

Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de Master en Filière des sciences biologiques

Domaine : Science de la nature et de la vie

Spécialité : biochimie Appliquée

Thème :

**Etude de l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne
de l'extrait méthanolique des graines de chia « *Salvia
hispanica* L.»**



Présenté Par :

YOUCEF EZZINE Fairouz & LATTAB Fatima Zahra

Soutenu le 23/06/2025 devant le jury composé de :

Président	REBAI Ouafa	Prof	Université de Mostaganem
Directrice de mémoire	BAHLOUL Halima Ourass	MCA	Université de Mostaganem
Examineur	SIDHOUM Warda	MCA	Université de Mostaganem

Année Universitaire 2024/2025

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à **Madame BAHLOUL Halima Ourass**, maître de conférences et encadrante de ce mémoire, pour sa précieuse supervision, sa bienveillance, ses conseils rigoureux ainsi que pour l'attention particulière qu'elle a portée à chaque étape de ce travail. Son accompagnement scientifique et humain a été déterminant dans l'aboutissement de ce projet.*

*Nos sincères remerciements vont également à **Madame la Professeure REBAI Oufa**, présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'évaluer notre travail, ainsi qu'à **Madame SIDHOUM Warda**, examinatrice, pour son regard scientifique attentif et son appui logistique, en facilitant notamment notre accès à des structures expérimentales complémentaires indispensables à la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à saluer l'implication de **Monsieur Djilali Hafid**, technicien au laboratoire de l'Université de Mostaganem – branche LITa, pour son accompagnement technique tout au long de notre stage pratique, ainsi que le soutien apprécié de **Dr.ZAOUI Soumia**, , pour ses orientations claires et son assistance au quotidien.*

*Nos vives reconnaissances vont également à **Monsieur BERRAHLA Nabil**, technicien au laboratoire d'agronomie de la branche ENAS, pour sa précieuse collaboration, ainsi qu'à **Monsieur AÏT SAADA Djamel**, pour avoir mis à notre disposition son laboratoire, permettant ainsi la finalisation de nos analyses dans des conditions optimales.*



Dédicace



À vous , *Maman SEFAL Hafidha,*

ma raison de me lever chaque matin, mon ancrage quand tout vacille.

Tu es ce souffle doux qui me rassure sans parler, ce regard qui comprend tout sans un mot,

ce cœur immense dans lequel j'ai toujours trouvé ma place. Tu t'es oubliée pour que je puisse exister,

tu as donné sans compter, aimé sans limite, porté sans relâche.



Ton amour est le fil invisible qui m'a tenue debout...

Et aujourd'hui, chaque ligne de ce mémoire est un hommage à ton dévouement sacré. Ce travail t'appartient, autant qu'à moi.

Je t'aime plus que les mots ne pourront jamais le dire.

À mes sœurs adorées, Ghada, Romaiassa, et Mesko, mes trésors, mes confidentes, mes âmes jumelles.

Votre présence est un baume, un refuge, une musique qui m'apaise.

Vous avez séché mes larmes, partagé mes espoirs, porté mes doutes, et même dans le silence, vous étiez là , entièrement là.

Chaque victoire mienne est vôtre aussi,

car vous êtes les battements profonds de mon cœur.



À toi *Fatima*, mon amie de l'âme, ma précieuse alliée dans cette aventure, tu sais ce que représente ce mémoire, car tu l'as vécu avec moi, mot après mot, fatigue après fatigue, sourire après sourire.



À travers toi, j'ai découvert la valeur rare d'une complicité vraie. Ta fidélité, ta force, ton écoute... Je ne l'oublierai jamais.

À madame *HABIBI Rachida*,

vos gestes pleins de délicatesse et de patience ont habillé ce jour d'élégance. Merci pour cette attention remplie de chaleur,

merci pour avoir cousu bien plus qu'un vêtement, un souvenir précieux. Et puis ...



À moi-même,

à cette jeune femme qui a traversé le doute, le découragement, les nuits longues et les silences lourds mais qui, malgré tout, a tenu bon.

Tu n'as jamais abandonné.

