

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Science Biologique



Projet de Fin d'Études

Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

**Recherche de propriétés antibactériennes dans les  
graines de *Salvia hispanica* L. « Graines de chia »**

**Présenté Par :**

Melle. FELLAH Fatima

**Devant le jury composé de :**

Dr. AMARA Mohamed	(MCA) UAT.B. B (Ain Témouchent)	Président
Dr. OUADAH AMMAR Yamina	(MCB) UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examinateur
Dr. BENYAMINA Sofiane Mourad	(MCB) UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

*Année Universitaire 2021/2022*

*« Science sans conscience n'est que ruine de l'âme »*

*François Rabelais « Pantagruel », XVIème siècle*

# Remerciements

*En premier lieu je remercie Dieu **ALLAH**, le tout puissant, de m'avoir octroyé la force pour avancer, la patience, et le courage pour pouvoir accomplir mon cursus scolaire, et réaliser mon projet de fin d'étude.*

*J'exprime mes sincères remerciements à mon encadrant **Dr Sofiane Mourad BENYAMINA** d'avoir accepté d'être mon encadrant et m'accompagner afin je puisse enfin relever ce défi stimulant, pour la qualité d'enseignement, je le remercie vivement, pour la confiance qu'il m'a accordée, je lui exprime ma gratitude, pour sa disponibilité associée à son impressionnant dynamisme scientifique, pour ces conseils distingués pour son encouragement tout le long de ce travail.*

*J'adresse mes vifs remerciements aux membres de jury, **Dr AMARA Mohamed** pour l'honneur qu'il me fait présider mes jurys de soutenance, Mes remerciements vont également à **Dr OUDAH AHMED AMAR Yamina**, pour l'intérêt qu'elle a bien accepté à porter à ce modeste travail, je tiens à les remercier pour leurs qualités d'enseignement.*

*Un remerciement profond et sincère gratitude envers tous ceux qui ont contribué de loin ou de près pour mon travail*

# Dédicace

À l'âme de mon **Père**, mon école, Mon idole dans la vie, qui m'a toujours encouragé et motivé pour continuer mes études. « Il croyait en moi plus que je me fais confiance »

À l'âme de ma **Grand-mère**, qui a rêvé avec moi d'atteindre ses jours.

« À mon soutien dans la vie »

À ma noble **Maman**, qui m'a donnée la vie, pour sa patience, pour sa générosité,  
pour son sacrifice.

À mon âme sœur, ma joie, mon soutien moral, à mes très chères sœurs,

**Aïcha, Mimouna, Ikram**

À mon soutien dans la vie, ma fierté, mon honneur, à mes très chères frères,

**Mohamed, Habib, Messaoud**

À ma joie, à mon bonheur, à ce qui son sourire me rend la vie, à mon neveu

**Aïssa Abdelhak**

À celle son enthousiasme ne change jamais lors de me voir, à son sourire que je  
souhaite qu'il dure toute sa vie à ma nièce **Soudjoud Fatima**.

À ma belle-sœur **Mamya** qui ne s'ennuie jamais à m'encourager et me soutenir

« Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection  
que je porte pour vous, que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde »

« Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands  
sacrifices que vous avez faits pour moi »

## Sommaire

Sommaire .....	I
Liste des tableaux .....	II
Liste des figures .....	III
Liste des abréviations .....	IV
Liste des annexes.....	V

## Synthèse Bibliographique

1. Propriétés biologiques.....	2
1.1. Propriétés antimicrobiennes.....	3
1.1.1. Mode d'action des antimicrobiens .....	4
1.1.2. Propriétés antimicrobiennes chez les organismes vivants .....	6
1.1.3. Propriétés antimicrobiennes chez les microorganismes .....	7
1.1.4. Propriétés antimicrobiennes chez les animaux .....	8
1.1.5. Propriétés antimicrobiennes chez les plantes.....	9
2. La plante <i>Salvia hispanica</i> .....	12
2.1. Caractéristiques de la plante <i>Salvia hispanica</i> .....	13
2.2. La composition chimique et phytochimique des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	14
2.3. Les activités biologiques de la plante <i>Salvia hispanica</i> .....	15
2.4. Les activités biologiques des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	16

## Matériels et Méthodes

1. Matériel biologique.....	18
1.1. Récolte du matériel végétal.....	18
1.2. Préparation d'extrait de <i>Salvia hispanica</i> .....	19

1.3. Détermination de pH de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	19
1.4. Dosage des protéines .....	19
2. Préparation de standard McFarland 0.5 .....	20
3. Les souches bactériennes .....	21
3.1. Purification et culture des souches de références bactériennes .....	21
3.2. Vérification de la pureté et de l'aspect macroscopique et microscopique des souches de référence.....	21
3.2.1. Observation macroscopique.....	21
3.2.2. Observation microscopique .....	21
4. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur milieu solide .....	22
4.1. La méthode de diffusion par disques sur milieu Müller-Hinton Agar.....	22
4.2. La méthode de dénombrement.....	22
5. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur milieu liquide (Bouillon Nutritif) .....	23
5.1. Mesure de la croissance bactérienne par spectrophotométrie.....	23
5.2. Étude d'effet bactériostatique/bactéricide des solutions des graines <i>Salvia hispanica</i> .....	24
5.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice sur milieu liquide (Bouillon Nutritif).....	24
6. Évaluation de stabilité de l'activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	25
6.1. L'influence du pH sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	25

6.2. L'influence de la température sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	26
--	----

## **Résultats et Discussion**

1. Détermination du pH de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	27
1.1. Dosage des protéines .....	27
2. Préparation de Standard McFarland .....	28
3. Vérification de la pureté et l'aspect macroscopique et microscopique des souches bactériennes de références.....	29
3.1. L'observation macroscopique.....	29
3.2. Observation microscopique .....	30
4. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur milieu solide .....	31
4.1. La méthode de diffusion par disque sur milieu Müller-Hinton Agar .....	31
4.2. La méthode de dénombrement.....	33
5. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur milieu liquide (Bouillon Nutritif) .....	35
5.1. Mesure de la croissance bactérienne par spectrophotométrie.....	35
5.2. Calcul de l'IC50de la solution des graines <i>Salvia hispanica</i> .....	38
5.3. Étude de l'effet bactériostatique/bactéricide de la solution des graines <i>Salvia hispanica</i> .....	40
5.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)sur milieu liquide (Bouillon Nutritif) .....	43
6. Évaluation de stabilité de l'activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	46
6.1. L'influence du pH sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	46

6.2. L'influence du traitement thermique sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	49
Discussion générale.....	51
Conclusion et Perspectives.....	54
Annexes.....	56
Référence Bibliographique.....	58
Résumé.....	74

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification taxonomique de <i>Salvia hispanica</i> (National Center for Biotechnology Information (NCBI) taxonomie).....	12
<b>Tableau 2:</b> La composition chimique de la graine de <i>Salvia hispanica</i> (Din et al., 2021).....	15
<b>Tableau 3:</b> Gamme étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine	20
<b>Tableau 4:</b> Tableau des résultats Résistance/Sensibilité des souches bactériennes de références vis-à-vis la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	32
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de l'effet inhibiteur de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> vis-à-vis les souches bactériennes de référence .....	33
<b>Tableau 6:</b> Détermination de la CMI de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> vis-à-vis des souches bactériennes de référence .....	43
<b>Tableau 7:</b> Tableau récapitulatif des résultats dévaluation des propriétés antibactériennes de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur milieu liquide et sur milieu solide.....	45
<b>Tableau 8:</b> Tableau récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> vis-à-vis les souches bactériennes de référence ( <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> ).....	52

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Plante de <i>Salvia hispanica</i> .....	13
<b>Figure 2:</b> La fleur de la plante de <i>Salvia hispanica</i> .....	14
<b>Figure 3:</b> Les différentes graines de <i>Salvia hispanica</i> . .....	14
<b>Figure 4:</b> Graines de <i>Salvia hispanica</i> utilisé dans cette étude.....	18
<b>Figure 5 :</b> Stérilisation de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> par le micro-filtre .....	19
<b>Figure 6 :</b> Mesure de pH de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> .....	27
<b>Figure 7:</b> Courbe étalon de la protéine d'hémoglobine .....	28
<b>Figure 8:</b> Comparaison visuelle entre la turbidité des 3 souches bactériennes de références. 29	
<b>Figure 9:</b> Observation macroscopique des 3 souches bactériennes de références .....	30
<b>Figure 10:</b> Observation microscopique des souches bactériennes de références .....	31
<b>Figure 11:</b> Résultats de l'étude de l'effet inhibiteur de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur la croissance des souches de références .....	34
<b>Figure 12:</b> Évaluation de l'activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> sur les 3 souches bactériennes de références, en milieu liquide.....	36
<b>Figure 13:</b> Graphe du pourcentage de croissance des 3 souches de référence et du calcul de l'IC50 de la solution des graines <i>Salvia hispanica</i> .....	39
<b>Figure 14:</b> Évaluation de l'effet bactériostatique/bactéricide de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> vis-à-vis les souches bactériennes de référence .....	41
<b>Figure 15:</b> Influence de pH sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> vis-à-vis les souches bactériennes de références.....	47
<b>Figure 16:</b> Influence du traitement thermique sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> vis-à-vis des 3 souches de référence .....	50

## Liste des abréviations

<b>24h :</b>	24 heures
<b>37°C :</b>	37 degrés Celsius
<b>AND :</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AMP :</b>	Antimicrobial Peptide
<b>ARN :</b>	Acide RiboNucléique
<b>ATCC :</b>	American Type Culture Collection
<b>ATP :</b>	Adénosine Triple Phosphate
<b>BaCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de Baryum
<b>BN :</b>	Bouillon Nutritif
<b>CBB :</b>	Coomasie Brilliant Blue-protéine
<b>CMI :</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>DO :</b>	Densité Optique
<b>DO600nm :</b>	Densité Optique à 600 nanomètres
<b><i>E. coli</i> :</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EFSA:</b>	European Food Safety Authority
<b>g:</b>	gramme
<b>GN:</b>	Gélose Nutritive
<b>GTA:</b>	Glutaraldehyde
<b>H<sub>2</sub>O:</b>	Hydrure d'oxygène (eau)
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:</b>	Acide Sulfurique
<b>HSV:</b>	Herpes Simplex Virus
<b>IC<sub>50</sub> :</b>	Concentration Inhibitrice Médiane
<b>JBU :</b>	Uréase de Haricot Jack
<b>L :</b>	Litre
<b>M :</b>	Molarité
<b>MDR-MRSA :</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> Multirésistant aux médicaments
<b>mg :</b>	Milligramme
<b>mg/mL :</b>	Milligramme par millilitre
<b>MHA :</b>	Müller Hinton Agar
<b>NCBI :</b>	National Center for Biotechnology Information
<b><i>P. aeruginosa</i> :</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>pH :</b>	Potentiel d'hydrogène

<b>R :</b>	Resistance
<b>RAM :</b>	Resistant anti-Microbial
<b><i>S. aureus</i> :</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b><i>S. hispanica</i> :</b>	<i>Salvia hispanica</i>
<b>trs/mn:</b>	Tours par minute
<b>UFC/mL :</b>	Unité Formant Colonie
<b>µg :</b>	Microgramme
<b>µL :</b>	Microlitre
<b>VHC :</b>	Virus Hépatite C
<b>VIH :</b>	Virus Immunodéficience Humaine

## Liste des annexes

1. Préparation des milieux de culture .....	56
2. Préparation de la gélose de MacConkey .....	56
3. Préparation de la gélose Mannitol Salt agar (MSA).....	56
4. Préparation de la gélose King A Medium .....	56
5. Préparation de la gélose King B Medium .....	56
6. Préparation du bouillon nutritif.....	57
7. Préparation de la gélose nutritive.....	57
8. Préparation du milieu Müller-HintonAgar.....	57

Les biologistes et les chimistes ont toujours recherché des produits et des composés naturels, en raison de leurs propriétés biologiques, qui peuvent être développées pour le traitement des maladies infectieuses et non infectieuses (Cowan, 1999).

La capacité à traiter avec succès les maladies infectieuses est menacée, et ceci, en raison de l'augmentation des capacités des microorganismes à résister aux agents antimicrobiens (RAM) (Nascimento *et al.*, 2000). Cette augmentation de la résistance continue de poser des problèmes à la médecine moderne (Tsamo *et al.*, 2021), et augmente le taux de mortalité par des maladies causées par les infections microbiennes (Silva et Fernandes, 2010).

Cette situation a obligé les scientifiques à rechercher de nouveaux agents antimicrobiens provenant de diverses sources, comme les plantes (Rahman et Islam, 2013), les animaux et les microorganismes (Yili *et al.*, 2014). Cependant, les scientifiques ont concentré leurs attentions sur la phytothérapie (Chagas *et al.*, 2021 in Ciorîta *et al.*, 2021).

Trouver des pouvoirs de guérison dans les plantes est une idée ancienne (Cowan, 1999). Les plantes sont considérées comme un riche réservoir de composés qui ont de nombreuses activités biologiques rapportées (Famuyide *et al.*, 2019) telles que des activités antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires (Motyka *et al.*, 2022)

Les graines de *Salvia hispanica* ont été décrites comme une bonne source de lipides, de protéines, de composés polyphénoliques et d'acides gras polyinsaturés oméga-3 (Imran, Nadeem, Manzoor, Javed, *et al.*, 2016) qui possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé humaine, telles que les propriétés antibactériennes (Rodriguez *et al.*, 2021).

Pour cela, l'objectif de notre travail est de rechercher de propriétés antibactériennes dans les graines de *Salvia hispanica*, ces derniers ont été testé vis-à-vis des 3 souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 25 923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853, *Escherichia coli* ATCC 25 921). La sensibilité ou la résistance de ces souches bactérienne vis-à-vis la solution des graines de *Salvia hispanica* ont été déterminées sur milieu solide et sur milieu liquide. Aussi, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), de ces graines, ainsi que la Concentration Inhibitrice Médiane (IC50) ont été déterminés.

Les résultats obtenus montrent la présence d'activités antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, contre les souches bactériennes de références testées.

# *Synthèse Bibliographique*

## **1. Propriétés biologiques**

L'être humain doit compter sur les sources de la nature, comme les champignons, les animaux et les plantes (Wink, 2015), pour leurs différentes propriétés biologiques qui se trouvent dans leurs composés naturels avec des effets bénéfiques possibles pour diverses pathologies humaines (Galvano *et al.*, 2004). Ces effets bénéfiques sont dus, entre autres, à la présence de propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Motyka *et al.*, 2017).

Depuis toujours, l'homme a souffert de plusieurs infections microbiennes causées par des bactéries, des champignons, des virus et des parasites, mais aussi il a souffert d'inflammations, de rhume, de problèmes digestifs, de douleurs et de nombreux autres troubles de santé et maladies (Wink, 2015). Pour remédier à ceci, les produits naturels issus des plantes, des animaux ou des microorganismes peuvent être des sources de composés bioactifs susceptibles d'être utilisés en tant que médicaments (Geneviève-Djouossi *et al.*, 2015)

De même pour remédier contre l'inflammation les produits naturels peuvent être une solution. L'inflammation est une réponse immunitaire innée (Harikrishnan *et al.*, 2018) et adaptative (Dinarello, 2010) qui se produit dans le corps humain afin de le protéger contre des produits chimiques nocifs, des agents pathogènes envahissants ou des blessures (Harikrishnan *et al.*, 2018). L'inflammation peut entraîner des maladies neurodégénératives ou même un cancer (Dinarello, 2010). Les végétaux ou leurs dérivés peuvent être une source de propriétés anti-inflammatoires, par exemple, les flavonoïdes et la classe des tanins de natures végétales, ont été la cible d'un intérêt croissant en tant que médicament thérapeutique potentiel pour inhiber ou pour diminuer l'activité inflammatoire (Nunes *et al.*, 2020).

Aussi, les produits naturels peuvent apporter des solutions lorsque l'organisme est exposé au stress oxydatif, ce dernier est facteur important de vieillissement et peut causer des maladies, il est produit lorsqu'il y a un excès de radicaux libres (Gomaa, 2013; Sebastiano *et al.*, 2017; in Tian *et al.*, 2018), tels que les radicaux hydroxyle, les anions superoxydes et les peroxydes lipidiques (Sultana *et al.*, 2021). Les radicaux libres sont responsables d'un grand nombre de maladies comme par exemple le cancer (Kinnula et Crapo, 2004 in Alam & Bristi, 2013) ou des maladies cardiovasculaires (Giugliano et Ceriello, 1996). Cependant, il a été montré que des antioxydants comme la  $\beta$ -carotène ou la vitamine E, synthétisés par les plantes et par les microorganismes photosynthétiques (Nicol et Maudet, 2000), jouent un rôle

essentiel dans la prévention de diverses maladies, telles que les maladies cardiovasculaires (Lobo *et al.*, 2010).

Les maladies infectieuses représentent une cause importante de morbidité et de mortalité dans la population générale (Silva et Fernandes, 2010), entre autres, en raison du développement par les microorganismes d'une multirésistance aux médicaments antimicrobiens. Cette multirésistance est la conséquence de comportements d'adaptation des microorganismes aux médicaments antimicrobiens (Suresh *et al.*, 2012). Les agents antimicrobiens jouent un rôle essentiel dans la réduction du fardeau mondial des maladies infectieuses (Manandhar *et al.*, 2019). Pour cela, les ethnopharmacologues, les botanistes, les microbiologistes et les chimistes parcourent la Terre à la recherche de produits naturels qui pourraient être développés pour le traitement de ces maladies infectieuses (Mahrajan *et al.*, 2014).

### **1.1. Propriétés antimicrobiennes**

La résistance aux antimicrobiens (RAM) menace la capacité de traiter avec succès les maladies infectieuses dans le monde entier. La RAM fait référence à la résistance des bactéries, des champignons, des virus et des protozoaires aux antimicrobiens (Chassagne, Samarakoon, Porras, Lyles, Dettweiler, *et al.*, 2021). La résistance des microorganismes aux antimicrobiens s'est développée en raison de :

- La prescription non-contrôlée et de la mauvaise utilisation de médicaments antimicrobiens disponibles dans le commerce, pour le traitement des maladies infectieuses (Rahman et Islam, 2013), et l'utilisation d'antibiotiques dans le monde animal pour augmenter la productivité (Weiss, 2002).

- L'immense variabilité génétique due aux mutations, aux réarrangements et aux transferts horizontaux des gènes (Bengtsoon-Palme *et al.*, 2017).

De plus, ces dernières années les sociétés pharmaceutiques ont été incitées à développer de nouveaux médicaments antimicrobiens, notamment en raison de l'émergence constante de microorganismes résistants aux antimicrobiens conventionnels mais aussi en raison de l'effet secondaire des produits chimiques antimicrobiens (Silva et Fernandes, 2010).

### **1.1.1. Mode d'action des antimicrobiens**

Les agents antimicrobiens sont des substances qui interfèrent avec la croissance des microorganismes (Larivière, 2002) et de ce fait ils ont été approuvés pour une utilisation en médecine humaine et vétérinaire (Schwar *et al.*, 2016)

Ces agents antimicrobiens peuvent induire la mort cellulaire et on parle ainsi d'agents biocides ou simplement inhibent la croissance cellulaire et on parle ainsi d'agents biostatiques (McDonnell et Russel, 1999)

Les biocides sont des agents antimicrobiens dotés de propriétés antiseptiques, désinfectantes et conservatrices (Denyer *et al.*, 2004), qui se basent sur la capacité d'endommager à la fois la paroi cellulaire des microorganismes et la membrane plasmique, mais aussi l'inhibition de la réplication de l'ADN (Tasca et Antiochia, 2020). Par exemple, le glutaraldéhyde (GTA) forme des réticulations qui réagissent fortement avec les protéines, inhibant l'activité enzymatique ou fixant d'autres structures, inhibant d'importantes fonctions de survie des microorganismes (Maillard, 2002).

Les biostatiques un terme général indiquant l'inhibition de la croissance ou la multiplication d'un organisme, en particulier des microorganismes (Peršin *et al.*, 2014), c'est-à-dire qu'ils les maintiennent dans la phase stationnaire de croissance (Pankeyet Sabath, 2004) par le blocage de la réplication de l'ADN, via l'inhibition de l'ADN gyrase (Silva *et al.*, 2011). Par exemple, l'érythromycine est un agent biostatique, qui inhibe la croissance et la reproduction bactérienne (Gbian & Omri, 2019) par exemple, en se liant à la sous-unité 50S du ribosome bactérien pour inhiber la synthèse des protéines (Schafhauser *et al.*, 2018).

La manière la plus courante de mode d'action des antimicrobiens est de déclencher la perturbation de la membrane cytoplasmique comme par exemple par la formation ; de pores, cette perturbation, elle est non spécifique mais très efficace (Scheinflug *et al.*, 2015). Aussi ils agissent par inhibition de la synthèse des protéines, par interférence avec la synthèse des acides nucléiques, ou bien l'inhibition des voies métaboliques intermédiaires (McDonnell et Russel, 1999).

Les différents microorganismes : les virus, bactéries, champignons et protozoaires pathogènes sont de plus en plus difficiles à traiter avec les médicaments existants (Orhan *et al.*, 2010), cette situation a poussé les scientifiques à étudier de nouvelles substances naturelles (Mutlu-Ingok *et al.*, 2020) qui possèdent un large éventail de propriétés, notamment des propriétés antibactériennes, antifongiques, et antivirales (Chassagne *et al.*, 2021), capables de traiter les souches microbiennes résistantes (Yah et Simate, 2015).

L'activité antibactérienne est liée à des composés qui peuvent être classés soit comme bactéricides qui tuent bactéries, ou bactériostatiques, ralentissant la croissance bactérienne (Hajipour *et al.*, 2012), les agents antibactériens peuvent causer des dommages à l'ADN, aussi ils peuvent inhiber la synthèse des protéines, inhiber le renouvellement de la paroi cellulaire (Kolodkin-Gal *et al.*, 2008) ou inhiber l'initiation de la synthèse de l'ARN, par exemple la rifampicine inhibe l'initiation de la synthèse d'ARN par son interaction avec la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase d'*Escherichia. coli* (Engelberg-kulka *et al.*, 2005)

De même que pour les infections bactériennes, les infections fongiques causées par des champignons opportunistes sont courantes (Nasrollahi *et al.*, 2011), et les agents antifongiques actuels ont des structures moléculaires qui induisent un mode d'action (Hochart *et al.*, 2008), soit sur la paroi cellulaire des champignons qui peut être considérée comme la cible principale des agents antifongiques en raison de sa structure de chitine (Nazzaro *et al.*, 2017), ou bien sur la membrane (Hochart *et al.*, 2008), comme l'huile essentielle de *Litsea cubeba* et son composant citral sont capables de présenter une activité antifongique contre *Fusarium moniliforme*, en causant des dommages à leur paroi cellulaire et leur membrane cellulaire, en inhibant la biosynthèse des protéines et des peptidoglycanes (Nazzaro *et al.*, 2017) ainsi que l'uréease de Haricot Jack (JBU) qui est capable d'inhiber la croissance de l'oomycète *Pythium oligandrum*, par la propriété antifongique des uréases (Becker-Ritt *et al.*, 2017).

