47

### 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.
- Rakotonanahary, M. (2012). Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier.
- Ralston, L., Subramanian, S., Matsuno, M and Yu, O. (2005). Partial Reconstruction of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis in Yeast Using Soybean Type I and Type II Chalcone Isomerases. Plant Physiology, 137(4): 1375-138835
- Rédaction Medisite.Lin : origine, bienfaits, posologie.(24/01/2011).<https://www.medisite.fr/dictionnaire-des-plantes-medicinales-lin.48578.8.html>
- Renouard S. (2011). Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignanes du lin (Linum usitatissimum et Linum falvum) et amélioration de l'extraction des lignanes. Thèse de Doctorat, université d'Orléans (France). pp: 26-27.

### S

- Sanogo, R. (2006). Le Rôle des Plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle. Développement, Environnement et Santé. 10ème école d'été de l'IEPF et SIFEE du 06 au 10 juin 2006, 53 p.
- Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Abrégé de botanique. Masson (Ed). Paris.
- Savoie R. (2008). *Etude multi-échelles de la séparation solide-liquide dans la trituration du lin oléagineux*, Thèse de doctorat, Université de Technologie, Compiègne, 11p.
- Sebastian Rhonda S., Enns Cecilia Wilkinson., et Moshfegh Alanna J. (2015). A new database facilitates characterization of flavonoid intake, sources, and positive associations with diet quality among us adults. *Society for Nutrition*. 145(6): 1239–1248.
- Solfo R. , (1973). Etude d'une plante médicinale Malgache *Baxus madagascariensis* Bail et ses variétés Ed. O.R.S.T.O.M.
- Soumaila G. (2012). Caractérisation phénotypique et génétique des *Escherichia coli* isolés des cas de colibacilloses aviaires au Sénégal. Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop, Dakar (Sénégal). pp : 22-23.
  - Stefanova. N, Reindl. M, Neumann. M, Kahle P. J, Poewe. W, Wenning G. K. 2007. *Microglial activation mediates neurodegeneration related to oligodendroglial  $\alpha$ -synucleinopathy: Implications for multiple system atrophy*. *Journal of movement disorders*. 22 (15) (page consultée le 12/09/2007).  
<https://movementdisorders.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mds.21671>
- Sultana C. 1992. Le lin oléagineux. Dans : Manuel des corps gras. Karleskind A. édition., Lavoisier Technique et documentation, Paris, France, vol. 1, p154-157.

### T

- Tadros S. H., (1979). Pharmacognostical study of *entolobium cyclocarpum* griseb growing in Egypt. Ph. D. thesis. Faculty of pharmacy. Cairo university. Florida state horticultural society. 426p.
- Thompson, L.U. (2003) . Flaxseed in human nutrition, 2nd Edition, AOCS Press, Champaign, Illinois, p458.

- Thompson L.U, Rickard S.E, Orcheson L.J, Seidl M.M. 1996. Flaxseed and its lignan and oil components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 17, 1373-1379.
  - 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.
  - Tkhalishvili 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.
  - Treki AS., Merghem R., et Dehimat L., (2009). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: Thymus hirtus. *Sciences et Technologie*. 29. P: 25-29.
  - Tresse E. et Evans W. C. (1987). *Pharmacognosy Billiaire*. Ed. Tindall, London, 13, p. 61-62.
  - Tzang B. S., Yang S. F., Fu S. G., Yang H. C., Sun H. L., Chen Y. C. (2009). Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry*, 114: 1450-1455.
- V
- Vanharanta M., Voutilainen S and Nurmi T. (2002). Association between low serum enterolactone and increased plasma F2-isoprostanes, a measure of lipid peroxidation. *Atherosclerosis*. Vol.160. pp : 465-469

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

### W

- Wallace r.j.,(2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of nutrition society. Vol. (63) : 621–629.
- Wallace r.j.,(2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceedings of nutrition society. Vol. (63) : 621–629.
- Warrand J. (2004). Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum*), Thèse de l'Université de Picardie Jules Verne, Amiens, 220p.
- Wilhelm N, (1998). Botanique générale. 10ème Ed. De boeck. Paris, bruxelles.319p.
- Wink M., (2003). Evolution Of Secondary Metabolites From An Ecological And Molecular Phylogenetic Perspective. Phytochemistry. Vol. (64): 3-19.
- Winkel-Shirley, B. (2000). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology, 5: 218.