Je suis fière de ton courage, de ta résilience,

de la lumière que tu as su garder au fond de toi, même quand tout semblait s'éteindre.

tout mon amour

Fairouz



الإهداء

إلى الله جلّ في علاه

من منحني القوة حين ضعفت، والنور حين تعثرت، والأمل حين يئست
لك الحمد على كل نعمة، وعلى تمام هذا العمل، فإن تمّ فهو بتوفيقك، وإن قصر، فبغفوك أرجو
القبول

إلى والديّ العزيزين

سندي في هذه الحياة
لكما كل الامتنان على صبركما، تشجيعكما، ودعواتكما التي كانت النور الذي أنار دربي
ما أنا عليه اليوم ثمرة تعبكما وتضحيتكما

إلى صديقتي الوفية فيروز

رفيقة الدرب والمواقف
لك من القلب شكر لا يكتب ولا يُقال
كنت دوماً العون والروح الجميلة التي خففت عني عناء الطريق

إلى أساتذتي الكرام على امتداد سنوات تعليمي
لكم مني كل الاحترام والتقدير على ما غرستموه من علم وقيم

فاطمة زهرة



Résumé

Salvia hispanica L., connue sous le nom de chia, est une plante annuelle riche en composés bioactifs aux propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Dans ce travail, un extrait méthanolique des graines de chia a été préparé afin de mener une série d'analyses : une analyse phytochimique pour détecter la présence de métabolites secondaires, la quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes, ainsi qu'une étude de l'activité anti-inflammatoire, comparée à un anti-inflammatoire de référence (diclofénac sodique), afin d'évaluer l'efficacité relative de l'extrait.

L'étude antibactérienne a été réalisée sur un large éventail de souches incluant des bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), une levure pathogène (*Candida albicans*), ainsi que des bactéries lactiques bénéfiques (*Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium spp.*). L'objectif était d'évaluer l'effet inhibiteur de l'extrait tout en vérifiant son innocuité vis-à-vis de la flore probiotique. Les tests ont été menés selon la méthode des disques d'aromatogramme, et les résultats ont été comparés à un antibiotique standard pour valider l'efficacité antimicrobienne.

Les résultats ont révélé une teneur élevée en composés phénoliques et une activité anti-inflammatoire notable, bien que légèrement inférieure à celle du diclofénac. L'activité antimicrobienne a été significative contre *S. aureus* et *E. coli*, avec des effets moindres ou absents sur d'autres souches. Quelques effets inhibiteurs ont été notés sur certaines bactéries lactiques, ce qui nécessite une prudence dans l'utilisation de l'extrait dans des formulations probiotiques..

Mots-clés :

Salvia hispanica, chia, composés phénoliques, flavonoïdes, activité anti-inflammatoire, diclofénac, activité antimicrobienne, bactéries pathogènes, bactéries lactiques, probiotiques.

Abstract

Salvia hispanica L., commonly known as chia, is an annual plant rich in bioactive compounds with anti-inflammatory and antimicrobial properties. In this work, a methanolic extract of chia seeds was prepared to carry out several analyses: a phytochemical screening to detect the presence of secondary metabolites, quantification of total polyphenols and flavonoids, and an evaluation of anti-inflammatory activity, compared to a reference anti-inflammatory drug (diclofenac sodium) to assess the relative efficacy of the extract.

The antibacterial study was conducted on a wide range of strains, including pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), a pathogenic yeast (*Candida albicans*), and beneficial lactic acid bacteria (*Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium spp.*). The objective was to assess the inhibitory effect of the extract while verifying its safety with regard to the probiotic flora. The tests were performed using the aromatogram disk method, and results were compared to a standard antibiotic to validate antimicrobial effectiveness.

The results revealed a high content of phenolic compounds and a notable anti-inflammatory activity, although slightly lower than that of diclofenac. The antimicrobial activity was significant against *S. aureus* and *E. coli*, with lesser or no effects on other strains. Some inhibitory effects were observed on certain lactic acid bacteria, which calls for caution when using the extract in probiotic formulations.

Keywords:

Salvia hispanica, chia, phenolic compounds, flavonoids, anti-inflammatory activity, diclofenac, antimicrobial activity, pathogenic bacteria, lactic acid bacteria, probiotics.