De nombreux médicaments antiviraux ont une utilisation limitée en raison de leur toxicité, tandis que d'autres maladies virales n'ont pas encore trouvé de remède (Maregesi *et al.*, 2008) pour cela, il existe un besoin croissant de recherche de nouveaux composés ayant une activité antivirale (Vijayan *et al.*, 2004), du fait que le traitement des infections virales avec la plupart des antiviraux est souvent insatisfaisant (Kudi et Myint, 1999) en raison du problème de la résistance virale (Vijayan *et al.*, 2004). Les antiviraux sont efficaces dans les

cas où il n'y a pas de vaccins disponibles contre des virus comme le virus Influenza ( Pepin *et al.*, 2013 in Jansi *et al.*, 2021) .

Concernant l'activité antivirale, il existe plusieurs composés naturels ayant une valeur antivirale prouvée dans la prévention et/ou l'atténuation des infections virales (Mohammadi Pour *et al.*, 2019), comme par exemple il a été rapporté que l'activité antivirale des polysaccharides sulfatés résulte de l'interférence avec les premières étapes du processus de réplication virale, y compris l'adsorption du virus (Damonte *et al.*, 2004 ; Harden *et al.*, 2009) tel que l'inhibition de la fixation initiale du virus enveloppés (comme les virus des familles des flavivirus, des togavirus, des arénavirus, des rhabdovirus, des orthopoxvirus et des herpesvirus), aux cellules hôtes (Harden *et al.*, 2009) suite à une interaction ionique entre les régions chargées positivement de la glycoprotéine externe virale impliquées dans la fixation du virion et les constituants chargés négativement de la surface cellulaire de la cellule hôte (Damonte *et al.*, 2004). Aussi, la glycyrrhizine, un composé important, présente dans *Glycyrrhiza glabra* , a une activité antivirale contre de nombreux virus tels que les infections par le VHB, le VHC, le VIH et le HSV (Jansi *et al.*, 2021).

Ces agents ou médicaments antimicrobiens peuvent provenir de différentes sources telles que les plantes, les animaux, les mammifères et les microorganismes (Pushpanathan *et al.*, 2013).

### **1.1.2. Propriétés antimicrobiennes chez les organismes vivants**

Les produits naturels ont attiré l'attention de chercheurs pour le traitement de diverses maladies causées par des infections microbiennes difficiles (Tripathi *et al* 2004; Ullah *et al* 2015 in Sadiq *et al.*, 2016), telles que la tuberculose, les infections des voies urinaires, la méningite, la dermatite et autres (Sadiq *et al.*, 2016). La résistance aux médicaments est le plus grand obstacle au succès du traitement des maladies infectieuses et qui a été observée suite à l'introduction de nombreux agents antimicrobiens dans la pratique clinique (Jakubczyk et Dussart, 2020).

Les produits naturels à activité antimicrobienne sont les meilleures alternatives (Tiwari *et al.*, 2007 in Das *et al.*, 2010), des produits chimiques antimicrobiens en raison de l'effet secondaire qu'ils peuvent avoir et la résistance que les microorganismes pathogènes peuvent développer contre les antibiotiques (Yakhlef *et al.*, 2011). Les produits naturels peuvent donc être une source potentielle des antimicrobiens naturels à bas prix (Gyawali et Ibrahim, 2014).

À l'heure actuelle, environ 40 % des médicaments délivrés sur ordonnance sont des substances extraites à partir de plantes, d'animaux et de microorganismes (Alves et Rosa, 2005).

Les insectes, les animaux, les plantes et les bactéries produisent des molécules qui comprennent des bactériocines de bactéries, des cyclotides de plantes et des thêta-défensines d'animaux (Tam *et al.*, 2015).

### **1.1.3. Propriétés antimicrobiennes chez les microorganismes**

Les microorganismes servent comme source précieuse de composés bioactifs, dont certains ont permis de développer de nouveaux médicaments (Salikin *et al.*, 2020), tels que les actinomycètes et en particulier *Streptomyces*, qui sont considérés comme une source de composés moléculaire bioactifs (Dezfully et Ramanayaka, 2015).

En 1928, Fleming découvre la pénicilline. Il a constaté que la croissance de *Staphylococcus aureus* était inhibée par un champignon du genre *Penicillium*, montrant qu'un microorganisme peut produire des substances susceptibles d'inhiber la croissance d'autres microorganismes (Saga et Yamaguchi, 2009).

Les produits naturels obtenus à partir de microorganismes apparaissent comme la source la plus prometteuse des futurs antibiotiques (Yunus *et al.*, 2016 in Gislin *et al.*, 2018), la capacité métabolique des microorganismes affectent grandement la synthèse des métabolites bioactifs, qui comprennent des composés antibactériens, antifongiques et des inhibiteurs d'enzymes (Kiranmayi *et al.*, 2011).

Les levures ont montré aussi leur efficacité antimicrobiennes, par exemple la levure *Aureobasidium pullulans* montre une activité antagoniste contre plusieurs phytopathogènes comme *Botrytis cinerea* et *Colletotrichum acutatum* (Zahir *et al.*, 2018). De même les bactéries lactiques ont montré leur capacité à avoir des actions bactéricides et/ou bactériostatiques (De Vuyst et Vandamme, 1994 in Bouzaid *et al.*, 2016), tel que la bactérie *Lactococcus subtilis* qui inhibe la plupart des germes responsables des toxi-infections alimentaires, de Gram positive notamment *Listeria monocytigenes*, *Clostridium botulinum* et *Staphylococcus aureus* (Raimbault, 1995). Aussi, le champignon *Trichoderma cf. harzianum* couramment utilisé comme souche de lutte biologique, a montré une bonne activité antagoniste contre différents champignons phytopathogènes (An *et al.*, 2020).

Concernant les substances à effet antimicrobien, produites par les microorganismes, de nombreuses études ont montré que des bactéries sont capables de produire des composés biologiquement actifs (Penesyan *et al.*, 2009), par exemple la subtiline, est un composé antimicrobien produit par *Bacillus subtilis*, qui s'est révélée efficace contre les bactéries à Gram positif comme *Staphylococcus aureus* et à Gram négatif comme *Escherichia coli* (Beima *et al.*, 2002. Dhanapathi *et al.*, 2008 in Mohammed & Sheikh, 2010). Dans le même contexte d'autres études ont montré que des extraits de cyanobactéries, présentent une toxicité envers d'autres microorganismes (Shishido *et al.*, 2019) comme par exemple, le polysaccharide sulfaté isolé de la cyanobactérie *Spirulina platensis*, nommé spirulan, a démontré une puissante activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) et également contre le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) (Falaise *et al.*, 2016).

#### **1.1.4. Propriétés antimicrobiennes chez les animaux**

Dans pratiquement toutes les cultures humaines, les animaux ont été utilisés comme ressources médicinales pour le traitement et le soulagement d'une plusieurs maladies (Eraldo & Costa, 2004) par usage intensif des animaux et de leurs produits (Lev, 2003), dans un but thérapeutique basé sur l'utilisation des médicaments obtenus à partir d'animaux ou de leurs dérivés et connue sous le nom de zoothérapie (Mahawar et Jaroli, 2006).

Sept principales sources animales ont été exploitées à des fins médicales à travers l'histoire : le miel, la cire, la vipère, les testicules de castor, l'huile de musc, le corail et l'ambre gris (Lev, 2003), pour améliorer la santé et soigner des maladies (Rômulo et Humberto, 2011), notamment la toux, l'asthme, la tuberculose, la paralysie, les maux d'oreille, l'herpès, la faiblesse, les douleurs musculaires (Mahawar & Jaroli, 2008).

De même, la viande de *Cynopterus sphinx* (chauve-souris) a été utilisée pour soulager la fièvre et la toux (Jaroli *et al.*, 2010) ou le miel qui a été utilisé pour le traitement des troubles hépatiques et gastro-intestinaux, des ulcères gastriques, ainsi que pour cicatriser les plaies (Eraldo et Costa, 2005).

D'autres études ont montré les propriétés antimicrobiennes dans des sources animales comme c'est le cas de plusieurs défensines animales, comme par exemple la dermaseptine, l'antileucoprotéase, la protégrine et d'autres, qui ont été testées pour leurs activités

antimicrobiennes et leur efficacité contre les bactéries, les champignons et les protistes (Das *et al.*, 2010). Aussi, il a été documenté que l'urine de vache, de mouton, de chameau hyrax, chèvre, rhinocéros et âne sont efficaces comme antifongique, pour le traitement et la désinfection, des maladies de la peau (Altaf *et al.*, 2017), aussi le lait de chamelle aurait un effet antimicrobien contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, notamment *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhimurium* (Berhe *et al.*, 2017).

Des peptides d'origine animale peuvent également avoir des effets contre des microorganismes. Par exemple, la protéine porcine, peut agir contre *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Candida albicans* (Douglas *et al.*, 2008). Aussi, la protéine de type C3 dans le sérum d'alligator joue un rôle fonctionnel dans les propriétés antibactériennes du sérum d'alligator (Merchant *et al.*, 2005).

#### **1.1.5. Propriétés antimicrobiennes chez les plantes**

Les plantes médicinales sont continuellement considérées comme une bonne source de produits naturels pour le traitement de diverses maladies (Shazhni *et al.*, 2018), telles que les affections pulmonaires, l'asthme, l'hypertension, l'infertilité (Maema *et al.*, 2016) et aussi les maladies infectieuses (Silva et Fernandes, 2010).

La connaissance de leurs propriétés curatives les plantes s'est transmise au cours des siècles au sein et entre les communautés humaines (Silva et Fernandes, 2010). Les plantes disposent d'un large éventail de mécanismes de défense pour lutter contre les stress physiques, chimiques et biologiques (Tam *et al.*, 2015), et ceci est possible en raison de leurs activités biologiques dont elles disposent, et l'étude des propriétés médicinales de diverses plantes suscite un intérêt croissant (Rahman et Islam, 2013).

L'un des domaines de recherche les plus actifs est la recherche des composants naturels de plantes à activité biologique (Tam *et al.*, 2015) telles que les activités antioxydantes (Arulselvan *et al.*, 2016), antitumorales, anti-inflammatoires (Tunçil et Çelîk, 2019) et en particulier les activités antimicrobiennes (Kobus-cisowska *et al.*, 2018).

Les plantes sont riches en une grande variété de métabolites secondaires telles que les tanins, les alcaloïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes, reconnues comme des ressources précieuses de composés antimicrobiens naturels (Manandhar *et al.*, 2019), servant à la protection contre les agents agresseurs, en particulier les microorganismes (Silva et Fernandes, 2010)

En effet, des études ont suggéré que les composés bioactifs des plantes (les tanins, les alcaloïdes, flavonoïdes, composés phénoliques et stéroïdes et autres) (Shazhni *et al.*, 2018), sont synthétisés par le métabolisme secondaire (Medina *et al.*, 2005 Romero *et al.* 2005 in Manandhar *et al.*, 2019), dans le cadre du mécanisme de défense, des plantes, contre les attaques de microorganismes (Dafni et Bock, 2019).

Aussi, il a été rapporté que les peptides antimicrobiens (AMP) sont exprimés dans des systèmes végétaux tels que le tabac, la banane et la pomme de terre (Pushpanathan *et al.*, 2013). Les AMP sont des produits naturels bien connus considérés comme des alternatives aux antibiotiques (Tanhaeian *et al.*, 2020). Ces AMP ont un rôle défensifs pour perturber la pénétration microbienne dans les membranes cellulaires (Tam *et al.*, 2015), par leur capacité à endommager la membrane cellulaire des microorganismes (Guilhelmelli *et al.*, 2013). Les peptides végétaux possèdent une large activité antimicrobienne contre les bactéries, les champignons ou les virus ( Heidari *et al.*, 2002 in Yili *et al.*, 2014).

Les principaux groupes de peptides antimicrobiens trouvés dans les plantes sont représentés par les thionines, les défensines et les protéines de transfert des lipides (Fontes & Castro, 2005), Les peptides végétaux possèdent une large activité antimicrobienne contre les bactéries, les champignons ou les virus ( Heidari *et al.*, 2002 in Yili *et al.*, 2014).

Il existe aussi d'autres molécules qui peuvent avoir des propriétés antimicrobiennes qui sont les enzymes, par exemple ces enzymes possèdent la propriété de ralentir la pénétration microbiennes ainsi que leurs diffusion des toxines dans les tissus des plantes (Benhamou et Picard, 1999). Parmi ces enzymes on peut citer les chitinases, les déacétylases de la chitine, les chitosanases, les G-1,3-glucanases, les lysozymes et d'autres activités capables d'hydrolyser les parois bactériennes ou fongiques (Asselin, 1993). Par exemple, les 1,3-glucanases, sont des enzymes capables de dégrader les composés majeurs de la paroi de la plupart des champignons pathogènes (Benhamou et Picard, 1999) et les lysozymes capables d'hydrolyser les polymères structuraux des parois des microorganismes (Asselin, 1993).

Les dérivés des plantes ont aussi leur importance tels que les extraits et les huiles essentielles qui possèdent aussi des propriétés antimicrobiennes (Hammer *et al.*, 1999).

En raison de la résistance des microorganismes aux antibiotiques conventionnels (Silva et Fernandes, 2010), beaucoup d'attention a été prêtée aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (Yakhlef *et al.*, 2011) du fait de leurs activités antimicrobiennes et de leur faible toxicité (Yili, Maksimov, Ma, *et al.*, 2014), ce qui a permis de les utiliser pour lutter contre le nombre croissant des souches bactériennes, tel que la puissante activité inhibitrice de l'extrait de *Vernonia polyanthes* contre les souches de *Leishmania* (Silva et Fernandes, 2010). Aussi, les huiles essentielles de la *Lavandula bipinnata* a montré une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram positif tel que *Staphylococcus aureus*, et *Bacillus subtilis* et contre des champignons tel que *Penicillium notatum* et *Candida albicans* (Hanamanthagouda *et al.*, 2010).

Les différents constituants antimicrobiens des différentes parties des plantes telles que les tiges, les racines, les fruits, les fleurs et les graines, sont largement utilisés pour obtenir diverses substances pharmacologiquement actives (Shazhni *et al.*, 2018) comme par exemple, les extraits de racines et de feuilles de *Lippia buissonnant* évaluée pour une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et autres (Silva et Fernandes, 2010).

Aussi, il a été signalé que tous les extraits aqueux des feuilles des plantes *Acacia nilotica*, *Sida cordifolia* possèdent une activité antimicrobienne contre les agents pathogènes, comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae* et *Candida albicans* (Vashist et Jindal, 2012). De même, l'extrait de cyclohexane du fruit de *Monodora myristica* et l'extrait d'acétate d'éthyle de l'écorce de tige d'*Albizia gummifera* sont efficaces pour inhiber la croissance de *Candida albicans* et de *Candida krusei* (Silva et Fernandes, 2010).

Concernant les graines des plantes, ces dernières contiennent un grand nombre de composés chimiques tel que les alcaloïdes, les lectines, les composés phénoliques et les flavonoïdes, ces composés fonctionnent dans la protection des graines contre la dégradation microbienne (Borchardt *et al.*, 2009). Par exemple des études ont montré que les extraits de graines d'*Elettaria cardamomum* présentent une activité antibactérienne sur différentes bactéries telles que *Staphylococcus aureus* ainsi que le *Staphylococcus aureus* Multirésistant

aux médicaments (MDR-MRSA) (Caleb. *et al.*, 2009). Aussi, il a été montré que les graines de *Salvia hispanica*, possèdent des propriétés antimicrobiennes (Motyka *et al.*, 2017) contre les souches bactériennes à Gram<sup>+</sup> et des souches à Gram<sup>-</sup> (Güzel *et al.*, 2020).

## 2. La plante *Salvia hispanica*

*Salvia hispanica* est une plante annuelle elle pousse dans les climats secs et semi-secs, elle est originaire du Mexique et du Guatemala actuels (Kobus-cisowska *et al.*, 2018). *Salvia hispanica* est classée dans la famille des *Lamiaceae*, la superdivision de *Spermatophyta* et le royaume de *Plantae* (Mohd Ali *et al.*, 2012), comme montré dans le tableau suivant.

**Tableau 1:** Classification taxonomique de *Salvia hispanica* (National Center for Biotechnology Information (NCBI) taxonomie).

Royaume	Plantae
Sous-royaume	<i>Viridiplantae</i>
Infra-royaume	<i>Streptophyta</i>
Superdivision	<i>Embryophyta</i>
Division	<i>Tracheophyta</i>
Subdivision	<i>Spermatophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Superordre	<i>Asteranae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia hispanica</i>

## 2.1. Caractéristiques de la plante *Salvia hispanica*

*Salvia hispanica* est une plante à fleurs (Figure 1) de jours courts sensible à la photopériode (Gupta *et al.*, 2021), fleurissant lorsque les nuits sont plus longues (Busilacchi *et al.*, 2013 in Herman *et al.*, 2018). Cette plante dispose des verticilles, qui ont une structure labiale typique (Motyka *et al.*, 2017). La plante de *Salvia hispanica* produit de nombreuses petites graines blanches et foncées qui mûrissent en automne (Capitani *et al.*, 2012) qui possède de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé (Rodriguez *et al.*, 2021). La caractéristique la plus importante sélectionnée est la coupe fermée (Motyka *et al.*, 2017), qui empêche la dispersion des parties de la plante, telles que les branches, les feuilles et les racines, ont été utilisées moins fréquemment que les graine pour lutter contre les voies respiratoires infection (Grancieri *et al.*, 2019).



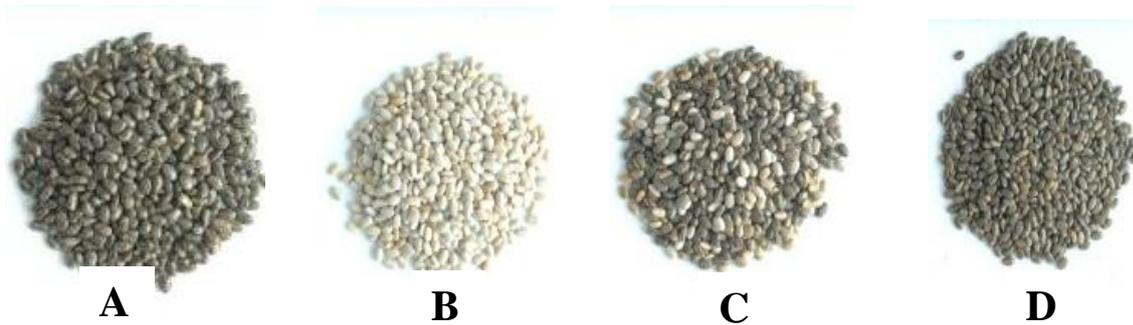
**Figure 1:** Plante de *Salvia hispanica* ( Sapio *et al.*, 2012, in Mohd Ali *et al.*, 2012)

*Salvia hispanica* est sensible à la lumière du jour, elle pousse jusqu'à une hauteur de 1 m. Les feuilles de cette plante sont allongées et dentelées, disposées en face et mesurent 3–5 cm de large et 4–8 cm de long (Motyka *et al.*, 2017), *Salvia hispanica* produit également des petites fleurs blanches ou violettes (Figure 2), de 3 à 4 mm, avec de petites corolles et des parties florales fusionnées qui contribuent à un taux d'autopollinisation élevé (Mohd Ali *et al.*, 2012).



**Figure 2:** La fleur de la plante de *Salvia hispanica* (Wester et CkaBen-Bockhoff, 2007).

Les graines de *Salvia hispanica* généralement très petites de formes ovales de 2 mm de long et 1 mm de large, la surface de la graine est lisse, brillante (Kulczynski *et al.*, 2019), la couleur de la graine varie du noir, gris ou noir tacheté au blanc ( Knez Hrnčič *et al.*, 2018) (Figure 3).



**Figure 3:** Les différentes graines de *Salvia hispanica* (Peláez *et al.*, 2019).

**A :** Graines noire, **B :** graines Blanche, **C :** Graines mouchetés, **D :** Graines Gris

## **2.2. La composition chimique et phytochimique des graines de *Salvia hispanica***

Bien que différentes parties de la plante aient été utilisées à des fins alimentaires, médicinales et pharmaceutiques, la partie la plus attrayante de la plante est la graine (Tunçil et Çelîk, 2019). En 2019, les graines de *Salvia hispanica* ont été approuvées par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) en tant que nouvel aliment à usages prolongés, ce

qui a permis l'inclusion de graines de chia dans une variété d'aliments (Turck *et al*, 2019, Turck *et al*, 2015).

Les graines de *Salvia hispanica* ont été décrites comme une bonne source de lipides, de protéines, de fibres alimentaires, de composés polyphénoliques et d'acides gras polyinsaturés Oméga-3 (Imran, Nadeem, Manzoor, Ali, *et al.*, 2016) avec de grandes quantités de fer, de potassium, de calcium, de phosphore, et de vitamine A (Rahman *et al.*, 2019, de Silva *et al.*, 2017 in Rabail *et al.*, 2021). Leur composition chimique unique et leur haute valeur nutritionnelle font des graines de *Salvia hispanica* une matière première très précieuse (Motyka *et al*, 2017). Le tableau suivant représente les composants chimiques bioactifs des graines de *Salvia hispanica*.

**Tableau 2:** La composition chimique de la graine de *Salvia hispanica* (Din *et al.*, 2021)

Composés	Teneur en pourcentage
Glucides	41%
Graisses	30 %
Protéines	16-28 %
Cendre	4 %
Fibre alimentaire	8-30%

### 2.3. Les activités biologiques de la plante *Salvia hispanica*

Les parties des plantes telles que la tige, la racine, le fruit, la fleur et les graines, sont largement utilisés pour obtenir diverses substances pharmacologiquement actives (Shazhni *et al.*, 2018). Les feuilles de *Salvia hispanica* sont riches en composés flavonoïdes, principalement des dérivés de flavones et les acides phénoliques (Zayova *et al.*, 2016) qui représentent les principaux composant de l'activité antioxydante et leurs propriétés antimicrobiennes ( Amata *et al.*,2012, Elshafie *et al.*, 2018 in Motyka *et al*, 2017).