### 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

- Zafar Javed Khan., Naeem Ahmad Khan., Imrana Naseem., Shahab A. A Nami. (2019). Exploration of physicochemical potential of *Linum usitatissimum* Linn (Tukhm-e-Katan). Asian journal of pharmacy and pharmacology. 5(3):551-558.
- Zhao S., Chen J., Fei P., Feng H., Wang Y., Ali M., 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.

## *Références bibliographiques*

---

- Zhar H. (2011). L'infection à Escherichia colientero-hémorragique. Thèse de Doctorat, Université Mohammed 5, Rabat (Maroc). p 5.  
LesAnonymes
- Anonyme01 : [http://www.agr.gc.ca/resources/prod/doc/misb/mag-gam/fco-ppc/fco-ppc\\_2015-06-18-fra.pdf](http://www.agr.gc.ca/resources/prod/doc/misb/mag-gam/fco-ppc/fco-ppc_2015-06-18-fra.pdf)
- Anonyme 02 : <https://www.creapharma.ch/lin.htm>
- Anonyme3: <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/lin.htm>
- Anonyme4: <https://www.sante-le-net.com/maladies/hepato-gastro/troubles-digestifs/09/05/2021>
- Anonyme5 : <https://www.dcwmla.dz/fr/index.php/wil43?showall=1.06/06/2022>.

## *Annexes*

## Annexe I : Matériel de laboratoire

Tableau I : le matériel de laboratoire

Verreries et matériel	Solvants et produits
- Pipettes	-l'eau distillée
- Micro pipette (1000 µl, 200 µl, 20 µl )	- éthanol
- Tubes à essai	-méthanol
- Flacons (250 ml)	-Réactif de Wagner
- Erlenmeyer	- éther de pétrole
- Béchers	- Liqueur de Fehling
- Spatule	-l'alcool chlorhydrique
- Para film	- la gélose Muller-Hinton
- Eprouvette graduée	-Bouillon Nutritive
-Papier filtre	
- Cuve en verre	
- Embouts (bleu, jaune, blanc)	
-Tubes secs à bouchons	
- Porte tube à essai	
- Papier d'aluminium	
- Entonnoir en verre	
-Compte-gouttes	
- écoviont	
-barreau magnétique	
- boites de pétries	

- verres à montre  -ballon  -propipette  -pissette  -pince en bois  -eppendorf  -pince à épiler  -mortier et pilon en verre  -anse de platine	
---	--

Annexe II : Appareillages de laboratoire



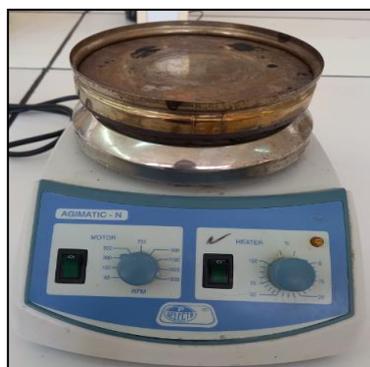
Spectrophotomètre



Bains Marie



Perforateur de papier



Plaque chauffante avec Agitation



Bec bunsen



Autoclave



Vortex



Balance de précision



Etuve



Agitateur mécanique



Balance



micro-ondes



Soxhlet



moulin à café



Rota vapeur

## Annexe III : Screening phytochimique

Tableau I : Tests de screening phytochimique, réactifs d'identification et indicateurs