الملخص

تُعرف *Salvia hispanica L.* باسم الشيا، وهي نبتة سنوية غنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا ذات الخصائص المضادة للالتهاب والمضادة للميكروبات. في هذا العمل، تم تحضير مستخلص ميثانولي من بذور الشيا من أجل إجراء سلسلة من التحاليل، شملت: الكشف النوعي عن بعض المكونات الثانوية (السكرينينغ الفيتوكيميائي)، وتحديد كمية الفينولات الكلية والفلافونويدات، بالإضافة إلى دراسة النشاط المضاد للالتهاب، مقارنةً بمضاد الالتهاب المرجعي (ديكلوفيناك الصوديوم)، من أجل تقييم الفعالية النسبية للمستخلص. كما تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الشيا على مجموعة متنوعة من السلالات، شملت بكتيريا ممرضة (*Staphylococcus aureus*)، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، وخميرة ممرضة (*Candida albicans*)، بالإضافة إلى بكتيريا لبنية نافعة (*Lactobacillus fermentum*) و (*Bifidobacterium spp.*). هدفت هذه الدراسة إلى تحديد قدرة المستخلص على تثبيط نمو السلالات الضارة مع التحقق من سلامته تجاه الفلورا البروبيوتكية. وقد تم اعتماد طريقة الأقراص الورقية لتقييم النشاط المضاد للميكروبات، مع مقارنة النتائج بمضاد حيوي قياسي لتأكيد الفعالية. أظهرت النتائج احتواء المستخلص على نسبة عالية من المركبات الفينولية، ونشاطًا مضادًا للالتهاب ملحوظًا، لكنه أقل فعالية من ديكلوفيناك. كما سجل نشاط مضاد للميكروبات معتبر ضد *S. aureus* و *E. coli*، بينما كان تأثيره محدودًا أو منعدمًا على باقي السلالات. كما لوحظ تأثير مثبت طفيف على بعض البكتيريا اللبنية، ما يستدعي الحذر في استعماله ضمن التركيبات الحاوية على البروبيوتيك.

الكلمات المفتاحية:

سالفيا هيسبانيكا، بذور الشيا، المركبات الفينولية، الفلافونويدات، النشاط المضاد للالتهاب، ديكلوفيناك، النشاط المضاد للميكروبات، البكتيريا الممرضة، البكتيريا اللبنية، البروبيوتيك.

Table des matieres

Résumé.....	a
Abstract.....	b
الملخص.....	c
LISTE DES ABREVIATIONS	d
LISTE DES FIGURES.....	e
LISTE DES TABLEAUX.....	f

Partie Bibliographique..... G

Introduction 1

I : Généralités sur *Salvia hispanica* (Chia)..... 4

I.1	Généralité sur <i>Salvia hispanica</i> :	5
I.2	Répartition géographique :	5
I.3	Caractéristiques morphologiques de <i>Salvia hispanica</i> :	6
I.3.1	Caractéristique de <i>Salvia hispanica</i> (la plante) :	6
I.3.2	Caractéristique des graines (fruits) de chia <i>Salvia hispanica</i> :	7
I.4	La classification botanique	8
I.4.1	Les synonymes :	9
I.5	Les graines de <i>Salvia hispanica</i> :	9
I.5.1	Usage traditionnel :	9
I.5.2	Intérêt nutritionnel :	10
I.5.3	Activités biologiques des graines de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.)	12
I.5.3.1	Activité antioxydante :	12
I.5.3.2	Activité antidiabétique :	12
I.5.3.3	Activité hypotensive :	12
I.5.3.4	Activité hypocholestérolémiant :	12
I.5.3.5	Activité cytotoxique :	12
I.5.3.6	Effet hydratant pour la peau :	13
I.5.3.7	Activité anti-inflammatoire :	13
I.5.3.7.1	Mécanismes biochimiques de l'ALA sur la cascade inflammatoire	13
I.5.3.7.2	Réduction des biomarqueurs inflammatoires in vivo	14
I.5.3.7.3	Études expérimentales sur modèle animal.....	14
I.5.3.7.4	Rôle des composés phénoliques et peptides bioactifs	14