Les constituants des fleurs de *Salvia hispanica* comprennent des alcaloïdes, des glucides, des acides gras, des dérivés glycosidiques, des composés phénoliques et des terpènes

(Narayanan *et al.*, 2015 in de Falco *et al.*, 2021), ainsi, l'utilisation des racines étaient autrefois utilisées pour traiter les diarrhées (Zúñiga-López *et al.*, 2021).

#### **2.4. Les activités biologiques des graines de *Salvia hispanica***

Les graines de *Salvia hispanica* contiennent des composés bioactifs (Chan-zapata *et al.*, 2019) qui présentent des activités biologiques telles que des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Dziadek, KOpec, *et al.*, 2022).

Les graines de *Salvia hispanica* contiennent un grand nombre d'antioxydants naturels (Hrnčič *et al.*, 2019), tels que les composés polyphénoliques (acides phénoliques et flavonoïdes) (Dziadek, *et al.*, 2022) ainsi que les tocophérols, les phytostérols, et les caroténoïdes (Hrnčič *et al.*, 2019), qui pourraient protéger contre les maladies cardiovasculaires et la formation de cancers (Tunçil et ÇelİK, 2019). Les graines de *Salvia hispanica* sont capables de désactiver les radicaux cationiques, ainsi la capacité de piéger les radicaux libre (Hrnčič *et al.*, 2019).

Les graines de *Salvia hispanica* ont des propriétés protectrices pour la santé et des propriétés anti-inflammatoires (Rabail *et al.*, 2021). Aussi, les graines de *Salvia hispanica* est une source de tanins, qui ont un effet astringent, contiennent également de l'huile essentielle (Motyka *et al.*, 2017), les fibres alimentaires présentes dans les graines, comprennent des fibres solubles et du mucilage qui pourraient diminuer les réponses inflammatoires (Tunçil et ÇelİK, 2019).

Les graines de *Salvia hispanica* sont riches en une grande variété de métabolites secondaires tels que les tanins, les alcaloïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes (Motyka *et al.*, 2017), les polysaccharides et les stérols (Bajpai., 2016 in Güzel *et al.*, 2020), qui se sont avérés avoir des propriétés antimicrobiennes (Duraipandiyan *et al.*, 2006, Djeussi *et al.*, 2013 in Manandhar *et al.*, 2019). D'autres études, ont montré que les graines de *Salvia hispanica* ont une activité antimicrobienne (Tunçil et ÇelİK, 2019) contre des souches bactériennes à Gram- et à Gram+ (Güzel *et al.*, 2020) et des champignons (Tunçil et ÇelİK, 2019).

Pour cela, l'objectif de notre travail est de rechercher des propriétés antibactériennes chez les graines de *Salvia hispanica*.

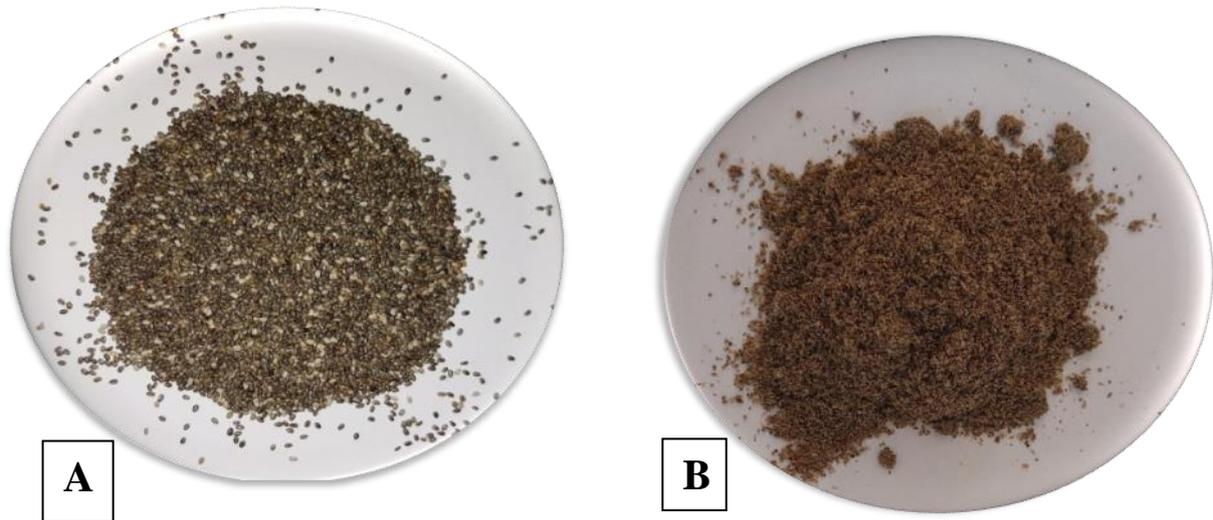
# *Matériels et Méthodes*

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'Université Belhadj Bouchaib- Ain Témouchent (UBBAT), durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2021/2022. Ce travail a pour but de rechercher des activités antibactériennes chez les graines de la plante *Salvia hispanica*.

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Récolte du matériel végétal

Les graines de *Salvia hispanica*, utilisées dans cette étude, ont été achetées à partir du commerce de la ville d'Ain Témouchent. Ces graines (Figure 4A) de *Salvia hispanica* ont été séchées à l'air libre pendant quelques jours, puis broyées à l'aide d'un broyeur. La poudre obtenue (Figure 4B) a été utilisée pour la préparation de la solution des graines qui va servir à la recherche de propriétés antibactériennes.



**Figure 4:** Graines de *Salvia hispanica* utilisé dans cette étude

(A) : les graines de *Salvia hispanica*, (B) : Poudre des graines de *Salvia hispanica*.

### **1.2. Préparation d'extrait de *Salvia hispanica***

Pour l'obtention de la solution des graines de *Salvia hispanica*, 0,5 g de poudre de ces graines ont été ajoutées à 10 mL d'eau distillée et laissée sous agitation pendant 2 heures.

Par la suite la solution obtenue est centrifugée à 6 000tr/min, pendant 5 minutes. Les surnageant obtenu est récupéré puis filtré à l'aide d'un micro-filtre (Figure 5). Le filtrat obtenu est conservé à 4°C, pour être testé pour ses propriétés antibactériennes



**Figure 5 :** Stérilisation de la solution des graines de *Salvia hispanica* par le micro-filtre

### **1.3. Détermination de pH de la solution des graines de *Salvia hispanica***

Pour déterminer le pH de la solution des graines de *Salvia hispanica*, des bandelettes de pH ont été utilisées.

### **1.4. Dosage des protéines**

Le dosage des protéines de la solution *Salvia hispanica* a été par la méthode de Bradford (1976).

Le test de Bradford est basé sur l'association des protéines et le colorant bleu de Coomassie G-250 (Coomassie Brilliant Blue G-250), qui se trouve en forme rouge et bleue, la forme rouge est convertie en forme bleue lors de la liaison du colorant à la protéine, la liaison du colorant à la protéine est un processus très rapide ( environ 2mn) (Bradford, 1976)

La couleur bleue du complexe Coomassie Brilliant Blue-protéine ou CBB-protéine est généralement mesurée à 595nm pour son rendement maximal (Lu *et al.*, 2010).

Pour déterminer la quantité de protéines dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, la protéine hémoglobine du sang bovin (Sigma-Aldrich) a été utilisée.

Pour cela, une solution mère de cette protéine a été préparée dans de l'eau distillée pour avoir une concentration de 10mg/mL. A partir de cette solution mère, une gamme de solution étalon de différentes concentrations d'hémoglobine (1 ; 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10 mg/mL) a été préparée (Tableau 3). Ensuite, 0,2 mL du réactif de Bradford ont été ajoutés à 0,8 mL à chacune des concentrations d'hémoglobine. La DO est, ensuite, mesurée à 595 nm et à partir des différentes DO, une courbe étalon  $DO = f([\text{hémoglobine}])$  a été tracée.

Après, 0,2 mL du réactif de Bradford ont été ajoutés à 0,8 mL de la solution des graines de *Salvia hispanica* et la DO mesurée à 595 nm.

**Tableau 3:** Gamme étalon utilisée pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine

Concentrations (mg/mL)	0	1	2,5	5	7,5	10
Volume (mL) de la solution mère hémoglobine du sang bovin 10mg/mL	0	0,08	0,2	0,4	0,6	0,8
Volume (mL) H <sub>2</sub> O	0,8	0,72	0,8	0,4	0,2	0

## 2. Préparation de standard McFarland 0.5

Les étalons McFarland sont des suspensions de sulfate de baryum qui permettent une comparaison visuelle de la densité bactérienne (Hudzicki, 2009). En microbiologie, les étalons McFarland sont utilisés comme suspensions de référence pour la comparaison avec des suspensions bactériennes dans des milieux liquides pour effectuer, par exemple, des antibiogrammes (Lahuerta Zamoura et Pérez-Gracia, 2012).

Pour la préparation du standard McFarland 0.5, on ajoute 0,05 mL de BaCl<sub>2</sub> à 0,048M, à 9,95 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 0,18M (Andrews, 2006). Le standard McFarland 0,5 est équivalent à une suspension bactérienne contenant entre  $1 \times 10^8$  et  $2 \times 10^8$  UFC/mL d'*E. coli* (Hudzicki, 2009).

### **3. Les souches bactériennes**

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude afin de rechercher des activités antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, sont des souches de références de la collection internationale ATCC (American Type Culture Collection) : *Staphylococcus aureus* 25923, *Escherichia coli* 25 921, *Pseudomonas aeruginosa* 27 853, qui font partie de la collection du laboratoire de Microbiologie de l'UBBAT.

#### **3.1. Purification et culture des souches de références bactériennes**

Les 3 souches de références utilisées pour cette étude, ont été purifiées par le repiquage sur leurs milieux de cultures sélectifs. La souche *Escherichia coli* ATCC 25 921 sur milieu MacConkey, *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 sur milieu MSA, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853 sur milieu King A, et King B, ensuite elles ont été incubées pendant 24H à 37° C.

Pour les cultures et la purification des souches de référence, ainsi que pour la détection des propriétés antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, des milieux de culture ont été préparés (Voir annexe).

#### **3.2. Vérification de la pureté et de l'aspect macroscopique et microscopique des souches de référence.**

##### **3.2.1. Observation macroscopique**

Après incubation, les colonies apparues sur le milieu de culture sélection été observées, afin de s'assurer de leur pureté, de leurs aspects, de leurs formes, leurs contours, de leurs couleurs etc...

##### **3.2.2. Observation microscopique**

L'observation microscopique a été réalisée suite à une coloration de Gram. Cette observation permet de vérifier la pureté des souches de références et de confirmer leur Gram, ainsi que leurs aspects morphologiques, leurs tailles, leurs modes de regroupements.

#### **4. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica* sur milieu solide**

##### **4.2. La méthode de diffusion par disques sur milieu Müller-Hinton Agar**

La détermination de l'activité antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica*, a été réalisée par méthode de diffusion par disques sur milieu Müller Hinton Agar (MHA), afin d'évaluer la résistance/sensibilité des souches bactériennes de références vis-à-vis de la solution des graines de *Salvia hispanica*, pour cela, 0,5 mL d'une suspension bactérienne, correspondant à McFarland 0,5, de chaque souche bactérienne de références sont étalés à la surface du milieu MHA, ensuite des disques de papier stérile imprégnés dans les solutions de graines de *Salvia hispanica* à différentes concentrations (5mg/mL, 12,5mg/mL, 25mg/mL, et 50mg/mL), sont déposés séparément à la surface du milieu MHA, de manière à avoir un contact directe avec les bactéries.

L'apparition d'une zone claire autour des disques signifiée une sensibilité des souches de référence vis-à-vis de la solution des graines de *Salvia hispanica*, par contre, l'absence d'une zone claire indique une résistance des souches de référence. Après incubation de 24h à 37°C, les zones d'inhibition seront mesurées.

- Si le diamètre d'inhibition est inférieur ou égal à 8 mm : bactéries résistantes
- Si le diamètre est entre 9 et 14 mm : bactéries sensibles
- Si le diamètre est entre 15 et 19 mm : bactéries très sensibles
- Si le diamètre supérieur ou égal à 20 mm : bactérie extrêmement sensible (Kouadio *et al.*, 2017).

##### **4.3. La méthode de dénombrement**

Pour étudier l'effet inhibiteur de solution des graines de *Salvia hispanica*, la méthode de dénombrement sur milieu solide a été utilisée.

Pour cela 2 boites ont été utilisées, une 1<sup>ère</sup> boite (témoin négatif) qui contient le milieu MHA et la 2<sup>ème</sup> boite (témoin positif) qui contient le milieu MHA additionné de 5% (2.5mg/mL), de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Les 2 boites sont ensuiteensemencées en surface par étalement de 0.5mL d'une pré-culture de 24h des souches bactériennes de références.

La même méthode appliquée pour une addition de 10% (5mg/mL) de la solution des graines de *Salvia hispanica* dans deux boites qui contient le milieu MHA

Après 24h d'incubation à 37°C, les colonies des 2 boîtes sont dénombrées pour être comparées.

## **5. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica* sur milieu liquide (Bouillon Nutritif)**

### **5.1. Mesure de la croissance bactérienne par spectrophotométrie**

Pour l'évaluation des propriétés antibactériennes des graines de *Salvia hispanica*, sur les souches bactériennes de références, le Bouillon nutritif a été utilisé.

Pour ce test, des tubes à essai contenant du bouillon nutritif stérile ont été utilisés. Pour chaque test, 3 tubes ont été utilisés :

1<sup>er</sup> tube (témoin négatif) : contient le BN additionné de la solution des graines de *Salvia hispanica* à des concentrations finales de 0,5mg/mL, 2,5mg/mL, 5mg/mL. Ce milieu n'est pas ensemencé avec les pré-cultures des souches de références.

2<sup>er</sup> tube (témoin positif) : contient le BN ensemencé avec des pré-cultures, de 24h, des souches de références sur BN de manière à avoir une DO<sub>600nm</sub> initiale de 0,01.

3<sup>e</sup> tube : contient le BN additionné de la solution des graines de *Salvia hispanica* à des concentrations finales de 0,5mg/mL, 2,5mg/mL, 5mg/mL, ensuite ce milieu est ensemencé avec des pré-cultures de 24h des souches de références sur BN, de manière à avoir une DO<sub>600nm</sub> initiale de 0,01.

Après incubation de 24h à 37°C, les DO des suspensions bactériennes du 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> tube seront mesurées à 600 nm et comparées, pour déterminer si la présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* influence la croissance des souches de référence, ce qui est révélateur de la présence de propriétés antibactériennes.

## **5.2. Étude d'effet bactériostatique/bactéricide des solutions des graines *Salvia hispanica***

Afin d'étudier l'effet bactériostatique/bactéricide de la solution des graines de *Salvia hispanica*, les cultures des souches de références obtenues après 24h d'incubation en présence des solutions de graines de *Salvia hispanica* à des concentrations finales de 0,5mg/mL, 2,5mg/mL, 5mg/mL, et sans la présence de ces solutions de graines de *Salvia hispanica*, ont été utilisées afin d'inoculer le milieu BN stérile de manière à avoir une DO<sub>600nm</sub> initiale de 0,01. Après incubation de 24h à 37°C, les DO<sub>600nm</sub> des 2 suspensions bactériennes seront mesurées et comparées, pour déterminer si la présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* avait juste inhibé la croissance (effet bactériostatique) des souches de référence ou avait tué ces souches de référence (effet bactéricide).

## **5.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice sur milieu liquide (Bouillon Nutritif)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) a été déterminée vis-à-vis les souches bactériennes de références par la méthode de micro-dilution sur microplaque de 96 puits.

La CMI est définie comme la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance (Toty *et al.*, 2013). Pour cette étude, 100 µL du milieu Bouillon Nutritif (BN) ont été déposés stérilement dans toutes les cupules de la plaque, 50 µL de l'extrait testée a été ajouté dans le 2 et le 3 puits, ensuite, le contenu du 3<sup>ème</sup> puits a été bien mélangé en réalisant des va-et-vient avec une micropipette. Puis les 100 µL de l'extrait testée et du BN du 3<sup>ème</sup> puits ont été récupérés et transférés dans la colonne 4. Ensuite de la même manière réaliser une série de dilutions successives pour le reste des puits. Tous les puits seront inoculés par 50 µL des suspensions bactériennes correspondant à une turbidité de 0,5 McFarland diluée 100 fois, dans tous les puits à l'exception des puits des colonnes 2. Incuber la microplaque à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation à 37°C pendant 24h, les DO<sub>600nm</sub> de tous les puits seront mesurés après dilution.

## **6. Évaluation de stabilité de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica***

### **6.1. L'influence du pH sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica***

Afin d'évaluer l'influence du pH sur l'activité de la solution des graines de *Salvia hispanica*, 0,5 mg de poudre des graines de *Salvia hispanica* ont été ajoutés à 10 mL de différents tampons (tampons phosphate à 0,2 M et 0,5 M et à pH 5,5, tampons Glycine NaOH 0,2M et 0,5 M et à pH 10) au lieu de l'eau distillée.

Pour ce test des tubes d'essai contenant du BN stérile ont été utilisés. Pour chaque tampons, 3 tubes ont été utilisé

1<sup>er</sup> tube (témoin négatif) : contient le BN additionné de la solution des graines de *Salvia hispanica* (préparé dans un tampon au lieu de l'eau distillée) à une concentration finale de 10%, ce milieu n'est pasensemencé avec les pré-cultures des souches bactériennes de références.

2<sup>e</sup> tube (témoin négatif) : contient le BN additionné de 10 % du tampons,ensemencé avec des pré-cultures de 24h des souches bactériennes de références sur le BN de manière à avoir une DO<sub>600nm</sub> initiale de 0,01

3<sup>e</sup> tube : contient le BN additionné de la solution tamponnée des graines de *Salvia hispanica* à une concentration finale à 5mg/mL (10%), ensuite le milieu estensemencé avec des pré-cultures de 24h des souches bactériennes de références, de manière avoir des DO<sub>600nm</sub> initial 0,01.

Après incubation à 37°C pendant 24h, les DO des suspensions bactériennes du 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> tube seront mesurées à 600nm et comparées, pour déterminer si le pH influence sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

## **6.2. L'influence de la température sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica***

Pour évaluer l'influence de la température sur les propriétés antibactériennes des graines de *Salvia hispanica*, leur solution a été traitée à 90°C au bain-marie pendant 2 heures. En parallèle cette solution a été traitée aussi à -20°C pendant 2 heures.

Pour ce test des tubes à essai contenant du BN stérile ont été utilisés. Pour chaque solution traité (90°C -20°C), 3 tubes à essai ont été utilisés.

1<sup>er</sup> tube (témoin négatif) : contient le BN additionné de la solution traitée des graines de *Salvia hispanica* à une concentration de 5mg/mL (10%), ce milieu n'est pasensemencé avec les pré-cultures des souches bactériennes de références.

2<sup>e</sup> tube (témoin positif) : contient le BNensemencé avec des pré-cultures, de 24h, des souches de références sur BN de manière à avoir une DO<sub>600nm</sub> initiale de 0,01.

3<sup>e</sup> tube : contient le BN additionnée des solutions des graines de *Salvia hispanica*, traitées à 90°C et à -20°C pendant 2 heures, à une concentration de 5mg/mL (10 %), ensuite le milieu estensemencé avec des pré-cultures des souches bactériennes de références de 24h de manière avoir des DO<sub>600nm</sub> initial 0.01

Après incubation à 37°C pendant 24h, les DO des suspensions bactériennes du 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> tube seront mesurées à 600 nm et comparées, pour déterminer si le traitement à des températures extrêmes, influence sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

# *Résultats et discussions*

### **1. Détermination du pH de la solution des graines de *Salvia hispanica***

La mesure du pH de la solution des graines de *Salvia hispanica* a été effectuée par l'utilisation des bandelettes de mesure de pH

Les résultats de cette mesure (Figure 6) montrent que les solutions des graines de *Salvia hispanica* ont un pH qui est situé entre 6 et 7.

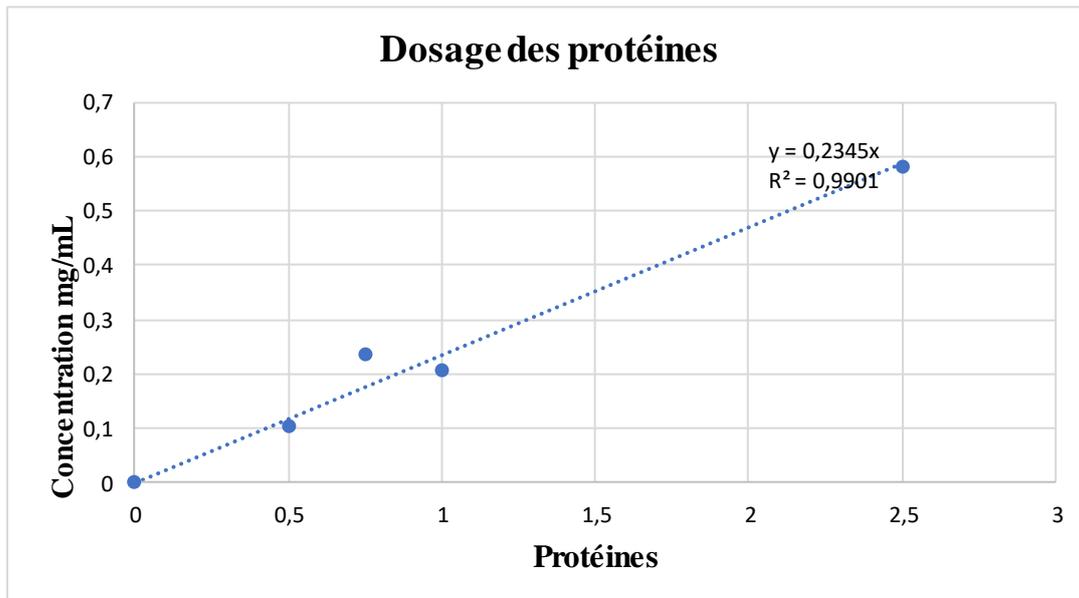


**Figure 6 :** Mesure de pH de la solution des graines de *Salvia hispanica*

#### **1.1. Dosage des protéines**

Le dosage des protéines de la solution des graines de *Salvia hispanica* est effectué par la méthode de Bradford (1976).