Group chimique	Réactifs d'identification	Indicateur
Alcaloïdes	-Acide chlorhydrique HCl(01%)  -Réactif de Wagner	-L'apparition d'un couleur marron
Flavonoïdes	-Acide chlorhydrique HCl (01%)  -KOH	-coloration jaune claire
Cardénolides	-CHCl <sub>3</sub>  -C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH  -CH <sub>3</sub> COOH  - FeCl <sub>3</sub>  - H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	- coloration vert bleu
Terpènes et des Stérols	-Acide acétique  - éther de pétrole  -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-cerle violé ou marron puis devient gris
Anthraquinones libres	-chloroforme  -NH <sub>4</sub> OH	- coloration plus ou moins rouge
Glucosides	-L'eau distillée  -Liqueur de Fehling	-Précipité rouge brique
Coumarines	-KOH 10%	-précipitation rouge brune

	-HCL 10%	
Tanins	-l'extrait éthanolique -FeCl <sub>3</sub> 0.1%	-Coloration verdâtre
Saponosides	-Indice mousse >1 cm	-Apparition d'un mousse Persistante
Anthocyanes	-HCL -NH <sub>4</sub> OH	-changement de la couleur
Leuco-anthocyanes	-alcool chlorhydrique	-coloration rouge cerise
Polyphénols	-Chlorure ferrique FeCl <sub>3</sub> (2%)	-Coloration bleu noirâtre ou vert plus ou moins foncé

Thème : Extraction, caractérisation physico-chimique et l'étude de l'effet antibactérienne d'extrait d'une plante médicinale *Linum usitatissimum* L. (zeriaate alketane) utilisée au traitement des troubles digestifs dans la wilaya de mila

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention de diplôme de Master en : biotechnologie végétale

### Résumé

Les gens sont exposés à de nombreuses maladies, y compris les maladies digestives, et la phytothérapie est l'une des méthodes répandues en Afrique, notamment en Algérie. L'objectif de la présente étude est d'évaluer les constituants phytochimiques et les activités antibactériennes des extraits par soxhlet et des huiles fixes et des polyphénols obtenues à partir des graines de l'espèce *Linum usitatissimum* L. (le lin) dans la région de la wilaya de Mila. Les analyses phytochimiques de *Linum usitatissimum* L. révèlent la présence des constituants bioactifs responsables des vertus thérapeutiques. T-elles que les flavonoïdes, les polyphénols, les alcaloïdes, les tanins, les glucosides, les cardénolides, les anthocyanes, les stérols, les terpènes et quelques traces des coumarines. Plusieurs extraits ont été préparés à partir des graines de la plante *Linum usitatissimum* L. et donne des rendements d'extraction des composés phénoliques par méthanol et par de l'eau-méthanol a donné un rendement 2.5 % et 15.5 % respectivement. Ensuite, une extraction des huiles fixes par pressage et par éthanol a donné un rendement 27.34 % et 10.36 % respectivement. Enfin, une extraction d'huile de graine de lin par la méthode de Soxhlet a donné un rendement en huile de l'ordre de 60.8%. Les tests de l'activité antibactériennes par la méthode de diffusion sur disque appliquées pour les quatre souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* ; Les résultats ont montré un effet inhibiteur important de l'extrait soxhlet contre *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec une zone d'inhibition de 13 mm et 11 mm respectivement, mais pour les autres extraits (méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P). Sont présentent une certaine sensibilité vis-à-vis de cette souche bactérienne testé avec des zones d'inhibition allant de (10 à 6.5) mm. Alors que les souches bactériennes *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont sensible aux l'extrait (soxhlet) avec une zone d'inhibition de 9 mm et 8 mm respectivement, mais sans résistante à l'extrait (méthanolique, aqueux, H.F.E, H.F.P). A la lumière de ces travaux, on peut souligner que la médecine traditionnelle est répandue à grande échelle, elle doit donc être valorisée pour bénéficier de ses principes actifs.

Mots clés : *Linum usitatissimum* L., activité antibactérienne, Caractères physico-chimique, Screening phytochimique.

Laboratoires de recherche : laboratoire du centre Universitaire Abdelhafide BOUSSOUF MILA

Devant le jury composé de :

Présidente : M<sup>me</sup> TALHI Fahima

Examinatrice : M<sup>me</sup> HIMOUR Sara

Promoteur : Mr SAHLI Mohamed

Date de soutenance : 13/07/2022