I.5.3.7.5	Applications cliniques potentielles	15
I.5.3.8	Activité antimicrobienne :	15
I.5.3.8.1	Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	15
I.5.3.8.2	La méthode de diffusion sur disque :	15
I.5.3.8.3	La méthode de dilution :	16
I.5.3.8.4	La méthode de microatmosphère :	17
I.5.3.8.5	la méthode de diffusion en puits :	18
II	Les méthodes d'extraction et extrait méthanolique.....	19
II.1	généralité sur les méthodes d'extractions.....	20
II.1.1	L'extraction de l'extrait méthanolique par macération.....	20
II.2	Extrait méthanolique de graines de chia :	21
II.2.1	Composition chimique :	21
II.2.1.1	Composés phénoliques :	21
II.2.1.2	Classification des composés phénoliques.....	22
II.2.2	Les propriétés physico-chimique d'extrait méthanolique de graines de chia :	23
III	Bactérie pathogènes et bactéries lactiques	24
III.1	Les bactéries pathogènes :.....	25
III.1.1	Généralité :	25
III.1.2	Staphylococcus aureus :	25
III.1.2.1	Les caractères morphologiques et culturaux :	26
III.1.2.2	Habitat :	26
III.1.2.3	Le pouvoir pathogène :	26
III.1.2.3.1	Toxi-infection :	27
III.1.2.3.2	Infections suppuratives :	27
III.1.3	Escherichia coli :	28
III.1.3.1	Caractères morphologiques et culturaux	28
III.1.3.2	Habitat :	29
III.1.3.3	Pouvoir pathogène chez l'homme :	29
III.1.4	Candida albicans :	30
III.1.4.1	Caractères morphologiques et culturaux :	30
III.1.4.2	Habitat	31
III.1.4.3	Pouvoir pathogène :	31
III.1.5	Pseudomonas aeruginosa	31

III.1.5.1	Caractères morphologiques et culturaux :	32
III.1.5.2	Habitat	33
III.1.5.3	Pouvoir pathogène :	33
III.2	Les bactéries lactiques :	34
III.2.1	Généralité :.....	34
III.2.2	Définition.....	34
III.2.3	Habitat :	35
III.2.4	Caractéristiques des genres :.....	35
III.2.4.1	Lactobacillus :	35
III.2.4.2	Bifidobacterium :.....	36

Partie expérimentale **37**

IV Matériel et méthodes **38**

IV.1	objectif du travail :	39
IV.2	Matériel végétal :	39
IV.3	Méthodes :	39
IV.3.1	Extraction par macération dans un solvant méthanol aqueux (extraction solide/liquide) :.....	39
IV.3.1.1	Calcul du rendement d'extraction	40
IV.3.2	Analyse qualitative	41
IV.3.2.1	Analyse phytochimique	41
IV.3.2.1.1	Méthodes de dépistage phytochimique des principaux groupes chimiques :.....	41
IV.3.3	Analyse quantitative	43
IV.3.3.1	Dosage des polyphénols totaux	43
IV.3.3.1.1	Principe	43
IV.3.3.1.2	Technique.....	44
IV.3.3.2	Dosage des flavonoïdes	44
IV.3.3.2.1	Principe	44
IV.3.3.2.2	Technique.....	44
IV.3.4	Activité Anti-inflammatoire :	45
IV.3.4.1	Principe :	45
IV.3.4.2	Technique :	45
IV.3.5	L'activité antibactérienne :	47
IV.3.5.1	Origine et choix des souches :	47
IV.3.5.2	Préparation des cultures :	47
IV.3.5.3	Test de l'activité antibactérienne :	48

IV.3.5.4	Méthodologie expérimentale.....	48
IV.3.5.4.1	Préparation des dilutions de l'extrait :	48
IV.3.5.4.2	test de contrôle :	48
IV.3.5.4.3	Ensemencement et dépôt des disques :	49
IV.3.5.4.4	Incubation finale :	49
IV.3.5.5	Expression des résultats	49
IV.3.5.6	Comparaison avec un antibiotique de référence :	50
V	Résultats.....	51
V.1	Rendement et concentration en matière sèche	52
V.2	.Analyse qualitative	52
V.2.1	Analyse phytochimique	52
V.3	Analyse quantitative :	54
V.3.1	Teneur en polyphénols totaux (PPT) :	54
V.3.2	Teneur en flavonoïdes	55
V.4	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	56
V.5	Résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne	57
VI	Discussion.....	62
VI.1	Rendement d'extraction.....	63
VI.2	Analyse phytochimique	63
VI.3	La teneur en composés phénoliques	64
VI.4	Analyse in vitro de l'activité anti-inflammatoire	65
VI.4.1	Méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine	65
VI.5	L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de <i>Salvia hispanica</i>	66
VI.5.1	Efficacité sur les bactéries pathogènes	66
VI.5.2	Impact sur les bactéries lactiques bénéfiques	66
VI.5.3	Comparaison avec le témoin et l'antibiotique de référence	67
VI.5.4	Implications pratiques et perspectives	67
	Conclusion.....	68
	Références bibliographiques	70

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acide arachidonique

ALA : Acide alpha-linolénique

B9, B12 : *Bifidobacterium longum* (souches)