La mesure des DO à 595nm des différentes concentrations de protéine d'hémoglobine, nous a permis de tracer la courbe d'étalon  $DO = ([\text{hémoglobine}])$  (Figure 7)



**Figure 7:** Courbe étalon de la protéine d'hémoglobine

Le résultat obtenu du dosage de la teneur en protéine de la solution des graines de *Salvia hispanica* a révélé la présence de concentration de 20mg/mL, ce qui représente une concentration de 40% de protéine au niveau des graines *Salvia hispanica*. Cette concentration est plus élevée par rapport à ce qui a été montré par Marcinek et Krejpcio, (2017) qui ont trouvé une concentration des protéines qui varie entre 17 et 26 %. Cette différence de concentration des protéines peut être dû aux conditions de culture et aux facteurs environnementaux (Rodriguez *et al.*, 2021).

## 2. Préparation de Standard McFarland

Les suspensions bactériennes des souches de références *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25 921 ; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25 923 et *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27 853 utilisées pour la recherche de propriétés antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, ont été préparées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stériles. La turbidité des suspensions bactériennes de références a été ajustée afin de correspondre à la turbidité du standard McFarland 0.5 (Figure 8)



**Figure 8:** Comparaison visuelle entre la turbidité des 3 souches bactériennes de références

### **3. Vérification de la pureté et l'aspect macroscopique et microscopique des souches bactériennes de références**

#### **3.1. L'observation macroscopique**

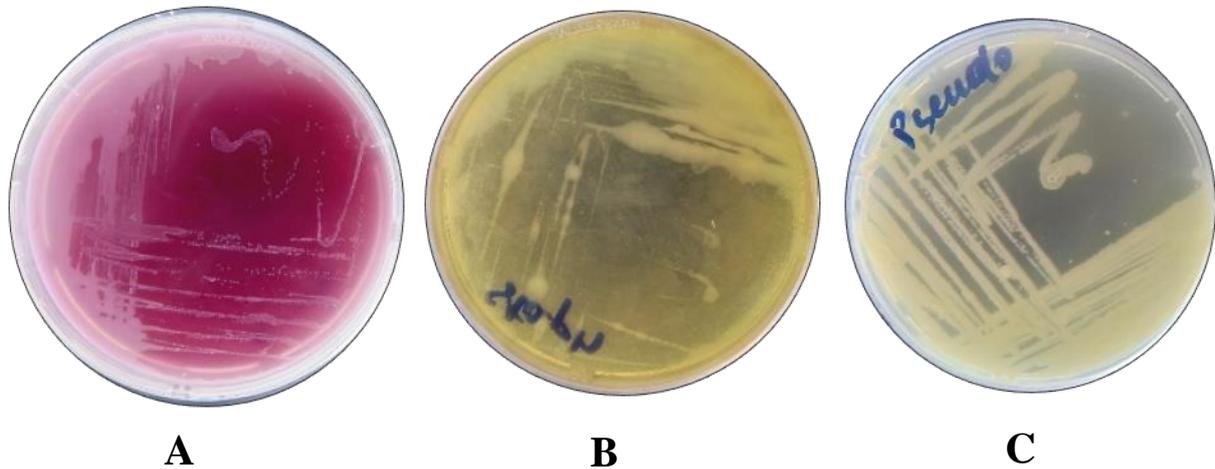
La pureté des souches bactériennes de références a été vérifiée par observation macroscopique sur milieux sélectifs (milieu MacConkey pour la souche *Escherichia coli*, milieu MSA pour la souche *Staphylococcus aureus*, milieux King A et King B pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*), qui permettent d'observer l'aspect, la couleur, la taille, la forme, la coupe et le contour des colonies (Figure 9).

L'observation macroscopique des souches bactériennes sur milieux sélectif a montré les aspects suivants :

-*E. coli* ATCC 25 921 sur milieu MacConkey, les colonies apparaissent petites, roses de diamètre 0.1mm, avec un aspect lisse et humide (Figure 9A).

-*S. aureus* ATCC 25 923 sur milieu MSA, les colonies apparaissent en forme ronde bombé avec couleur jaune brillant, un aspect lisse et visqueux, ainsi que la couleur du milieu de culture est transformée du couleur rouge en couleur jaune (Figure 9B).

-*P. aeruginosa* ATCC 27 853 sur milieu King A, les colonies apparaissent en forme ronde de couleur opaque, avec un aspect visqueux, ainsi que la transformation de couleur du milieu de culture de couleur opaque en couleur verte (Figure 9C).



**Figure 9:** Observation macroscopique des 3 souches bactériennes de références  
**A :** *Escherichia coli* ; **B :** *Staphylococcus aureus* ; **C :** *Pseudomonas aeruginosa*

Les observations macroscopiques, confirment la pureté des souches de référence.

### 3.2. Observation microscopique

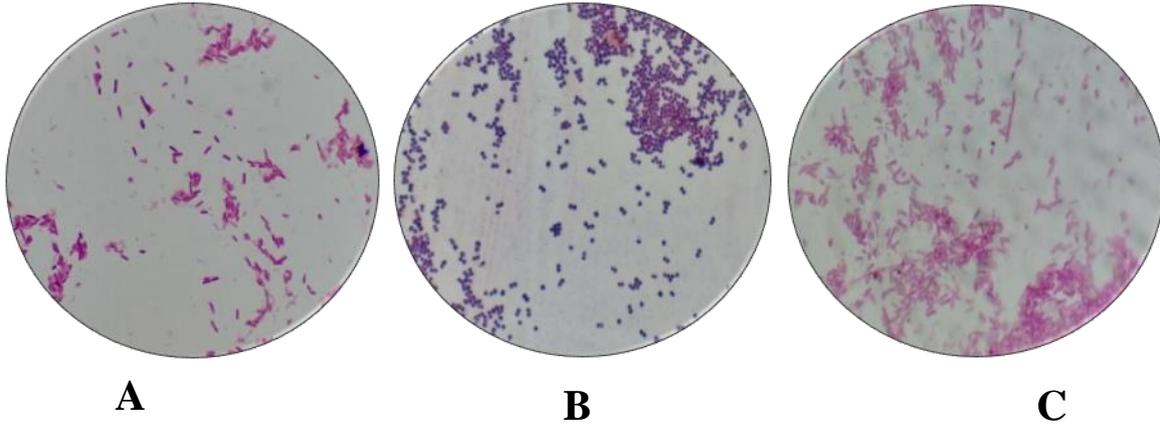
L'observation microscopique a été effectuée après coloration de Gram. Cette coloration permet de vérifier la pureté des souches bactériennes de référence ainsi que leur Gram (positif ou négatif), leur mode de regroupement, leur morphologie (Bacille ou Cocci) (Figure 10).

L'observation microscopique des souches bactériennes après coloration de Gram a montré les résultats suivants :

-*E. coli* avec une forme bacille et un regroupement diplobacille, la coloration de Gram montre que les souches sont des Gram- (Figure 10A).

-*S. aureus* avec une forme cocci, un regroupement en amas, la coloration de Gram montre que les souches sont des Gram+ (Figure 10B).

*P. aeruginosa* avec une forme bacille, la coloration de Gram montre que les souches sont des Gram- (Figure 10C).



**Figure 10:** Observation microscopique des souches bactériennes de références  
**A :** *Escherichia coli* ; **B :** *Staphylococcus aureus* ; **C :** *Pseudomonas aeruginosa*

Les observations microscopiques, confirment la pureté des souches de référence.

#### **4. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica* sur milieu solide**

##### **4.1. La méthode de diffusion par disque sur milieu Müller-Hinton Agar**

L'évaluation de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* a été réalisée par la méthode de diffusion par disque sur milieu Müller-Hinton Agar, afin de déterminer la Résistance/Sensibilité des souches de référence vis-à-vis des différentes concentrations (5mg/mL, 12,5mg/mL, 25mg/mL, et 50mg/mL) de la solution des graines de *Salvia hispanica*, par l'effet de la solution, les résultats obtenus ont été évalués en termes de diamètre de la zone d'inhibition formée après incubation pendant 24h à 37°C.

L'inhibition de la croissance bactériennes s'effectue par un éclaircissement autour des disques, les zones d'inhibition seront mesurées :

- Si le diamètre d'inhibition est inférieur ou égal à 8 mm : bactéries résistantes
- Si le diamètre est entre 9 et 14 mm : bactéries sensibles

- Si le diamètre est entre 15 et 19 mm : bactéries très sensibles
- Si le diamètre supérieur ou égal à 20 mm : bactérie extrêmement sensible (Kouadio *et al.*, 2017)

Le tableau ci-dessous récapitule les résultats obtenus de cette étude de Résistance/Sensibilité des souches de référence vis-à-vis des différentes concentrations de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

**Tableau 4:** Tableau des résultats Résistance/Sensibilité des souches bactériennes de références vis-à-vis la solution des graines de *Salvia hispanica*

	5mg/mL	12,5mg/mL	25mg/mL	50mg/mL
<i>S. aureus</i>	9mm S	9mm S	9mm S	11mm S
<i>P. aeruginosa</i>	8mm R	9mm S	9mm S	12mm S
<i>E. coli</i>	7mm R	8mm R	9mm S	9mm S

S : Sensible, R : Résistante

Les résultats du test diffusion par disque présenté dans le tableau 4, montrent la présence de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* a différentes concentrations (5mg/mL, 12,5mg/mL, 25mg/mL, et 50m/mL), sur les souches bactériennes de référence, sauf pour la souche *E. coli* qui a représenté une résistance vis-à-vis des concentrations 5mg/mL et 12,5mg/mL ainsi pour la souche *P. aeruginosa* qui présente une résistance à la concentration 5µg/mL. Par contre, les résultats obtenus par Tunçil et Çelik, (2019), sur l'activité antibactériennes de *Salvia hispanica*, par l'utilisation de la méthode de diffusion sur disque, vis-à-vis certaines souches bactériennes comme *S. aureus* et *E. coli*, ont montré que l'extrait aqueux de la solution des graine de *Salvia hispanican*'a aucune activité antibactérienne contre les souches étudiées.

L'étude de Divyapria *et al* (2016) sur l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des graines de *Salvia hispanica* à différentes concentrations (5mg/mL, 10mg/mL, 25mg/mL,

50mg/mL, 75µg/mL) contre des souches bactériennes parodontales, ont montré une zone d'inhibition entre 5mm et 18mm. Divyapriya *et al.*, (2016), ont suggéré que l'action antimicrobienne des graines de *Salvia hispanica* est probablement due à sa composition, les graines de *Salvia hispanica* contiennent environ 30% d'huile, qui contiendrait 17 à 26% d'acide linoléique et 50 à 57% d'acide  $\alpha$ -linoléique.

#### 4.2. La méthode de dénombrement

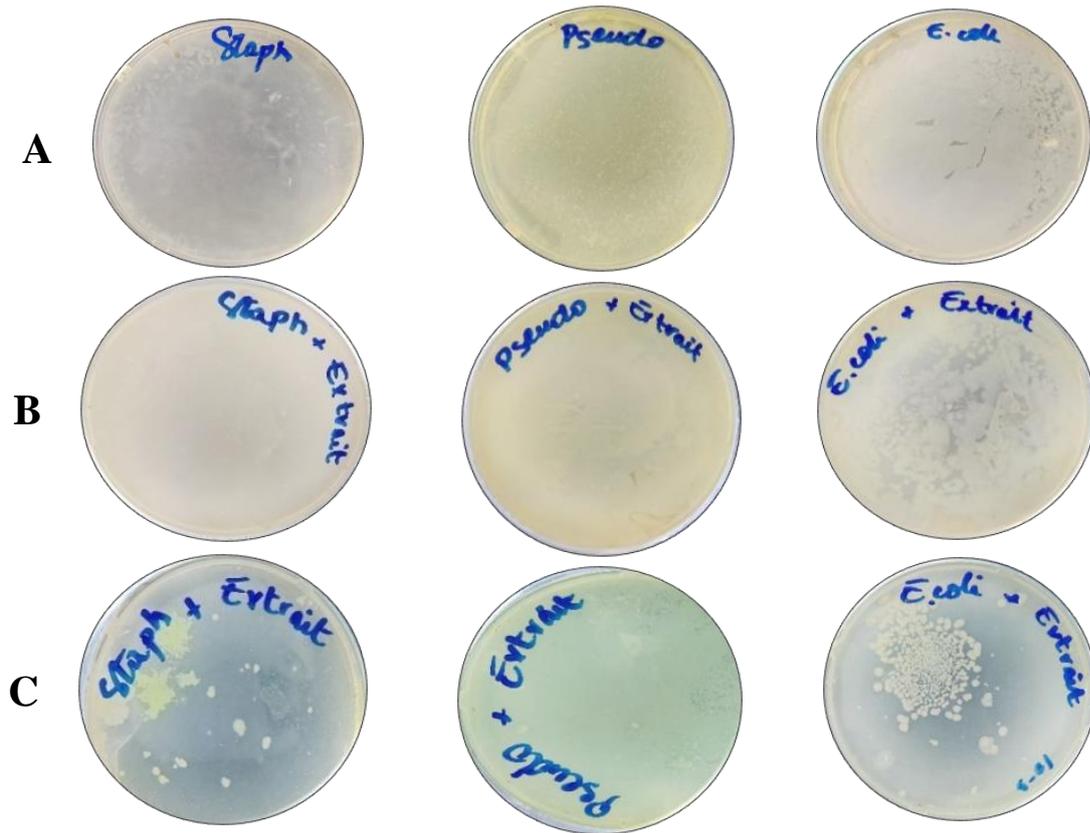
Afin d'étudier l'effet inhibiteur des graines de *Salvia hispanica* sur la croissance des souches bactériennes de référence, la méthode de dénombrement directe sur milieu solide a été utilisée, après ensemencement en surface sur un milieu Müller-Hinton Agar additionné de la solution des graines de *Salvia hispanica* à une concentration finale de 5% (correspondant à une concentration de 2.5mg/mL) et de 10% (correspondant à une concentration de 5mg/mL).

Après incubation de 24h à 37°C, les boîtes sont dénombrées et comparées avec un contrôle où la solution des graines de *Salvia hispanica* n'a pas été ajoutée.

Le dénombrement des bactéries a été effectué à l'aide d'un compteur de colonies, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 5** : Résultats de l'effet inhibiteur de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis les souches bactériennes de référence

	Concentration de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> à 5% (correspondant à une concentration de 2.5mg/mL)		Concentration de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> à 10% (correspondant à une concentration de 5mg/mL)	
	Absence de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i>	Présence de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i>	Absence de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i>	Présence de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i>
<i>S. aureus</i>	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	78
<i>P. aeruginosa</i>	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable
<i>E. coli</i>	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable	213



**Figure 11:** Résultats de l'étude de l'effet inhibiteur de la solution des graines de *Salvia hispanica* sur la croissance des souches de références

**A :** Culture des souches sans extrait, **B :** Culture des souches en présence d'une concentration de 5% correspondant à une concentration de 2,5mg/mL) de la solution des graines de *Salvia hispanica*, **C :** Culture des souches en présence d'une concentration de 10% (correspondant à une concentration de 5mg/mL) de la solution des graines de *Salvia hispanica*

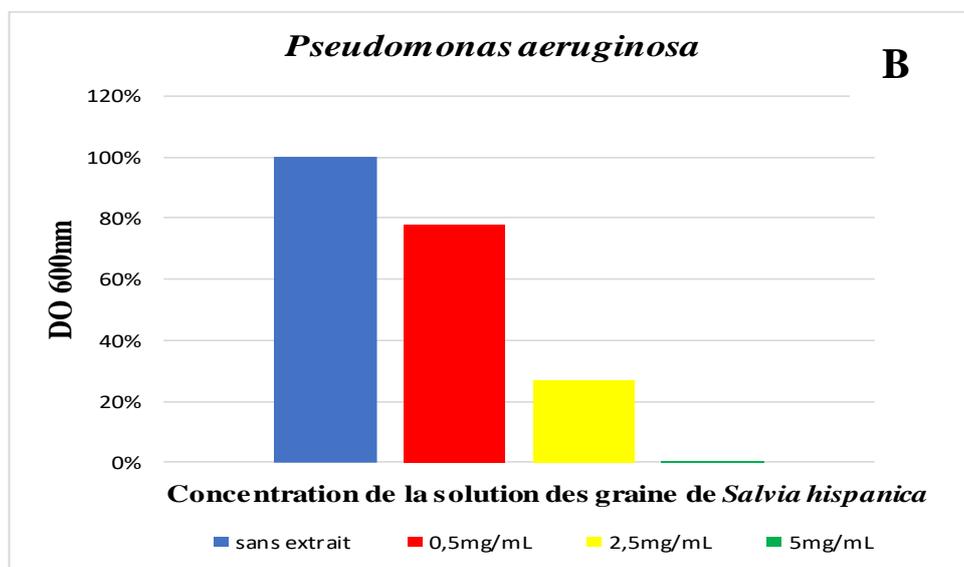
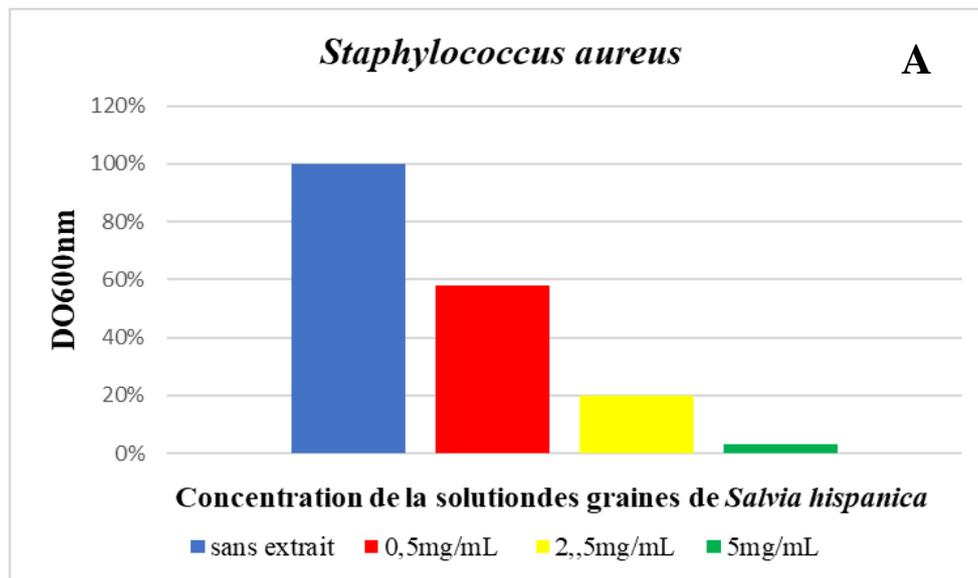
Les résultats présentés dans le tableau 5 montre que pour la concentration de 2.5mg/mL de la solution des graines de *Salvia hispanica* aucune activité antibactérienne n'a été détectée vis-à-vis des 3 souches de référence, du fait que la croissance sur milieu solide de ces souches, n'est pas affectée en présence de cette solution, comparez à la croissance de ces souches en absence de la solution des graines de *Salvia hispanica*. Parcontre, les résultats la concentration de 5mg/mL de la solution des graines de *Salvia hispanica*, un effet d'inhibition de la croissance des souches *S. aureus* et *E. coli*, en présence de cette solution, a été observé, contrairement à la souche *P. aeruginosa* où sa croissance n'a pas été affectée, en présence de cette solution.

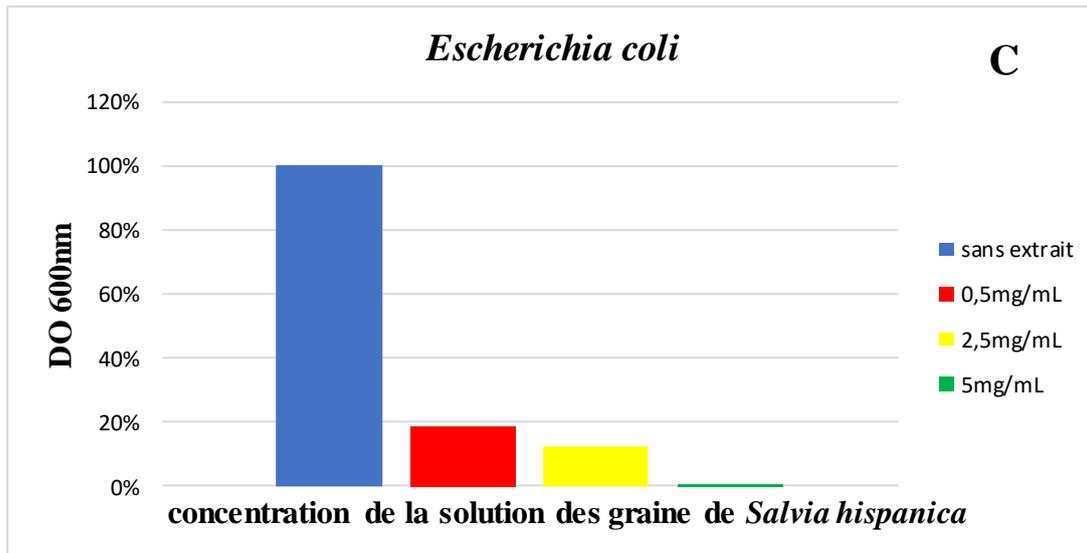
## 5. Recherche d'activités antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica* sur milieu liquide (Bouillon Nutritif)

### 5.1. Mesure de la croissance bactérienne par spectrophotométrie

Afin de rechercher des propriétés antibactériennes dans les graines de *Salvia hispanica*, le milieu liquide BN a été inoculé avec des pré-culture de 24h des souches bactériennes de référence (de sorte à avoir une  $DO_{600nm}$  initiale de 0,01), en absence et en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* à une concentration finale 0,5mg/mL (correspondant à une concentration finale de 1%), 2,5mg/mL (correspondant à une concentration finale de 5%) et 5mg/mL (correspondant à une concentration finale de 10%).

Après incubation de 24h à 37°C, les  $DO_{600nm}$  sont mesurées et comparées.





**Figure 12:** Évaluation de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* sur les 3 souches bactériennes de références, en milieu liquide

Les résultats obtenus de cette étude (Figure 12) montrent la présence d'activité antibactérienne dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, vis-à-vis des 3 souches de référence testées (*E. coli* 25 921, *S. aureus* 25 923 et *P. aeruginosa* 27 853).

L'augmentation de la concentration de la solution des graines de *Salvia hispanica* (0.5mg/mL, 2.5mg/mL, 5mg/mL), influence sur les capacités de croissance bactérienne des 3 souches de référence (Figure 12). Les résultats de ce test montrent que plus la concentration de la solution des graines augmente et plus la croissance des 3 souches diminue. En effet, selon la Figure 12 on remarque que :

- La souche *Staphylococcus aureus* a perdu 42%, 80%, et 97% de sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* respectivement à des concentrations 0.5mg/mL, 2.5mg/mL et 5mg/mL. (Figure 12A)

- La souche *Pseudomonas aeruginosa* a perdu 22%, 73%, et 100% de sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* respectivement à des concentrations 0,5mg/mL, 2,5mg/mL et 5mg/mL. (Figure 12B)

- La souche *Escherichia coli* a perdu 81%, 88%, et 100% de sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* respectivement à des concentration 0,5mg/mL, 2,5mg/mL et 5mg/mL (Figure 12C).

Les résultats obtenus montrent que la solution des graines de *Salvia hispanica* présente une activité antibactérienne contre les souches Gram- (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et Gram+ (*S. aureus*) à des proportions variables. Ces résultats ont montré aussi, que l'augmentation de la concentration de la solution des graines de *Salvia hispanica*, augmente le pourcentage d'inhibition de la croissance des souches bactériennes de référence (Figure 12).

La souche de référence *E. coli* est la plus affectée (Figure 12C) par les différentes concentrations (0,5mg/mL, 2,5mg/mL et 5mg/mL), la plus faible concentration (0,5mg/mL) arrive à inhiber 81% de la croissance de la souche *E. coli*. Pour les 2 autres souches cette même concentration, inhibe 42% et 22% de la croissance bactériennes respectivement pour les souches *S. aureus* et *P. aeruginosa*.

La concentration 2,5mg/mL a montré une inhibition presque similaire pour les 3 souches bactériennes de référence à un taux entre 73 et 88%.

On remarque qu'à la concentration de 5mg/mL de la solution des graines de *Salvia hispanica* présente une très forte activité antibactérienne et elle inhibe la croissance des souches *E. coli* et *P. aeruginosa* (Gram<sup>-</sup>) à 100% et la souche *S. aureus* (Gram<sup>+</sup>) à 97%.

Cette activité antibactérienne peut être due à la présence des composants polyphénoliques qui agissent à faible concentration avec les lipides et les protéines de la membrane externe cellulaire bactérienne Gram- qui se composent de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides (Kobus-Cisowski *et al.*, 2018).

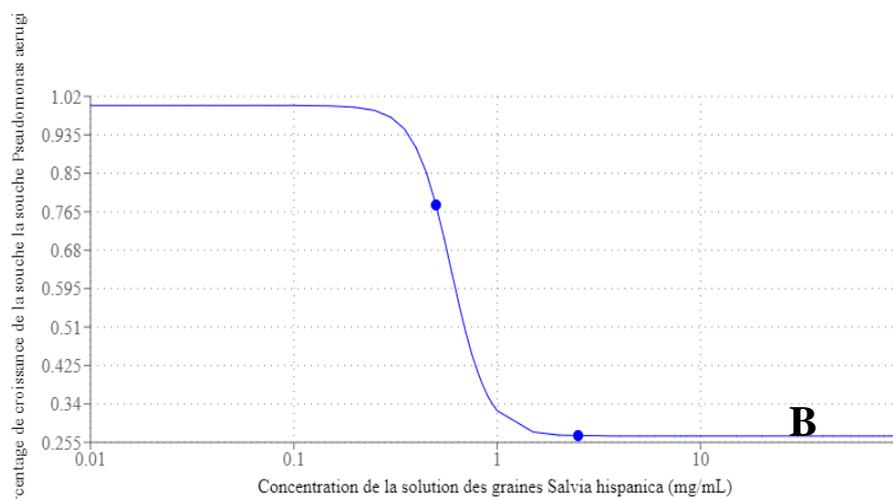
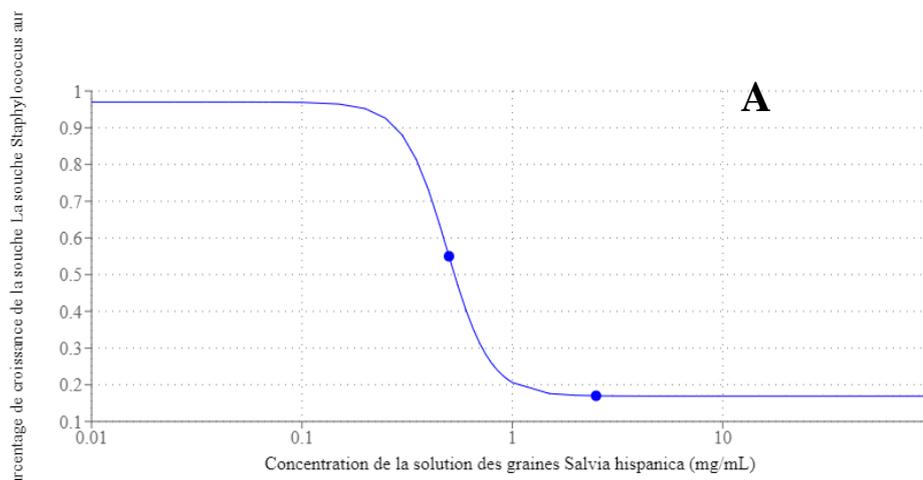
Les résultats obtenus sont en accord avec les résultats de Kobus-Cisowski *et al.*, (2018) et Güzel *et al.*, (2020) ont montré que la solution des graines de *Salvia hispanica* possède une activité antibactérienne contre certaines souches bactériennes (Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>) étudiées (*P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus*).

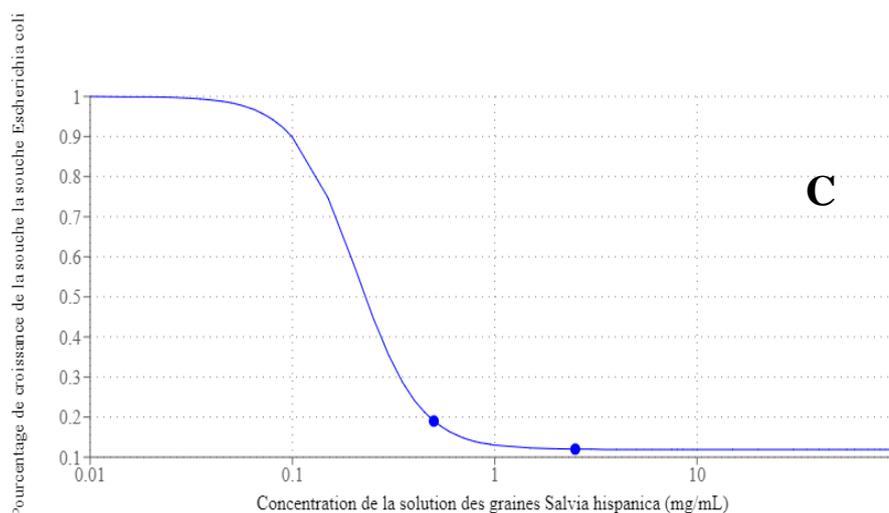
## 5.2. Calcul de l'IC50 de la solution des graines *Salvia hispanica*

Afin d'évaluer et de comparer l'effet de la solution des graines *Salvia hispanica* vis-à-vis des souches bactériennes de référence et par rapport à d'autres études, l'IC50 a été déterminé en utilisant le logiciel ATT Bioquest (Krishna *et al.*, 2022).

L'IC50 (concentrations inhibitrices médianes) est définie comme la concentration du composé étudié qui se traduit par exactement 50 % de l'effet d'inhibition maximal réalisable dans le test (Nevozhay, 2014).

La mesure d'IC50 a été utilisée, entre autres, pour l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire (El-ahmady *et al.*, 2013) et l'activité antimicrobienne (Forry *et al.*, 2016). L'IC50 est couramment utilisé pour caractériser, par exemple, des composés par le point médiane de leur effet sur la croissance des cultures (Sebaugh, 2011 in Forry *et al.*, 2016). Plus l'IC 50 est faible et plus l'activité est élevée (Kalliokoski *et al.*, 2013).





**Figure 13:** Graphe du pourcentage de croissance des 3 souches de référence et du calcul de l'IC50 de la solution des graines *Salvia hispanica*

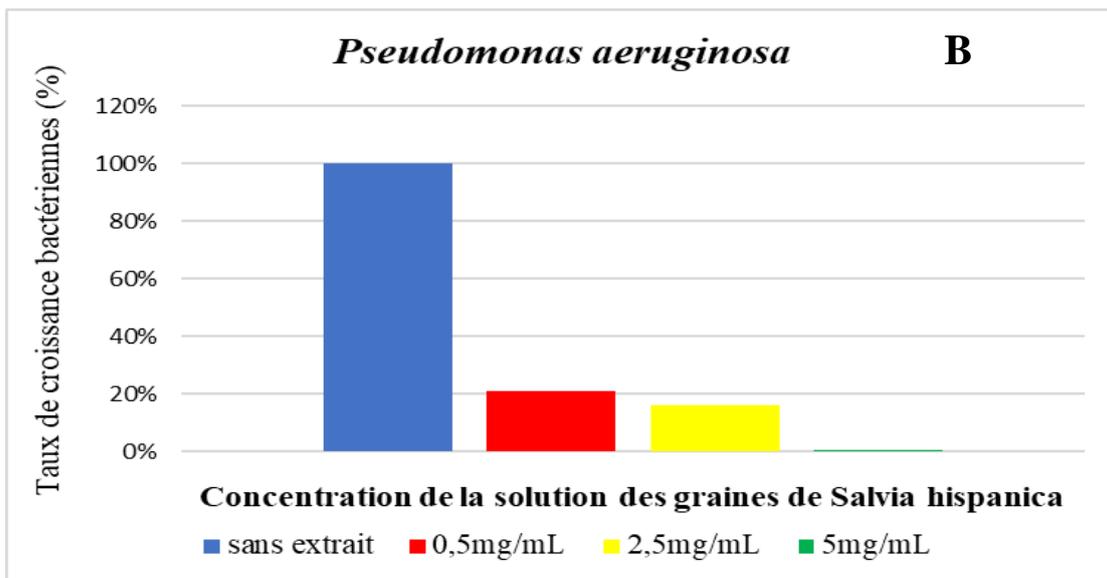
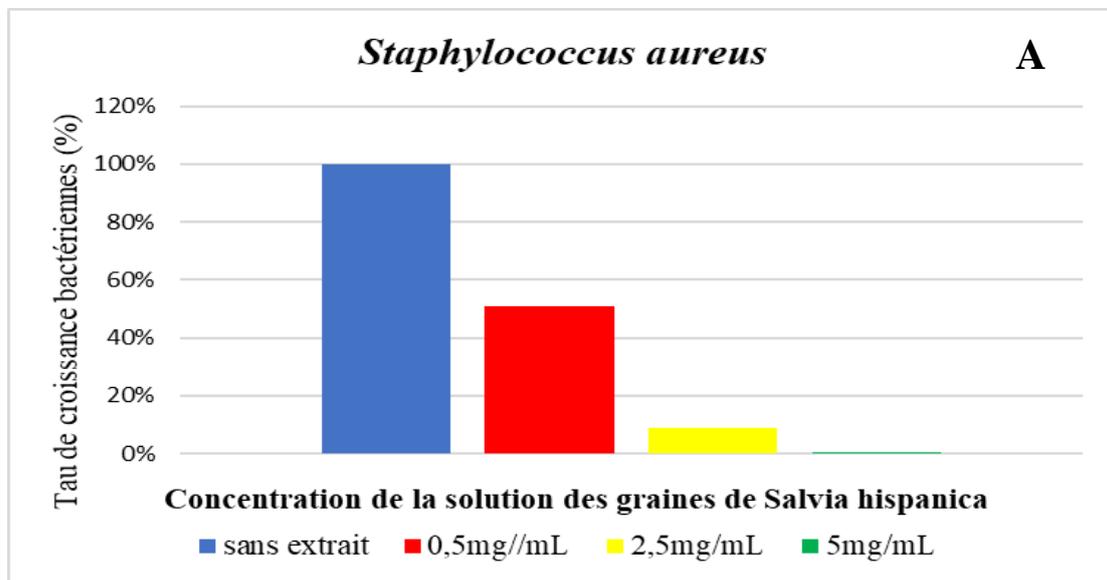
A : pourcentage de croissance et calcul de l'IC50 pour la souche *S. aureus*, B : pourcentage de croissance et calcul de l'IC50 pour la souche *P. aeruginosa*, C : pourcentage de croissance et calcul de l'IC50 pour la souche *E. coli*.

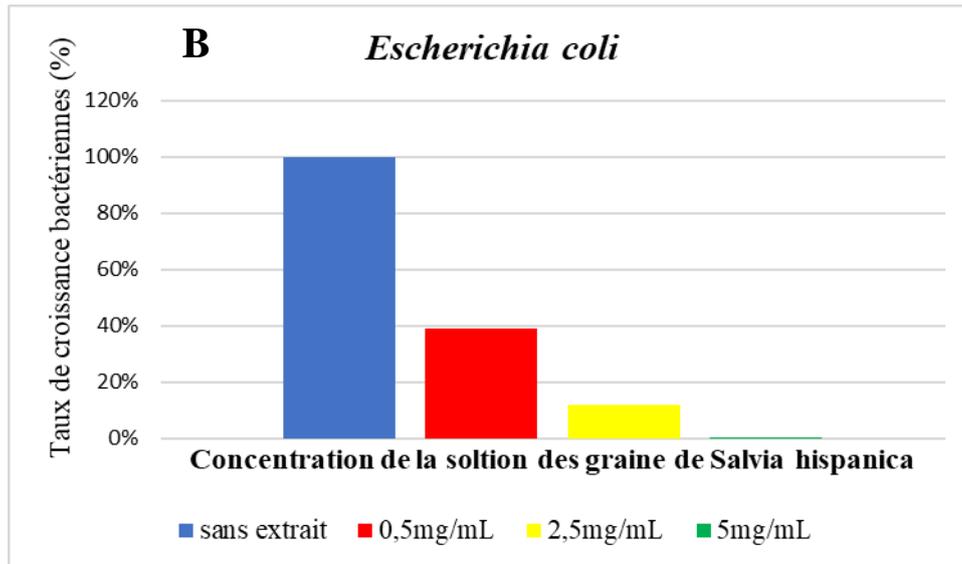
Dans le but de comparer l'effet de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis des souches bactériennes de référence, l'IC50 a été déterminé. Le résultat obtenu montre que les IC50 de l'inhibition de la croissance des souches bactériennes *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, par la solution des graines de *Salvia hispanica* sont, respectivement, 0,49 mg/mL (Figure 13A), 0,60mg/mL (Figure 13B) et 0,20 mg/mL (Figure 13C). D'après ces résultats, la souche *E. coli* est la plus sensible suivie de la souche *S. aureus*, tandis que la souche *P. aeruginosa* est la plus résistante.

Les résultats obtenus des calculs d'IC50, comparativement avec d'autres études, montrent que la solution des graines de *Salvia hispanica* possèdent une activité antibactérienne supérieure, à celle trouvée chez des plantes médicinales, tels que les résultats obtenus par Osanloo *et al.*, (2020) sur une étude d'activités antibactériennes des plantes médicinales et qui ont obtenu un IC50 de la plante *Citrus sinensis* égale à 1,0mg/mL et 4,7mg/mL contre respectivement *S. aureus* et *P. aeruginosa*, et un IC50 de la plante médicinale *Artemisia dracunculus* égale à 1,30mg/mL contre la souche *E. coli*. Aussi, l'étude de Koné *et al.*, (2004), a montré que l'IC50 de la plante *Erythrina senegalensis* est égale à 12g/mL contre la souche bactérienne *S. aureus*.

### 5.3. Étude de l'effet bactériostatique/bactéricide de la solution des graines *Salvia hispanica*

L'évaluation de la capacité bactériostatique et bactéricide des différentes concentrations (0,5mg/mL, 2,5mg/mL et 5mg/mL) de la solution des graines de *Salvia hispanica*, a été effectuée par détermination des capacités des différentes souche à reprendre leur croissance après avoir été en contact avec la solution des graines de *Salvia hispanica*, pendant 24h. Si la croissance de ces souches a été seulement inhibée c'est un effet bactériostatique, et si ces souches de références ont été tuées c'est un effet bactéricide. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure suivante.





**Figure 14:** Évaluation de l'effet bactériostatique/bactéricide de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis les souches bactériennes de référence

**A :** Taux de croissance de la souche *S. aureus* ; **B :** Taux de croissance de la souche *P. aeruginosa* ;  
**C :** Taux de croissance de la souche *E. coli*

- La souche *S. aureus* n'a pas repris correctement sa croissance, en effet, une absence totale de croissance a été observée pour les pré-cultures traitées avec la solution des graines de *Salvia hispanica* à une concentration finale de 5mg/mL (0% de croissance). Pour les concentrations de 0,5mg/mL et de 2,5 mg/mL, cette souche a repris, respectivement, que 51% et 9% de sa croissance, ce qui signifie que la solution des graines de *Salvia hispanica* a un effet bactéricide contre la souche *S. aureus* (Figure 14A).

- La souche *P. aeruginosa* n'a pas repris sa croissance, en effet, une absence totale de croissance a été observée pour les pré-cultures traitées avec la solution des graines de *Salvia hispanica* à une concentration finale de 5mg/mL (0% de croissance). Pour les concentrations de 0,5 mg/mL et de 2,5 mg/mL, cette souche a repris, respectivement, que 21% et 16% de sa croissance, ce qui signifie que la solution des graines de *Salvia hispanica* a un effet bactéricide contre la souche *P. aeruginosa* (Figure 14B).

- La souche *E. coli* n'a pas repris sa croissance, en effet, une absence totale de croissance a été observée pour les pré-cultures traitées avec la solution des graines de *Salvia hispanica* à une concentration finale 5mg/mL (0% de croissance). Pour la concentration 0,5 mg/mL et 2,5 mg/mL, cette souche a repris, respectivement, que 39% et 12% de sa

croissance, ce qui signifie que la solution des graines de *Salvia hispanica* a un effet bactéricide contre la souche *E. coli* (Figure 14C).

L'activité d'une substance végétale dépend de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction (comme par la macération ou l'hydrodistillations) (Azmir *et al.*, 2013), et la concentration en principes actifs (Wagner, 1993 ; Thangana *et al.*, 2000 in Toty *et al.*, 2013). L'activité antibactérienne présente chez les plantes est probablement due à la capacité des agents antibactériens à se complexer avec des protéines extracellulaires et les protéines solubles, et à se complexer avec les parois cellulaires bactériennes (Cowan, 1999). L'activité antibactérienne des plantes peut avoir soit un effet bactériostatique, ce entraîne une inhibition de la croissance de la bactérie sans la tuer, soit un effet bactéricide, ce qui entraînent la mort des cellules bactériennes (Ocampo *et al.*, 2014).

L'activité bactéricide de *Salvia hispanica* est due à la présence des composants flavonoïdes qui agissent en endommageant les membranes cytoplasmiques, il agissent également en inhibant le métabolisme énergétique (production d'ATP) et la synthèse des acides nucléiques (ADN, ARN) des différent microorganismes (Hoong *et al.*, 2019).

L'exposition prolongée a la solution des graines de *Salvia hispanica* à des concentrations élevées ou à leurs composants bioactifs, dénature les protéines, y compris les enzymes, et perturbe le métabolisme des cellules bactériennes, provoquant ainsi leur mort (Kobus-cisowska *et al.*, 2018).

**5.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) sur milieu liquide (Bouillon Nutritif)**

La détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis des trois souches de référence testées, a été effectuée par la mesure des DO<sub>600nm</sub> afin de déterminer la présence ou l'absence de croissance bactérienne. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau suivant.

**Tableau 6:** Détermination de la CMI de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis des souches bactériennes de référence

	Absence de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i>	Présence de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> , [C] en mg/mL									
		16,66	8,33	4,16	2,08	1,04	0,52	0,26	0,13	0,07	0,04
<i>S. aureus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

(+) : présence de croissance bactérienne, (-) : absence de croissance bactérienne.

Les résultats obtenus de ce test montrent que les CMI sont de 0,26 mg/mL (260µg/mL), 1,04 mg/mL (1040µg/mL) et 0,3 mg/mL (130µg/mL), respectivement, pour les souches *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*.

D'après les résultats obtenus (Tableau 6), la plus faible CMI a été obtenue pour la souche *E. coli* et la plus forte a été obtenue pour la souche *P. aeruginosa* ce qui signifie que la souche *E. coli* est la plus sensible vis-à-vis la solution des graines de *Salvia hispanica*, suivie de *S. aureus*, et la souche *P. aeruginosa* est la plus résistante.

L'activité antibactérienne d'une solution de plantes est considérée comme bonne si sa CMI est inférieure à 100 µg/mL, modérée si la CMI est située entre 100 et 500 µg/mL et faible au-delà de 500 µg/mL (Dabur *et al.*, 2007). Selon cette classification des CMI, bonne, modérée et faible, la solution des graines de *Salvia hispanica* est considérée comme ayant une

activité antibactérienne modérée vis-à-vis des souches *S. aureus* et *E. coli* avec une CMI égale, respectivement, à 260 µg/mL et à 130µg/mL, et une activité faible vis-à-vis de la souche *P. aeruginosa* avec une CMI égale à 1040µg/mL.

D'après d'autres études, et en se basant sur les CMI, notre solution des graines présente une activité antibactérienne plus forte, en effet, les résultats obtenus par Tepe *et al.*, (2005) sur l'étude des activités antibactériennes de l'extrait de *Salvia tomentosa*, ont montré une CMI de 18mg/mL (supérieure à celle qu'on a obtenu dans cette étude) contre la souche *S. aureus*, et aucune activité antibactérienne n'a été détectée contre les souches *E. coli* et *P. aeruginosa*. Aussi, les résultats de Bacha *et al.*, (2016) sur l'étude de l'activités antimicrobiennes de l'extrait de la plante médicinale *Vernonia amygdalina* ont montré une CMI de 25mg/mL contre la souche bactérienne *P. aeruginosa*, supérieure à celle qu'on a obtenu dans cette étude.

Par contre, d'autres études ont montré une activité antibactérienne supérieure à celle qu'on a trouvé, par exemple, les résultats obtenus par Dabur *et al.*, (2007), ont montré que l'extrait d'*Acacia nilotica* présente une CMI de 18,5µg/mL contre la souche *E.coli*, et une CMI de 37,5 µg/mL contre les souche *S. aureus* et *P. aeruginosa*, ce qui révèle une activité antibactérienne supérieure à celle qu'on a trouvé pour la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Ces résultats montrent comparativement avec les résultats obtenus du test de l'activité antibactériennes sur milieu liquide ainsi les résultats des calculs des valeurs d'IC50 sont identique, qui représente que la souche *E. coli* est la plus sensible, est la souche *P. aeruginosa* est la plus résistante.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* est effectué sur milieu liquide BN, et sur milieu solide MHA. Les résultatsobtenus récapituleles résultats obtenus sur ces 2 milieux de culture (liquide et solide).

**Tableau 7:** Tableau récapitulatif des résultats dévaluation des propriétés antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica* sur milieu liquide et sur milieu solide

	Milieu liquide BN			Milieu solide					
				Méthode de diffusion par disque				Méthode de dénombrement	
[C] de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i> (mg/mL)	0,5	2,5	5	5	12,5	25	50	2,5	5
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>E. coli</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	+

(+) : présence d'activité antibactérienne, (-) : absence d'activité antibactérienne.

La comparaison des résultats obtenus sur ces 2 milieux de culture (liquide et solide) (Tableau 7) montre que, sur milieu liquide, les propriétés antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis des trois souches de référence testées sont détectées aux concentrations 2,5mg/mL et 5mg/mL, par contre, sur milieu solide, cette activité n'est pas détectée vis-à-vis aucune souches testée à la concentration 2,5 mg/mL et à la concentration 5mg/mL elle n'est pas détectée vis-à-vis la souche *P. aeruginosa* (méthode de dénombrement) et pas détectée pour les souches *P. aeruginosa* et *E. coli* (méthode de diffusion par disque).

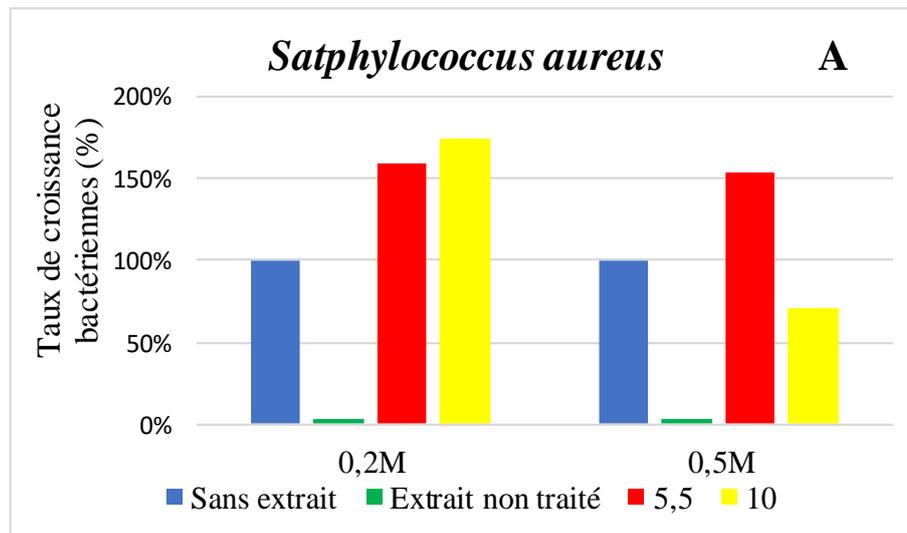
Ceci montre que le milieu liquide permet de mieux détecter et de mieux évaluer l'activité antibactérienne que sur milieu solide, ce quia étéaussi démontré par Haase *et al.*, (2017). En effet,dans leur étude comparative (sur milieu solide et milieu liquide), Haase *et al.*, (2017) ont montré que la méthodede mesure de la DO<sub>600nm</sub> permis une surveillance simple et résolue dans le temps de la croissance bactérienne et aucune perte de viabilité n'a été

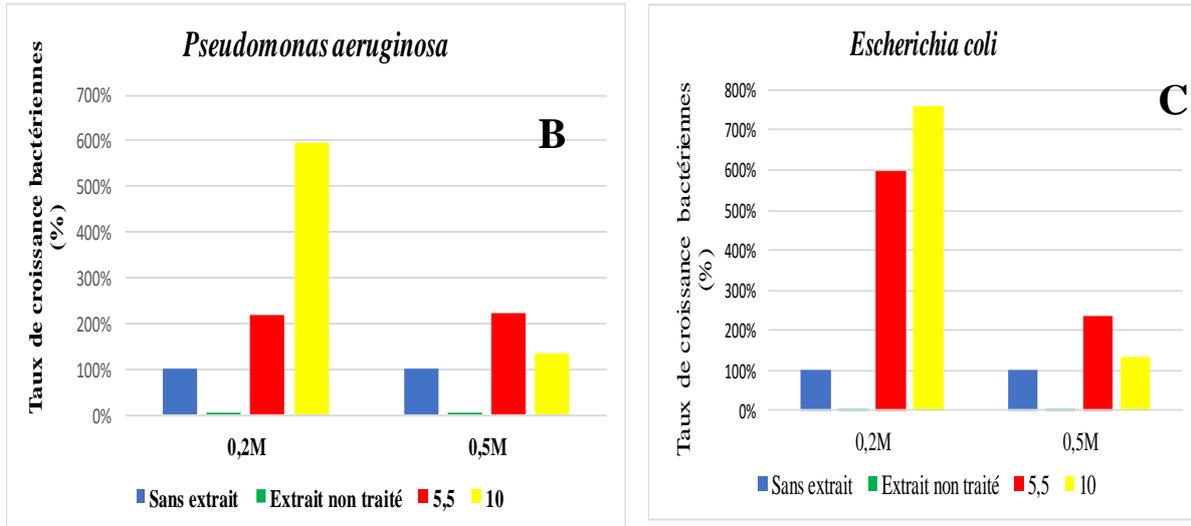
observée, par contre, la méthode de diffusion sur disque dépend strictement de la capacité de diffusion et de solubilité de la substance antibactérienne dans l'environnement gélose.

## 6. Évaluation de stabilité de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*

### 6.1. L'influence du pH sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica*

Pour l'évaluation de l'influence du pH sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*, le milieu BN a été inoculé avec des pré-culture de 24h des souches bactériennes de référence (*E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) de sorte à avoir une DO<sub>600nm</sub> initial de 0,01, en absence et en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* à une concentration de 5mg/mL, traité par différents pH (tampons phosphate à pH 5,5 (0,2 M et 0,5M) et tampons Glycine-NaOH à pH10 (0,2 M et 0,5M)). Après incubation à 37°C pendant 24h, les DO<sub>600nm</sub> sont mesuré et comparé.





**Figure 15:** Influence de pH sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis les souches bactériennes de références

**A :** Taux de croissance de la souche *S. aureus* ; **B :** Taux de croissance de la souche *P. aeruginosa* ; **C :** Taux de croissance de la souche *E. coli*.

La Figure 15, montre l'étude de l'influence du pH sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* contre les souches bactériennes de référence. Le traitement par les différents pH a inhibé l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*. De plus, le traitement pH a entraîné une augmentation de la croissance des souches de référence par rapport à l'absence de traitement pH.

En effet, les tubes additionnés de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH à 0,2M a montré les résultats suivants :

- *S. aureus* sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH à 0,2 M, a augmenté de 59% et 74% respectivement à pH 5,5, et pH 10 (Figure 15A).

- *P. aeruginosa* sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH à 0,2 M, a augmenté de 120% et 495% respectivement à pH 5,5 et pH10 (Figure 15B).

- *E. coli* sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH à 0,2 M, a augmenté de 500% et 661% respectivement à pH 5,5 et pH10 (Figure 15C).

Pour les tubes additionnés de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH à 0,5M a montré les résultats suivants :

- *S. aureus* sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traité par un pH à 0,5 M, a augmenté à 53% à un pH5,5 et a diminué de 39% à un pH10.

- *P. aeruginosa* sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traité par un pH à 0,5 M, a augmenté à 124% et 34% respectivement à pH 5,5 et pH 10.

- *E. colis* a croissance sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH à 0,5 M, a augmenté à 135% et 35% respectivement à pH 5,5 et pH 10.

Pratiquement tous les processus biologiques dépendent du pH, ce qui reflète l'importance du pH local sur tous les processus de la cellule (Talley & Alexov, 2010).

Les résultats obtenus, sur l'étude de l'influence du traitement pH sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*, montrent que cette dernière est affectée à 100% suite au traitement par un pH à 0,2 M et un pH à 0,5M (pH 5.5 et 10), sauf pour la croissance de *S. aureus* où sa croissance est affectée en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par un pH10 et 0,5 M (une diminution de 39%), ce qui signifie que l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* n'est pas affectée par ce traitement. Pour les autres conditions et souches, bien au contraire, la croissance est favorisée par la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par des pH 5.5 et à un pH 10 (à 0,2 M et à 0,5M).

D'après les résultats obtenus, les traitements pH de la solution des graines de *Salvia hispanica*, a conduit à l'élimination de toute activité antibactérienne, et les graines de *Salvia hispanica* contiennent des composants nutritionnels (glucide, protéines, des fibres alimentaires, minéraux, des vitamine ...) (Segura-Campos *et al.*, 2014), ce qui a potentiellement rendu les conditions plus favorables pour la croissance bactériennes et favoriser ainsi le taux de croissance.

Les résultats obtenus sont en accord avec les études de Timilsena *et al.*, (2016) sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles de l'isolat de protéines produit à partir de graines de *Salvia hispanica* australiennes, qui ont montré que les graines de *Salvia hispanica*

perdent leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles dans un milieu acide (pH entre 3 et 5), et dans un milieu alcalin (pH 12).

L'activité antimicrobienne et l'inhibition de la croissance bactériennes par des substances antimicrobiennes dépend pratiquement du pH, qui influence l'activité biologique et la fonction de l'agent antibactérien (Talley *et alexov*, 2010). L'influence majeure du pH est sa capacité à modifier les charges électriques des biomolécules, ce qui peut affecter leurs capacités antibactériennes (Khalil *et al.*, 2014). Le pH peut provoquer un réarrangement structurel, conduisant à la dénaturation de l'agent antibactérien (Smedley *et al.*, 2008).

## **6.2. L'influence du traitement thermique sur les propriétés antibactériennes de la solution des graines de *Salvia hispanica***

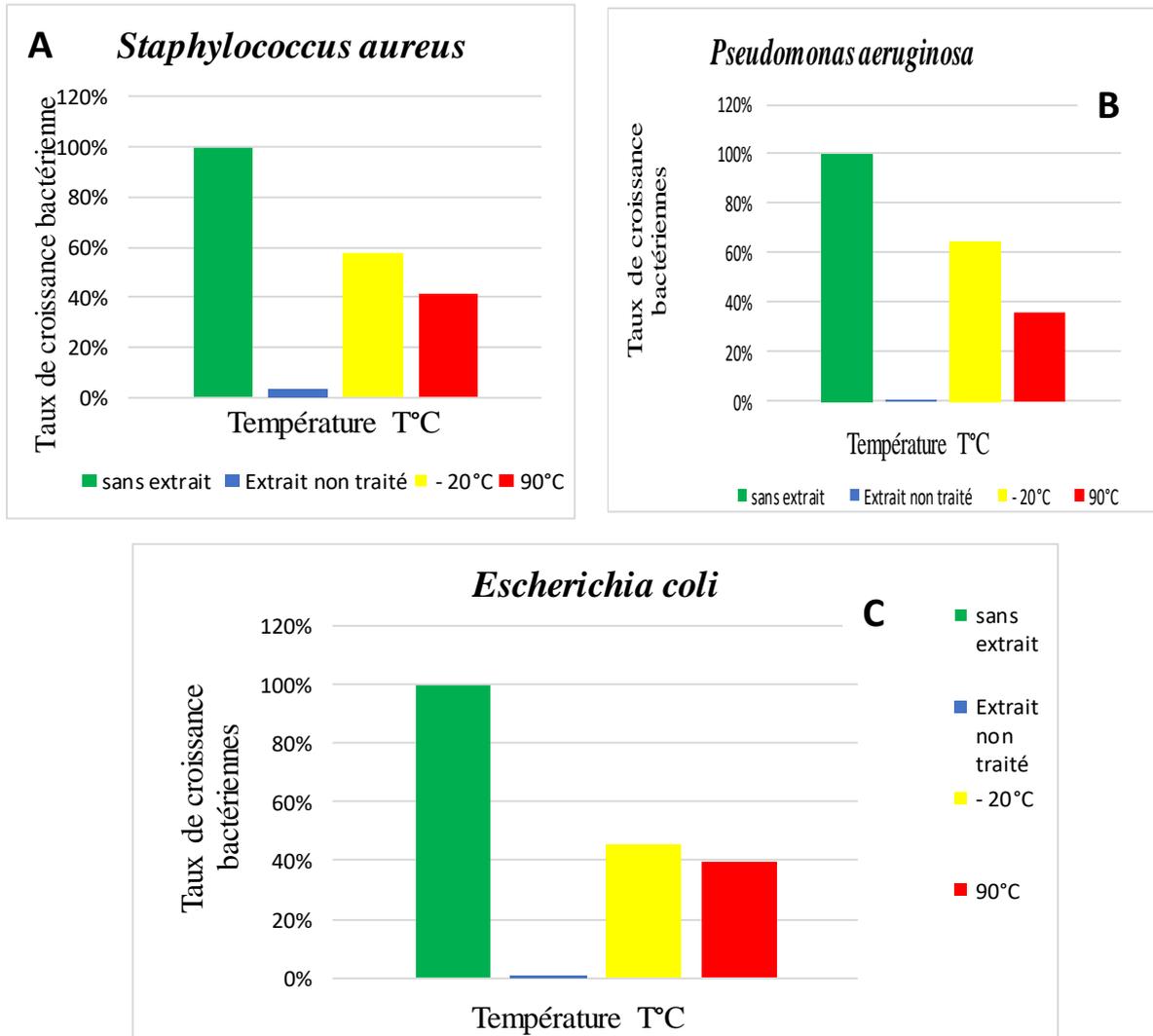
Les résultats (Figure 16) de l'étude de l'influence du traitement thermique à 90°C et à -20°C pendant 2h ont montré que ces traitements ont affecté l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*, sur les 3 souches de référence étudiées.

En effet, les cultures bactériennes additionnées de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par la température -20°C et 90°C ont montré les résultats suivants :

- La souche *S. aureus*, sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par les températures -20°C et 90°C a diminué, respectivement, de 42% et de 59 %, contrairement à la croissance en présence de la solution non traitée où la croissance a diminué de 97 % (Figure 16A).

- La souche *P. aeruginosa*, sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica* traitée par les températures -20°C et 90°C a diminué, respectivement de 35% et de 64%, contrairement à la croissance en présence de la solution non traitée où la croissance a diminué de 100% (Figure 16B).

- La souche *E. coli*, sa croissance en présence de la solution des graines de *Salvia hispanica*, traitée par les températures -20°C et 90°C a diminué, respectivement, de 55% et de 61%, contrairement à la croissance en présence de la solution non traitée où la croissance a diminué de 100% (Figure 16C).



**Figure 16:** Influence du traitement thermique sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis des 3 souches de référence

**A :** Taux de croissance de la souche *S. aureus* ; **B :** Taux de croissance de la souche *P. aeruginosa* ; **C :** Taux de croissance de la souche *E. coli*.

Les résultats obtenus montrent que l'activité antibactérienne, de la solution des graines de *Salvia hispanica*, est affectée par les 2 traitements thermiques, mais elle est plus affectée par le traitement thermique à -20°C que le traitement à 90°C. Les croissances bactériennes des 3 souches bactériennes semblent être affectées presque de la même manière selon la température du traitement (Figure 16).

Les études de Dziadek *et al.*, (2022) ont montré que certains composants bioactifs de *Salvia hispanica* perdent leur activité après un traitement thermique à des températures 30°C et 50°C. Aussi, les études de Ixtaina *et al.*, (2012) ont montré que les graines de *Salvia*

*hispanica* perdent leurs activités antioxydantes après un traitement thermique à 80°C et à 90°C.

L'impact du traitement thermique sur l'activité biologique peut être expliqué par l'endommagement de nombreuses structures biochimiques par les températures élevées (Vieillen et Zeikus, 2001), tel que la modification de l'énergie cinétique des liaisons hydrogène, hydrophobes non polaires et interactions intermoléculaires (Brisson *et al.*, 2007 ; Hendsch et Tidor, 1994 ; Privalov et Khechinachvili, 1974 in Wang *et al.*, 2019), la diminution de l'entropie du dépliement, et des interactions inter-sous-unités (Bischof *et al.*, 1995).

Les températures basses peuvent aussi influencer l'activité antibactérienne, par exemple, il a été montré que l'activité antibactérienne peut perdre de son activité après la réfrigération (Martínez *et al.*, 2017), la dénaturation de la solution antibactérienne dépendent de sa conformation structurelle, qui doit être prise en compte lors du traitement thermique (Wang *et al.*, 2019).

### **Discussion générale**

Comme il a été montré dans la partie synthèse bibliographique, les plantes possèdent des sources intéressantes de composés bioactifs (Chassagne, Samarakoon, Porras, Lyles, Dettweiller, *et al.*, 2021), une gamme de substances très variées leur permettant de lutter contre les divers agents pathogènes (Asselin, 1993) et un éventail mécanisme de défense contre les agents pathogènes provenant des champignons, des bactéries et des virus (Tam *et al.*, 2015).

À cette effet, l'objectif de ce travail était de rechercher des propriétés antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, testées sur les souches de référence *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Ces propriétés antibactériennes, étaient recherchées et évaluées par différentes méthodes, sur milieu solide par la méthode de diffusion par disque et la méthode de dénombrement des bactéries, et sur milieu liquide, principalement, par la méthode de mesure de la DO de la croissance bactérienne ce qui a permis de déterminer l'effet bactéricide/bactériostatique et la Concentration Minimale Inhibitrice CMI de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Les résultats obtenus des différents tests effectués (voir Tableau 8), sur les 2 milieux (solide et liquide), ont montré la présence, dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, de propriétés antibactériennes vis-à-vis des souches de référence testées (*E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*). Ceci est en accord avec les travaux de Kobus-cisowska *et al.*, (2018) et de Güzel *et al.*, (2020), qui ont montré la présence d'activité antibactérienne contre des souches Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>. Par contre, l'étude de Tunçil et Çelik, (2019), ont montré que la solution aqueuse des graines de *Salvia hispanica* ne présentait aucune activité antibactérienne contre des souches telles que *S. aureus* et *E. coli*.

**Tableau 8:** Tableau récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis les souches bactériennes de référence (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*)

<b>Activité antibactérienne de la solution des graines de <i>Salvia hispanica</i></b>						
				<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
<b>Milieu liquide</b>	<b>IC50</b>			0,49mg/mL	0,60mg/mL	0,20mg/mL
				Pourcentage d'activité perdue suite à ce traitement		
	<b>Solution des graines de <i>S. hispanica</i> traitée</b>	<b>pH 5.5</b>	<b>0,2 M</b>	100 %	100 %	100 %
			<b>0,5 M</b>	100 %	100 %	100 %
		<b>pH 10</b>	<b>0,2 M</b>	100 %	100 %	100 %
			<b>0,5 M</b>	39%	100%	100%
			<b>-20°C</b>	42%	35%	55%
			<b>90°C</b>	59 %	64%	61%
	<b>Effet bactériostatique/bactéricide de la solution des graines <i>S. hispanica</i></b>			Bactéricide	Bactéricide	Bactéricide
	<b>CMI</b>			0,26mg/mL	1,04mg/mL	0,13mg/mL
<b>Milieu solide</b>	<b>Méthode de diffusion par disque</b>			Présence d'activité antibactérienne	Présence d'activité antibactérienne	Présence d'activité antibactérienne

	<b>Méthode de dénombrement</b>	Présence d'activité antibactérienne	Présence d'activité antibactérienne	Présence d'activité antibactérienne
	<b>Sensibilité et résistance des souches</b>	Sensibilité modérée		La plus sensible

Les tests sur milieu liquide ont permis de calculer l'IC50 de l'activité antibactérienne de ces graines et qui permettent l'inhibition de 50% de la croissance bactérienne des souches testées *S. aureus* (IC50 = 0,49mg/mL), *P. aeruginosa* (IC50 = 0,60mg/mL) et *E. coli* (IC50 = 0,20mg/mL). Aussi, sur ce même milieu, la Concentration Inhibitrice Minimale (CMI) de la solution des graines de *Salvia hispanica* et qui permet l'inhibition de la croissance des souches *S. aureus* (CMI = 0,13mg/mL), *P. aeruginosa* (CMI = 0,26mg/mL) et *E. coli* (CMI = 1,04mg/mL) a été déterminée. Les résultats de l'étude de l'effet bactéricide/bactériostatique, ont permis aussi de déterminer l'effet bactéricide de la solution des graines de *Salvia hispanica* contre les souches bactériennes étudiées.

L'étude de l'évaluation de l'influence du pH sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica* contre les souches bactériennes de référence, a montré une influence importante sur l'activité antibactérienne par le traitement à pH 5,5 et 10 (0,2M et 0,5M) (Tableau 8), où la totalité de l'activité antibactérienne vis-à-vis des 3 souches a été perdue, sauf pour le traitement à pH 10 à 0,5M où une certaine activité a été maintenue contre la souche *S. aureus*.

Ainsi que le traitement par la température (-20°C, et 90°C), a montré une influence de ces traitements sur l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*.

Les résultats obtenus du traitement par le pH et la température, montrent que l'activité antibactérienne est fortement influencée par le pH et la température. Ces conditions provoquent, par exemple, la rupture des liaisons hydrogènes et disulfures de certaines protéines (Wang *et al.*, 2019).

La solution des graines de *Salvia hispanica* a montré une activité antibactérienne contre les souches bactériennes Gram<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup>, avec une sensibilité modérée pour la souche de Gram<sup>+</sup>, *S. aureus*, tandis que la souche Gram<sup>-</sup>, *E. coli* a montré une forte sensibilité aux différentes concentrations de la solution des graines de *Salvia hispanica*. L'autre souche

Gram<sup>-</sup>, *P. aeruginosa*, a montré une forte résistance vis-à-vis la solution des graines de *Salvia hispanica*. Les bactéries Gram<sup>-</sup>, qui possèdent une paroi cellulaire hydrophile, seraient moins sensibles aux composants antibactériens que les Gram<sup>+</sup> (Oulahal et Degraeve, 2022), ce qui a obtenu pour la souche *P. aeruginosa*, Gram<sup>-</sup>, par contre ceci n'a pas été démontré pour l'autre souche *E. coli*, Gram<sup>-</sup>, qui a montré une forte sensibilité. D'après des études sur la souche *P. aeruginosa* sa résistance, à de nombreux antimicrobiens, est attribuée au transfert horizontal de gènes et par son pouvoir de formation des biofilms (Poole, 2011).

Les différents tests réalisés sur milieu solide et milieu liquide ont montré une différence dans les résultats obtenu, le milieu liquide semble être plus adéquat pour la détermination de l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*, que le milieu solide, les souches bactériennes de référence étudiées ont montré une plus grande sensibilité sur le milieu liquide que sur le milieu solide. Ceci a été démontré dans l'étude de Haase *et al.*, (2017), sur la fiabilité de la méthode de mesure des DO (milieu liquide) par rapport à la méthode de diffusion sur disque, où son efficacité dépend de la capacité de diffusion et de solubilité de la substance antibactérienne dans la gélose.

# *Conclusion et Perspectives*

## **Conclusion et Perspectives**

Dans cette étude, des propriétés antibactériennes des graines de *Salvia Hispanica* ont été recherchées et évaluées. Les capacités antibactériennes de ces graines ont été testées sur 3 souches de référence *Staphylococcus aureus* 25923, *Escherichia coli* 25 921, *Pseudomonas aeruginosa* 27 853.

Les résultats obtenus de cette étude, montre que les graines de *Salvia Hispanica* semblent-être dotées de propriétés antibactériennes vis-à-vis de ces 3 souches de référence testées. En effet, la solution de ces graines a exercé, à des degrés différents, une influence sur la croissance et sur la survie de ces souches. En effet, les IC50 des graines de *Salvia Hispanica* obtenus vis-à-vis des souches de *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *E. coli* sont, respectivement, de 0,60mg/mL, 0,49 mg/mL et 0,20 mg/mL, ce qui signifié que la souche *E. coli* est la plus sensible suivie de la souche *S. aureus*, tandis que la souche *P. aeruginosa* est la plus résistante.

Les résultats obtenus de l'étude de l'étude d'effet bactériostatique/bactéricide a montré que la solution des graines de *Salvia hispanica* est doté d'une capacité bactéricide, et une Concentration Inhibitrice Minimale (CMI) de 0,26mg/mL, 1,04mg/mL, et 0,13mg/mL contre les souches bactériennes respectivement *S. aureus*, *P. aeruginosa*, et *E. coli*

Les capacités antibactériennes de la solution des graines de *Salvia Hispanica*, ont été influencées par les traitements pH et thermique, et plus particulièrement les traitements pH où la totalité des capacités antibactériennes de la solution des graines de *Salvia Hispanica*, ont été perdues, à l'exception sauf pour le traitement à pH 10 à 0,5M où une certaine activité a été maintenue contre la souche *S. aureus*. Le traitement thermique (90°C, et -20°C) a aussi influencé sur les capacités antibactériennes de la solution des graines de *Salvia Hispanica*.

Comme pour le milieu liquide, les capacités antibactériennes ont été aussi recherchées sur milieu solide et les résultats obtenus montrent que la solution des graines de *Salvia hispanica* présente une activité antibactérienne modérée contre les souches bactériennes testées. La comparaison entre les résultats obtenus sur les 2 milieux (liquide et solide) montre une certaine différence dans l'évaluation de la sensibilité/résistance des 3 souches de références vis-à-vis de la solution des graines de *Salvia Hispanica*, et que le milieu liquide est plus adapté à la recherche de ces propriétés antibactériennes que le milieu solide.

Cette étude nous a permis de déterminer le potentiel antibactérien des graines de *Salvia hispanica*, l'utilisation des graines de *Salvia hispanica*, ce qui ouvre la possibilité à ces graines ou à leurs dérivés (différents extraits, huiles essentielles, molécules) d'être utilisés dans la recherche de traitement des maladies infectieuses.

Par contre, d'autres tests doivent être effectués pour une meilleure caractérisation des propriétés antibactériennes, et aussi pour la recherche d'autres propriétés antimicrobiennes : propriétés antifongiques, antivirales, antimycobactériennes etc., et ceci via :

- ✓ Identification et purification des molécules conférant à ces graines des propriétés antimicrobienne, en général, et antibactériennes, en particulier ;
- ✓ Recherche et caractérisation des enzymes se trouvant dans les graines de *Salvia hispanica* et possédant un pouvoir antibactérien ;
- ✓ Évaluation de la stabilité de ces molécules et de ces enzymes et détermination des conditions permettant leur production industrielle ;
- ✓ Détermination des conditions optimales permettant d'obtenir, chez ces graines ou leurs dérivés, des activités antimicrobiennes optimales ;

# *Annexes*

## Annexes

### 1. Préparation des milieux de culture

Pour les cultures et la purification des souches de référence, ainsi que pour la détection des propriétés antibactériennes dans la solution des graines de *Salvia hispanica*, les milieux de culture suivants ont été préparés.

### 2. Préparation de la gélose de MacConkey

La gélose MacConkey est un milieu d'isolement ordinaire lactosé et sélectif des bacilles Gram négatif non exigeants (Allen, 2013). La gélose de MacConkey est couramment utilisée pour l'isolement de l'espèce *Escherichia coli* (Champoux *et al.*, 2004). La gélose MacConkey est préparée par la dissolution de 50g de la poudre préparée de ce milieu (Conda MacConkey Agar European Pharm) dans un 1L d'eau distillée, après agitation sur plaque chauffante, la gélose est autoclavée.

### 3. Préparation de la gélose Mannitol Salt agar (MSA)

La gélose Mannitol Salt Agar est un milieu utilisé pour l'identification de routine de *Staphylococcus aureus*, qui donne des colonies jaunes, une confirmation de la fermentation du mannitol (Kateete *et al.*, 2010). La gélose Mannitol Salt Agar est préparée par la dissolution de 111g de la poudre préparée du milieu MSA (Liofilchem Mannitol Salt agar) dans 1 L d'eau distillée, après agitation sur plaque chauffante, la gélose est autoclavée.

### 4. Préparation de la gélose King A Medium

La gélose King A Medium est un milieu qui favorise une meilleure croissance de la souche *Pseudomonas aeruginosa* (Johnsen & Nielsen, 1998). La gélose King A Medium (Conda *Pseudomonas* P Agar (USP)) est préparée par la dissolution de 45g de la poudre préparée du milieu King A Medium dans 1L d'eau distillée, puis on ajoute 10mL de Glycérol, après agitation sur plaque chauffante, la gélose est autoclavée.

### 5. Préparation de la gélose King B Medium

La gélose King B Medium est un milieu sélectif qui permet d'isoler des *Pseudomonas aeruginosa* (Johnsen et Nielsen, 1998). La gélose King B Medium (Conda King B Medium *Pseudomonas* F Agar) est préparée par la dissolution de 37g de la poudre préparée du milieu King B Medium dans 1 L d'eau distillée, puis on ajoute 10mL de Glycérol, après agitation sur plaque chauffante, la gélose est autoclavée.

## **6. Préparation du bouillon nutritif**

Le bouillon nutritif (BN) est un milieu liquide le plus courant pour la culture et la croissance bactériennes, c'est un milieu non sélectif (Pashirova *et al.*, 2015). La BN (Conda Nutrient Broth) est préparée par la dissolution de 8g de la poudre du milieu BN dans 1 L d'eau distillée, après agitation sur plaque chauffante, le bouillon est autoclavé.

## **7. Préparation de la gélose nutritive**

La gélose nutritive (GN) est une gélose non sélective, elle est composée de tout ce que la plupart des bactéries ont besoin pour leur croissance (Pashirova *et al.*, 2015). La GN est préparée par la dissolution de 23g de la poudre de ce milieu (Conda Nutrient agar) dans 1L d'eau distillée après agitation sur plaque chauffante, la gélose est autoclavée.

## **8. Préparation du milieu Müller-Hinton Agar**

Le milieu Müller-Hinton Agar est considéré comme le meilleur milieu à utiliser pour l'étude de la sensibilité des bactéries non exigeantes (Hudzicki, 2009). Il est utilisé pour les tests de diffusion sur disque, pour déterminer les diamètres de la zone d'inhibition des agents antimicrobiens (Matuschek *et al.*, 2013).

Le milieu Müller-Hinton Agar (MHA) (Conda Muller Hinton Agar), est préparée par la dissolution de 38g de la poudre de ce milieu dans 1L d'eau distillée, après agitation sur plaque chauffante, la gélose est autoclavée.

# *Références Bibliographique*

**Référence Bibliographique**

- Alam, N., & Bristi, N. J. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152.
- Allen, M. E. (2013). MacConkey Agar Plates Protocols. *ASM Microbelibrary*, September 2005, 1.
- Altaf, M., Javid, A., Umair, M., Iqbal, K. J., Rasheed, Z., & Abbasi, A. M. (2017). Ethnomedicinal and cultural practices of mammals and birds in the vicinity of river Chenab, Punjab-Pakistan. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(1).
- Alves, R. R., & Rosa, I. L. (2005). Why study the use of animal products in traditional medicines? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 1(1), 1–5.
- An, C., MA, S., Shi, X., Xue, W., Liu, C., & Ding, H. (2020). Diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from *chloranthus japonicus sieb* in Qinling Mountains, China. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 1–15.
- Andrews, J. M. (2006). BSAC standardized disc susceptibility testing method (version 5). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(3), 511–529.
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Asselin, A. (1993). Quelques enzymes végétales à potentiel antimicrobien. *Phytoprotection*, 74(1), 3–18.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Technique for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.
- Bacha, K., Tariku, Y., Gebreyesus, F., Zeihun, S., Mohammed, A., Weiland-Bräuer., Schmitzz, R. A., & Mulat, M. (2016). Antimicrobial and anti-Quorum Sensing activities of selected medicinal plants of Ethiopia: Implication for development of potent antimicrobial agents. *BMC Microbiology*, 16(1), 1–9.
- Becker-Ritt, A., Martinelli, A. H. S., Mitidieri, S., Feder, V., Assermann, G. E., Santi, L., Vainstein, M. H., Oliveira, J. T. A., Fiuza, L. M., Pasquali, G., & Carlini, C. R. (2017). Antifungal activity of plant and bacterial ureases. *Toxicon*, 50(7), 971–983.
- Bengtsoon-Palme, J., Kristiansson, E., & Joakim Larsson, D, G. (2017). *Environmental*

*factors influencing the development and spread of antibiotic resistance* (pp. 3–17).

- Benhamou, N., & Picard, K. (1999). La résistance induite : une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes. *Phytoprotection*, 80(3), 137–168.
- Berhe, T., Seifu, E., Ipsen, R., Kurtu, M. Y., & Hansen, E. B. (2017). Processing Challenges and Opportunities of Camel Dairy Products . *International Journal of food science*
- Bischof, J. C., Padanilam, J., Holmes, W. H., Ezzell, R. M., Lee, R. C., Tompkins, R. G., & Toner, M. (1995). Dynamics of Cell Membrane Permeability Changes at Supraphysiological Temperatures. *Biophysical Journal*, 68(6), 2608–2614.
- Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C., Kauppi, K. L., Fulcher, R. G., Ehlke, N. J., Biesboer, D. D., & Bey, R. F. (2009). Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(10), 707–718.
- Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., & Hasib, A. (2016). LACTIQUES ISOLEES DE VIANDE HACHEE DE DROMADAIRE. *Microbial.Ind.San et Environn.*
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation if Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 5(5), 248–254.
- Caleb., K. A., Bray, M. P., & Niba, A. T. (2009). Mastitis Causing Pathogens Within the Dairy Cattle Environment. *International Journal of Biology*, 1(1), 1–113.
- Capitani, M. I., Spotorno, V., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia ( *Salvia hispanica* L .) seeds of Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, 45(1), 94–102.
- Champoux, James, J., Neidhardt, Frederick, C., Drew, Lawrence, W., & Plorde, James, J. (2004). *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases* (C. George Ray & J. Ryan, Kenneth (eds.); Fourth Edi).
- Chan-zapata, I., Arana-argáez, V. E., & Torres-romero, J. C. (2019). Anti-inflammatory effects of the protein hydrolysate and peptide fractions isolated from *Salvia hispanica* L . seeds. 0105.
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A. M., Shabih, S., Farrokhi, D. R., & Quave, C. L. (2021). A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. *Frontiers in Pharmacology*, 11(January), 1–29.

- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A. M., Shabih, S., Farroukhi, D. R., & Quave, C. L. (2021). A Systematic Review of plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. *Frontiers in Pharmacology*, *11*(586548), 1–29.
- Ciorîta, A., Zagrean-Tuza, C., Mot, A. C., Carpa, R., & Pârveu, M. (2021). The Phytochemical analysis of Vinca L. species Leaf Extracts Is Correlated With the Antioxidant, Antibacterial, and antitumor effects. *Molecules*, *26*(10), 3040.
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, *12*(4), 564–582.
- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, *88*(1), 170–175.
- Dabur, R., Gupta, A., Mandal, T. K., Singh, D. D., Bajpai, V., Gurav, A. M., & Lavekar, G. S. (2007). Antimicrobial activity of some Indian Plants. *Africa Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *4*(3), 313–318.
- Dafni, A., & Bock, B. (2019). Medicinal plants of the Bible — revisited. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *8*, 1–14.
- Damonte, E. B., Matulewicz, M. C., & Cerezo, A. S. (2004). Sulfated Seaweed Polysaccharides as Antiviral Agents Sulfated Seaweed Polysaccharides as Antiviral Agents. *Current Medicinal Chemistry*, *11*(8), 2399–2419.
- Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*(2), 104–111.
- de Falco, B., Grauso, L., Fiore, A., Bochicchio, R., Amato, M., & Lanzotti, V. (2021). Metabolomic analysis and antioxidant activity of wild type and mutant chia (*Salvia hispanica* L.) stem and flower grown under different irrigation regimes. *Sci Food Agricood Agric*, *101*(14), 6010–6019.
- Denyer, S. P., Hodges, N. A., & Gorman, S. P. (2004). *Pharmaceutical Microbiology*.
- Dezfally, N. K., & Ramanayaka, J. G. (2015). Isolation, Identification and Assessment of the Antimicrobial Activity of *Streptomyces flavogriseus*, Strain ACTK2, From a Soil Sample From Kodagu, Karnataka State in India. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *8*(2).

- Din, Z., Alam, M., Ullah, H., Shi, D., Xu, B., Li, H., & Xiao, C. (2021). Nutritional, phytochemical and therapeutic potential of chia seed (*Salvia hispanica* L.). A mini-review. *Food Hydrocolloids for Health*, 1(June), 100010.
- Dinarello, C. A. (2010). Review Anti-inflammatory Agents : Present and Future. *Cell*, 140(6), 935–950.
- Divyapriya, G. K., Veeresh, D., & Yavagal, C. Y. (2016). Rhein-Sieg-Information unabhängiges Wochenblatt. Für Rheinbach, Meckenheim, Swisttal, Wachtberg. *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*, 4(4).
- Dorota Jakubczyk and Francois Dussart. (2020). Selected Fungal Natural Products with Antimicrobial Properties. *Molecules*, 5, 1–18.
- Douglas, H., Coutinho, M., Lôbo, K. M., Aline, D., Bezerra, C., & Lobo, I. (2008). *Peptides et protéines à activité antimicrobienne*. 40(1), 3–9.
- Dziadek, K., Kopeć, A., Dziadek, M., Sadowska, U., & Cholewa-Kowalska, K. (2022). The Changes in Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Chia (*Salvia hispanica* L.) Herb under Storage and Different Drying Conditions: A Comparison with Other Species of Sage. *Molecules*, 27(5), 1569.
- Dziadek, K., KOpec, A., Dziatek, M., Sadowska, U., & Cholewa-Koalska. (2022). The Changes in Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Chia ( *Salvia hispanica* L .) Herb under Storage and Different Drying Conditions : A Comparison with Other Species of Sage. *Molecules*, 27(5), 1569.
- El-ahmady, S. H., Ashour, M. L., & Wink, M. (2013). Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Psidium guajava* fruits and leaves. *Journal of Essential Oil Research*, 25(6), 475–481.
- Engelberg-kulka, H., Hazan, R., & Amitai, S. (2005). mazEF : A chromosomal toxin-antitoxin module that triggers programmed cell death in bacteria. *Journal of Cell Science*, 118(19), 4327–4332.
- Eraldo, M., & Costa, N. (2004). Animal-based medicines : biological prospection and the sustainable use of zootherapeutic resources. 77, 33–43.
- Falaise, C., François, C., Travers, M., Morga, B., Haure, J., Tremblay, R., Turcotte, F., Pasetto, P., Gastineau, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., & Mouget, J. (2016). Antimicrobial Compounds from Eukaryotic Microalgae against Human Pathogens and Diseases in Aquaculture. *Marine Drugs*, 1–27.
- Fontes, W., & Castro, M. (2005). Plant Defense and Antimicrobial Peptides. *Academia*,

12, 11–16.

- Forry, S. P., Madonna, M. C., Lopez-Pérez, D., Lin, N. J., & Pasco, M. D. (2016). automation of antimicrobial activity screening. *AMB Express*, 6(10), 1–10.
- Galvano, F., La Fauci, L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N. C., Tavazzi, B., & Galvano, G. (2004). Cyanidins: Metabolism and biological properties. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(1), 2–11.
- Gbian, D. L., & Omri, A. (2019). Evaluation de l'activité antimicrobienne du Phénylalanine-arginine B-naphthylamide en combinaison avec des aminoglycosides et des macrolides sur des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de patients atteints de la Fibrose kystique. *Actes de La Journée Des Sciences et Savoirs*, 24, 41–55.
- Geneviève-Djouossi, M., Tamokou, J., Ngnokam, D., Kuate, J.-R., Tapondjou, L. A., Harakat, D., & Voutquenne-Nazabadioko, L. (2015). Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the leaves of *Oncoba spinosa* Forssl. (Slicaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1–8.
- Gislin, D., Sudarsanam, D., Antony, G., & Baskar, K. (2018). Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Antibacterial activity of soil bacteria isolated from Kochi , India and their molecular identification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 287–294.
- Giugliano et Ceriello. (1996). Oxidative Stress and Diabetic Vascular Complications. *19(3)*, 257–267.
- Grancieri, M., Stampini, H., Martino, D., & Mejia, E. G. De. (2019). Chia Seed ( *Salvia hispanica* L .) as a Source of Proteins and Bioactive Peptides with Health Benefits : A Review. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 18(2), 480–499.
- Guilhelmelli, F., Vilela, N., Albuquerque, P., Derengowski, L. S., Silva-Pereira, I., & Kyaw, C. M. (2013). Antibiotic development challenges : the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Frontiers in Microbiology*, 4, 353.
- Gupta, P., Geniza, M., Naithani, S., Phillips, J. L., & Haq, E. (2021). Chia (*Salvia hispanica*) Gene Expression Atlas Elucidates Dynamic Spatio-Temporal Changes Associated With Plant Growth and Development. *Frontiers in Plant Science*, 12, 1347.
- Güzel, S., Ülger, M., & Özay, Y. (2020). Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. *International Journal of Secondary Metabolite*, 7(3), 174–180.

- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412–429.
- Haase, H., Jordan, L., Keitel, L., Keil, C., & Mahltig, B. (2017). Comparison of methods for determining the effectiveness of antibacterial functionalized textiles. *PLoS ONE*, 12(11), e0188304.
- Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., Aberasturi, D. J. De, Larramendi, I. R. De, & Rojo, T. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499–511.
- Hammer, K., Carson, C., & Riley, T. (1999). Antimicrobial Activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 8(6), 985–990.
- Hanamanthagouda, M. S., Kakkalameli, S. B., Naik, P. M., Nagella, P., Seetharamareddy, H. R., & Murthy, H. N. (2010). Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 118(3), 836–839.
- Harden, E. A., Flashaw, R., M., C. S., Kern, E. R., & Prichard, M. N. (2009). Virucidal activity of Polysaccharide Extracts from Four Algal Species against Herpes Simplex Virus. *Antiviral Research*, 83(3), 282–289.
- Harikrishnan, H., Jantan, I., Haque, M. A., & Kumolosasi, E. (2018). Anti-inflammatory effects of *Phyllanthus amarus Schum. & Thonn.* Through inhibition of NF-KB, MAPK, and PI3K-Akt signaling pathways in LPS-induced human macrophages. In *BMC Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 18, Issue 1).
- Herman, S., Arriogada, C., Campos-Saez, S., Baginsky, C., Castellaro-Galdames, G., & Morales-Salinas, L. (2018). Effect of sowing date and water availability on growth of plants of chia (*Salvia hispanica* L) established in Chile. *Plos One*, 13(9), e0203116.
- Hochart, S., Barrier, F., Durand-Joly, I., Horrent, S., & Odou, P. (2008). Les antifongiques systémiques, Partie 1: éléments pharmaceutiques. *Pharmacien Hospitalier*, 43(173), 103–109.
- Hoong, T. X., Islam, R., Jia, W. H., Biim, K. W., Mahathier Mohamed, M. M., Ammapalli, G., Dharshini, S. V. D., Dalavai, R., Murugasan, V. A., Muniady, S., & Han, C. J. (2019). Evaluation of the effect of Temperature on Total Phenolic, Total Flavonoide content and Free radical Scavenging activity in chia Seeds (*Salvia hispanica* L.) Tea. *Asian Journal of Medecine and Biomedecine*, 3(2), 30–34.
- Hrnčič, M. K., Ivanovski, M., Cör, D., & Knez, Z. (2019). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview-Photochemical Prifile, Isolation Methos, and Application. *Molecules*

- (Basel, Switzerland), 25(1), 11.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*, 15, 55–63.
  - Imran, M., Nadeem, M., Manzoor, M. F., Ali, Z., Akhtar, M. N., Ali, M., & Hussain, Y. (2016). Fatty acids characterization, oxidative perspectives and consumer acceptability of oil extracted from pre-treated chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. In *Lipids in Health and Disease* (Vol. 4, Issue 1, pp. 1–13).
  - Imran, M., Nadeem, M., Manzoor, M. F., Javed, A., Ali, Z., Akhtar, M. N., Ali, M., & Hussain, Y. (2016). Fatty acids characterization , oxidative perspectives and consumer acceptability of oil extracted from pre-treated chia ( *Salvia hispanica* L .) seeds. *Lipids in Health and Disease*, 5(1), 162.
  - Ixtaina, V. Y., Nolasco, S. M., & Toma, M. C. (2012). Oxidative Stability of Chia ( *Salvia hispanica* L .) Seed Oil : Effect of Antioxidants and Storage Conditions. *Journal of The American Oil Chemistry Society*, 89(6), 1077–1090. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1990-x>
  - Jansi, S. R., Khusro, A., Agaastian, P., Alfarhan, A., Al-Ahabi, N. abdullah., Arasu, M. V., Rajagopal, R., Barcelo, D., & Al-Tamimi, A. (2021). Emerging paradigms of viral diseases and paramount role of natural resources as antiviral agents. *Science of The Total Environment*, 759, 143–539.
  - Jaroli, D. P., Mahawar, M. M., & Vyas, N. (2010). An ethnozoological study in the adjoining areas of Mount Abu wildlife sanctuary, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 6.
  - Johnsen, K., & Nielsen, P. (1999). Diversity of Pseudomonas strains isolated with King’s B and Gould’s S1 agar determined by repetitive extragenic palindromic-polymerase chain reaction, 16S rDNA sequencing and Fourier transform infrared spectroscopy characterisation. *FEMS Microbiology Letters*, 173(1), 155–162.
  - Kalliokoski, T., Kramer, C., Vulpetti, A., & Gedek, P. (2013). Comparability of Mixed IC50 Data - A Statistical Analysis. *PLoS One*, 8(4), e61007.
  - Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., Joloba, M. L., & Najjuka, F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(1), 1–7.
  - Khalil, M. M. H., Ismail, E. H., El-Baghdady, K. Z., & Mohamed, D. (2014). Green

- synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1131–1139.
- Kiranmayi, M. U., Sudhakar, P., Sreenivasulu, K., & Vijayalakshmi, M. (2011). Optimization of Culturing Conditions for Improved Production of Bioactive Metabolites by *Pseudonocardia sp.* *VUK-10*. 39(3), 174–181.
  - Kobus-cisowska, J., Szymanowska, D., Maciejewska, P., Kmiecik, D., Gramza-micha, A., Kulczy, B., & Cielecka-piontek, J. (2018). In vitro screening for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition and antimicrobial activity of chia seeds (*Salvia hispanica*). *Electronic Journal of Biotechnology*, 37, 1–10.
  - Kolodkin-Gal, I., Sat, B., Keshet, A., & Kulka, H. E.-. (2008). The Communication Factor EDF and the Toxin – Antitoxin Module mazEF Determine the Mode of Action of Antibiotics. *PLOS Biology*, 6(12), e319.
  - Koné, W. M., Kamanzi Atindehou, K., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traoré, D., & Dosso, M. (2004). Traditional medicine in North Côte-d’Ivoire: Screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1), 43–49.
  - Kouadio, N. J., Kone, M. W., Guessenn, N. K., Konan, K. F., Bamba, M., Konan, Y., Allagba-Astsain, M. R., Tra-Bi, F. H., Bakayoko, A., & Dosso, M. (2017). evaluation de l’activité antibactérienne des feuilles de *Spondias mombin* L. (*anacardiaceae*) sur la croissance in-vitro de souches d’entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) et tri phytochimique. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 20(2), 431–440.
  - Krishna, S., Benny, B., Samraj, S., John, P., & Radhakrishnan, U. (2022). Modulatory potential of *Tamarindus indica* seed coat on oestrogen and progesterone secretion in MCF-7 cell lines. *The Journal of Phytopharmacology*, 11(2), 75–78.
  - Kudi, A., & Myint, S. (1999). Antiviral activity of some Nigerian medicinal plant extracts Cite this paper Antiviral activity of some Nigerian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 68(1–3), 289–294.
  - Kulczynski, B., Kobus-cisowska, J., Taczanowski, M., Kmiecik, D., & Gramza-Michalowska, A. (2019). The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds-Current State of Knowledge. *Nutrients*, 11(6), 1242.
  - Lahuerta Zamoura, L., & Pérez-Gracia, M. T. (2012). Using digital photography to implement the MvFarland method. *The Royal Society*, 1892–1897.
  - Larivière, S. (2002). Résistance des bactéries aux agents antimicrobiens. 1–8.

- Lev, E. (2003). Traditional healing with animals (zootherapy): medieval to present-day Levantine practice. *Journal of Ethnopharmacology*, 85(1), 107–118.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). *Free radicals , antioxidants and functional foods : Impact on human health*. 4(8), 118–126.
- Lu, T.-S., Yiao, S.-Y., Lim, K., Jensen, R. V., & Hsiao, L.-L. (2010). Interpretation of biological and mechanical variations between the Lowry versus Bradford method for protein quantification. *North American Journal of Medical Sciences*, 2, 325–328.
- Maema, L. P., Potgieter, M., & Mahlo, S. M. (2016). Invasive alien plant species used for the treatment of various diseases in limpop province, South Africa. 223–231.
- Mahawar, M. M., & Jaroli, D. P. (2006). Animals and their products utilized as medicines by the inhabitants surrounding the Ranthambhore National Park, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-2-46>
- Mahawar, M. M., & Jaroli, D. P. (2008). Traditional zootherapeutic studies in India: A review. In *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* (Vol. 4).
- Mahrajan *et al.* (2014). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of *Aloe vera*: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1), 21–26.
- Maillard, J. (2002). Bacterial target sites for biocide action. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 92, 16–27.
- Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In Vitro Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Tropical Medicine*, 2019.
- Marcinek, K., & Krejpcio, Z. (2017). Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications – a review. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 68(2), 123–129.
- Maregesi, S. M., Pieters, L., Ngassapa, O. D., Apers, S., Vingerhoets, R., Cos, P., Vanden Berghe, D. A., & Vlietinck, A. J. (2008). Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial , antifungal and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 58–6.
- Martínez, R. A., Schvezov, N., Brumovsky, L. A., Beatriz, A., & Román, P. (2017). Influence of temperature and packaging type on quality parameters and antimicrobial properties during Yateí honey storage. *Food Science and Technologie*2, 83, 196–202.
- Matuschek, E., Brown, D. F. J., & Kahlmeter, G. (2013). Development of the EUCAST

- disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), 255-266.
- McDonnell, G., & Russel, D. (1999). Antiseptics and Disinfectants : Activity , Action , and Resistance. *American Societ for Microbiology*, 12(1), 147–179.
  - Merchant, M. E., Roche, C. M., Thibodeaux, D., & Elsey, R. M. (2005). Identification of alternative pathway serum complement activity in the blood of the American alligator ( *Alligator mississippiensis* ). *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 141(3), 281-288.
  - Mohammadi Pour, P., Fakhri, S., Asgary, S., Hosein., F. M., & Javier., E. (2019). The signaling Patways, and Therapeutic Trgets of antiviral Agents: Focusing on the Antiviral Approaches and Clinical Perspectives of anthocyanins in the Management of Viral Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 10(1207), 1–23.
  - Mohammed, H., & Sheikh, A. (2010). Antimicrobial activity of certain bacteria and fungi isolated from soil mixed with human saliva against pathogenic microbes causing dermatological diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(4), 331–339.
  - Mohd Ali, N., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W., & Tan, S. G. (2012). The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. 1-9
  - Motyka *et al.* (2017). The current State of Knowledge on *Salvia Hispanica* and *Salvia hispanicae semen* ( Chia Seeds ). *Molecules*, 27(1207), 1–20.
  - Motyka, S., Koc, K., Ekiert, H., Blicharska, E., Czarnek, K., & Szopa, A. (2022). The Current State of Knowledge on *Salvia hispanica* and *Salvia hispanica semen* (Chia Seeds). *Molecules*, 27(4), 1207.
  - Mutlu-Ingok, A., Devecioglu, D., Dikmetas, D. N., Karbancioglu-Guler, F., & Capanoglu, E. (2020). Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(20), 4711.
  - Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteriaAntibacterial activity of plant. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4), 247–256.
  - Nasrollahi, A., Pourshamsian, K., & Mansourkiaee, P. (2011). Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi. *Int.J.Nano.Dim*, 1(3), 233–239.
  - Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 68.

- Nevozhay, D. (2014). cheburator Software for Automatically Calculating Drug Inhibitory Concentrations from In vitro Screening Assays. *Plos One*, 9(9), e106186.
- Nicol et Maudet. (2000). Caroténoïdes et Vitamine A. actualités. *Oléagineu, Corps gras, Lipides*, 7(3), 266-270.
- Nunes, R., Arantes, M. B., Menezes, S., Pereira, D. F., Leandro, L., Passos, M. D. S., & Moraes, L. P. De. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*, 25(3726), 1–22.
- Ocampo, P. S., Lazar, V., Papp, B., Arnoldini, M., Wieisch, P. A. zur, Busa-Fekete, R., Fekete, G., Pal, C., Ackermann, M., & Bonhoeffer, S. (2014). Antagonism between Bacteriostatic and Bactericidal antibiotics Is Prevalent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), 4573–4582.
- Orhan, D. D., Özçelik, B., Özgen, S., & Ergun, F. (2010). Antibacterial , antifungal , and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological Research*, 165(6), 496–504.
- Osanloo, M., Ghanavi, G., & Abdollahi, A. (2020). Surveying the chemical compisition and antibacterial activity of essential oils from selected madicinal plants against human pathogens. *Iranian Journal of Microbiology*, 12(6), 577.
- Oulahal, N., & Degraeve, P. (2022). Phenolic-Rich Plant Etracts with Antimicrobial activity: An Alternative to Food Preservatives and Biocides? *Frontiers in Microbiology*, 12(753519), 1–31.
- Pankey, G., & Sabath, L. (2004). Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal activity in the treatment of gram-positive bacterial infections [2]. *Clinical Infectious Diseases*, 39(5), 864–870.
- Pashirova, T. N., Lukashenko, S. S., Zakharov, S. V, Voloshina, A. D., Zhiltsova, E. P., Zobov, V. V, Souto, E. B., & Ya, L. (2015). Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Self-assembling systems based on quaternized derivatives of agents and carriers for hydrophobic drugs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 127, 266–273.
- Peláez, P., Orona-Tamayo, D., Montes-Hernández, S., Valverde, M. E., Paredes-López, O., & Cibrián-Jaramillo, A. (2019). Comparative transcriptome analysis of cultivated and wild seeds of *Salvia hispanica* (chia). *Scientific Reports*, 9(1), 9761.
- Penesyán, A., Marshall-Jones, A., Holmstrom, C., Kjelleberg, S., & Egan, S. (2009). antimicrobial Activity Observed Among cultured Marine Epiphytic Bacteria Reflects Their Potential as a source of New Drug. *FEMS*, 113–124.
- Peršin, Z., Kleinschek, K. S., & Mozetič, M. (2014). The effects of storage gases on the

- durability of ammonia plasma effects with respect to wound fluid absorption and the biostatic activity of viscose non-wovens. *Textile Research Journal*, 84(7), 751–763.
- Poole, K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max. *Frontiers in Microbiology*, 2(65), 1–13.
  - Pushpanathan, M., Gunasekaran, P., & Rajendhran, J. (2013). Antimicrobial peptides: Versatile biological properties. *International Journal of Peptides*, 2013.
  - Rabail, R., Khan, M. R., Mehwish, H. M., Rajoka, M. S. R., Lorenzo, J. M., Kieliszek, M., Khalid, A. R., Shabbir, M. A., & Aadil, R. M. (2021). An overview of chia seed (*Salvia hispanica* L.) bioactive peptides' derivation and utilization as an emerging nutraceutical food. *Frontiers in Bioscience - Landmark*, 26(9), 643–654.
  - Rahman, M. A., & Islam, M. S. (2013). Antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of the phytochemicals of whole *Leucas aspera* extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(4), 273–279.
  - Raimbault, M. (1995). Importance des bactéries lactiques dans les fermentations du manioc. *Free Radical Biology & Medicine*, 52, 1075–1085.
  - Rodriguez, A., Mesa-Garcia, M. D., Damian Medina, K. A., Quirantes Pine, R., Casuso, R. A., Segura Carretero, A., & Huertas, J. R. (2021). Assessment of the Phytochemical and Nutritional composition of Dark Chia Seed (*Salvia hispanica* L.). *Foods*, 10(12), 3001.
  - Rômulo et Humberto. (2011). The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7(9), 1–43.
  - Sadiq, A., Ahmad, S., Ali, R., Ahmad, F., Ahmad, S., Zeb, A., & Ayaz, M. (2016). Antibacterial and antifungal potentials of the solvents extracts from *Eryngium caeruleum*, *Notholirion thomsonianum* and *Allium consanguineum*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(478), 1–8.
  - Saga, T., & Yamaguchi, K. (2009). *History of Antimicrobial Agents and Resistant*. 137(3), 103–108.
  - Salikin, N. H., Nappi, J., Majzoub, M. E., & Egan, S. (2020). Combating parasitic nematode infections, newly discovered antinematode compounds from marine epiphytic bacteria. *Microorganisms*, 8(12), 1–19.
  - Schafhauser, B. H., Kristofco, L., De Oliverira, C. M. R., & Brooks, B. W. (2018). Global Review and Analysis of Erythromycin in the Environment: Occurrence,

- Bioaccumulation and Antibiotic Resistance Haards. *Environment Pollution*, 238, 440–451.
- Scheinpflug, K., Krylova, O., Nikolenko, H., Thurm, C., & Dathe, M. (2015). Evidence for a Novel Mechanism of Antimicrobial Action of a Cyclic R-, W-Rich Hexapeptide. *Plos One*, 10(137), 1–16.
  - Schwarz, S., Shen, J., Kadlec, K., Wang, Y., Michael, G. B., Feßler, A. T., & Vester, B. (2016). Lincosamides, streptogramins, phenicols, and pleuromutilins: mode of action and mechanisms of resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(11), a027037.
  - Segura-Campos, M. R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2014). Physicochemical characteriation of chia (*Slavia hispanica*) seed oil from Yucatan, Miico. *Agricultural Sciences*, 05(03), 220–226.
  - Shazhni, J. R. A., Renu, A., & Vijayaraghavan, P. (2018). Insights of antidiabetic , anti-inflammatory and hepatoprotective properties of antimicrobial secondary metabolites of corm extract from *Caladium x hortulanum*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(8), 1755–1761.
  - Shishido, T. K., Popin, R. V., Jokela, J., Wahlsten, M., Fiore, M. F., Fewer, D. P., Herfindal, L., & Sivonen, K. (2019). Dereplication of Natural Products with Antimicrobial and Anticancer Activity from Brazilian Cyanobacteria. *Toxins*, 12(12), 1–17.
  - Silva et Fernandes. (2010). Biological properties of medicinal plants: A review of their antimicrobial activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 16(3), 402–413.
  - Silva, F., Lourenço, O., Queiroz, J., & Domingues, F. C. (2011). Bacteriostatic versus bactericidal activity of ciprofloxacin in *Escherichia coli* assessed by flow cytometry using a novel far-red dye. *The Journal of Antibiotics*, 64, 321–325.
  - Silva, N., & Fernandes, J. A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 16(3), 402–413.
  - Smedley, J. G., Sharp, J. S., Kuhn, J. F., & Tomer, K. B. (2008). Probing the pH-Dependent Prepore to Pore Transition of *Bacillus anthracis* Protective antigen with Differential Oxidative Protein Footprinting. *Biochemistry*, 47(40), 106944–110704.
  - Sultana, D. R., Shahin, A. D., & Md. Jawadul, H. (2021). Measurement of oxidative stress and total antioxidant capacity in hyperthyroid patients following treatment with

- carbimazole and antioxidant. *Heliyon*, 8(1), 1–8.
- Suresh *et al.* (2012). Screening on antimicrobial activity of marine gastropods *Babylonia zeylanica* (Bruguère,1789) and *Harpa conoidalis* (Lamarck, 1822) from Mudasalodai, Southeast Coast of India. 4(4), 552–556.
  - Talley, K., & Alexov, E. (2010). On the pH-optimum of activity and stability if proteins. *Proteins*, 78(12), 2699–2706.
  - Tam, J. P., Wang, S., Wong, K. H., & Tan, W. L. (2015). Antimicrobial peptides from plants. In *Pharmaceuticals* (Vol. 8, Issue 4, pp. 711–757). MDPI AG.
  - Tanhaeian, A., Sekhavati, M. H., & Moghaddam, M. (2020). Antimicrobial activity of some plant essential oils and an antimicrobial - peptide against some clinically isolated pathogens. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7(13), 1–11.
  - Tasca, F., & Antiochia, R. (2020). Biocide Activity of Green Quercetin-Mediated Synthesized Silver Nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(909), 1–11.
  - Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Chemistry*, 90(3), 333–340.
  - Tian, C., Zhang, P., Yang, C., Gao, X., Wang, H., Guo, Y., & Liu, M. (2018). Extraction Process , Component Analysis , and In Vitro Antioxidant , Antibacterial , and Anti-Inflammatory Activities of Total Flavonoid Extracts from *Abutilon theophrasti* Medic . Leaves. *Hindawi*, 2018, 1–18.
  - Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2016). Physicochemical and functional properties of protein isolate produced from Australian chia seeds. *Food Chemistry*, 212, 648–656.
  - Toty, A. A., Guessenn, N., Bahi, C., Kra, A. M., Otokore, D. A., & Dosso, M. (2013). Evaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l' écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de La Société Royale Des Sciences de Liège*, 82, 12–21.
  - Tsamo, D. L. F., Tamokou, J.-D.-D., Kengne, I. C., Ngnokam, C. D. J., Djamalladine, M. D., Voutquenne-Nazabadioko, L., & Ngnokam, D. (2021). Antimicrobial and Antioxidant Secondary Metabolites from *Trifolium baccarinii* Chiov. (*Fabaceae*) and Their Mechanisms of antibacterial Action. *Antibacterial Action BioMed Research International*.

## Références Bibliographique

- Tunçil, Y. E., & Çelik, Ö. F. (2019). Total phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) having different coat color. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(1), 113–120.
- Tunçil, Y. E., & Çelik, Ö. F. (2019). Total phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) having different coat color. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(1), 113–120.
- Vashist, H., & Jindal, A. (2012). Antimicrobial Activities of Medicinal Plants – Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(1), 222–230.
- Vieillen, C., & Zeikus, G. J. (2001). Hyperthermophilic Enzymes: Sources, Uses, and Molecular Mechanisms for Thermostability. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 65(1), 1–43.
- Vijayan, P., Raghu, C., Ashok, G., Dhanaraj, S. A., & Suresh, B. (2004). Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian Journal of Medical Research*, 120(1), 24–29.
- Wang, B., Timilsena, Y. P., Blanch, E., & Adhikari, B. (2019). Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 580–596.
- Weiss, K. (2002). La résistance bactérienne: la nouvelle guerre froide. *Perspective Infirmière : Revue Officielle de l'Ordre Des Infirmières et Infirmiers Du Québec*, 37(2), 41–49.
- Wester, P., & CkaBen-Bockhoff. (2007). Floral Diversity and Pollen Transfer Mechanisms Mechanisms in Bird-pollinated *Salvia* Species. *Annals of Botany*, 100(2), 401–421.
- Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2(3), 251–286.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytotherapie*, 9(4), 209–218.
- Yili, A., Maksimov, V., Ma, Q.-L., Gao, Y.-H., Veshkurova, O., Salikhov, S., & Aisa, H. A. (2014). Antimicrobial Peptides from the Plants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2014), 627–641.

## ***Références Bibliographique***

- Yili, A., Maksimov, V., Ma, Q. L., Gao, Y. H., Veshkurova, O., Salikhov, S., & Aisa, H. A. (2014). Antimicrobial peptides from the plants. *J. Pharm. Pharmacol*, 2, 627-641.
- Zahir, I., Babouchi, M., Boulanour, H., & El Louyti, M. (2018). Effet des Microorganismes Isolés à partir des Biotopes Marocains sur les Phytopathogènes: Revue Bibliographique. *AgroBiologie*, 8, 971–983.
- Zayova, E., Nikolova, M., Dimitrova, L., & Petrova, M. (2016). Comparative Study of in vitro, ex vitro and in vivo Propagated *Salvia hispanica* (Chia) Plants: Morphometric Analysis and Antioxidant Activity. *AgroLife Scientific Journal*, 5(2), 166–174.
- Zúñiga-López, M. C., Maturana, G., Campmajó, G., Saurina, J., & Núñez, O. (2021). Determination of bioactive compounds in sequential extracts of chia leaf (*Salvia hispanica* L.) using UHPLC-MS/MS (Q-Orbitrap) and a global evaluation of antioxidant in vitro capacity. *Antioxidants*, 10(7), 1151.

## Résumé

La plante *Salvia hispanica* est une plante herbacée annuelle de la famille *Lamiaceae*, qui est traditionnellement utilisée pour le traitement de diverses maladies depuis l'antiquité. *Salvia hispanica* est dotée des composants bioactifs qui présentent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, et antimicrobiennes. Pour cela, l'objectif de cette étude est de rechercher des propriétés antibactériennes dans la solution aqueuse des graines de *Salvia hispanica*, vis-à-vis des souches de référence *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. Les résultats obtenus montrent la présence d'activité antibactérienne au niveau de ces graines avec un d'IC50 de 0,49, 0,60 et 0,20 mg/mL et une CMI de 0,26, 1,04 et 0,13mg/mL vis-à-vis, respectivement, des souches *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. Les traitements pH et thermique ont affecté l'activité antibactérienne de la solution des graines de *Salvia hispanica*. Aussi, les résultats ont montré que le milieu liquide est mieux adapté pour la recherche de ce type d'activité que le milieu solide.

**Mots clés :** activité antibactérienne, *Salvia hispanica*, IC50, CMI, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*.

## Abstract

The *Salvia hispanica* plant is an annual herbaceous plant of the *Lamiaceae* family, which has been traditionally used for the treatment of various diseases since ancient times. *Salvia hispanica* is endowed with bioactive components that exhibit antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial activities. For this, the objective of this study is to search for antibacterial properties in the aqueous solution of *Salvia hispanica* seeds, against the reference strains *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. The results obtained show the presence of antibacterial activity in these seeds with an IC50 of 0,49; 0,60 and 0,20 mg/mL and an MIC of 0,26; 1,04 and 0,13mg / mL against, respectively, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli* strains. The pH and heat treatments affected the antibacterial activity of the *Salvia hispanica* seed solution. Also, the results showed that the liquid medium is better suited for researching this type of activity than the solid medium.

**Key words:** antibacterial activity, *Salvia hispanica*, IC50, CMI, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*.

## ملخص

نبات *Salvia hispanica* هو نبات عشبي سنوي من عائلة *Lamiaceae*، والذي كان يستخدم تقليدياً لعلاج الأمراض المختلفة منذ العصور القديمة. نبات *Salvia hispanica* غني بالمكونات النشطة بيولوجياً التي تعرض أنشطة مضادة للأوكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات. لهذا الغرض، الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن الخصائص المضادة للبكتيريا في المحلول المائي لبذور *Salvia hispanica*، ضد السلالات المرجعية *S. aureus*، *P. aeruginosa* و *E. coli*. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود نشاط مضاد للجراثيم في هذه البذور مع IC50 0,49 و 0,60 و 0,20 ملجم / مل و MIC من 0,26 و 1,04 و 0,13 ملجم / مل ضد سلالات *S. aureus* و *P. aeruginosa* و *E. coli*. أثرت درجة الحموضة والمعاملات الحرارية على النشاط المضاد للبكتيريا لمحلول بذور *Salvia hispanica*. كما أظهرت النتائج أن الوسط السائل أكثر ملائمة للبحث في هذا النوع من النشاط من الوسط الصلب.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا، *Salvia hispanica*، IC50، CMI، *S. aureus*، *P. aeruginosa*، *E. coli*.