C : Degré Celsius (°C)

Cm : Centimètre

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

COX : Cyclooxygénase

CRP : Protéine C-réactive

Da : Dalton

E. coli : *Escherichia coli*

EM : Extrait méthanolique

F : Femme

FeCl₃ : Chlorure de fer

G : Gramme

H : Homme

h : Heure

HCl : Acide chlorhydrique

HDL : High-Density Lipoprotein (bon 12holesterol)

H₂SO₄ : Acide sulfurique

IFN- α : Interféron alpha

IL : Interleukine

Inos : Inducible Nitric Oxide Synthase

I2 : Iode moléculaire

Kcal : Kilocalorie

KI : Iodure de potassium

L : Litre

L9, L11 : *Lactobacillus fermentum* (souches)

LDL : Low-Density Lipoprotein (mauvais cholestérol)

LOX : Lipoxygénase

LPV : Leucocidine de Panton-Valentine

LT : Leucotriènes

M : Mètre / Masse (à préciser selon le contexte)

MCP-1 : Monocyte Chemoattractant Protein-1

min : Minute

MIS : Maladies/infections d'origine alimentaire

Mm : Millimètre

MRS : le milieu de Man, Rogosa, et Sharpe .

Nm : Nanomètre

NO : Monoxyde d'azote

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

PBS : Solution saline tampon phosphate (*Phosphate Buffered Saline*)

PG : Prostaglandines

Ph : Potentiel d'hydrogène

Rdt : Rendement

Ref : référence

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SCTS : Syndrome du choc toxique staphylococcique

TIA : Toxi-infections alimentaires

TNF : Facteur de nécrose tumorale

TSST : Toxine du syndrome de choc toxique (*Toxic Shock Syndrome Toxin*)

Tx : Thromboxanes

Ug : Microgramme

Um : Micromètre

UV : Ultraviolet

V : Volume

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde (Walker et al.2004).	6
Figure 2 : Aet B : Plante de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) en floraison. (Botanik Sämereien, s.d.).	7
Figure 3 : Graines de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) de couleur noire et blanche, à surface lisse et forme ovale,typiques des fruits secs de type akène. (Ayerza & Coates, 2011) (Chausseau, 2020).	8
Figure 4 : Schéma des voies métaboliques COX/LOX. (Ghasemian, Owlia, & Owlia, 2016).	13
Figure 5 : Graphique montrant la diminution des marqueurs CRP, IL-6 et TNF- α après supplémentation en chia. (Alvarez-Jubete, Arendt, & Gallagher, 2023).	14
Figure 6 : Antibiogramme par méthode de diffusion (Balouiri, Sadiki, & Ibnsouda, 2016).	16
Figure 7 : La méthode de dilution et la détermination de la CMI et CMB.....	17
Figure 8 : Analyse de l'activité antimicrobienne par micro-atmosphère(Zaika, 1988).	17
Figure 9 : la méthode de diffusion en puits sur gélose (vt.enseigne.ac-lyon.fr, 2008).	18
Figure 10 : processus d'extraction de l'extrait méthanolique par macération (Maxicours. (S.D.)	21
Figure 11 : Aspect de <i>S .aureus</i> en microscopie électronique (Antoine Henne ,2009)	26
Figure 12 : Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> .(Mouatasseem .B.2018).	27
Figure 13 : Photographie d' <i>Escherichia coli</i> , visualisée par microscope électronique à balayage, extraite d'Annous et al. (2009) avec autorisation de reproduction de John Wiley and Sons, Copyright (2019).	28

Figure 14 : <i>Candida albicans</i> (Sudbery et al., 2004)	30
Figure 15 : Image tridimensionnelle générée par ordinateur <i>P. aeruginosa</i> (Science Source, 2016)...	33
Figure 16 : A: Filtration ;B:Agitation magnétique.	40
Figure 17 : Evaporation rotatif (Rihane et Benlahreche ,2013)	40
Figure 18 : solutions à différentes concentration de extraits méthanoliques pour l'analyse anti-inflammatoire.	45
Figure 19 : Préparation des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de <i>Salvia hispanica</i>	48
Figure 20 : Résultats visuels des réactions de dépistage phytochimique sur l'extrait méthanolique	53
Figure 21 : courbe d'étalonnage d'acide gallique	54
Figure 22 : Teneur des polyphénols totaux en µg EAG/g MS	55
*Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.	55
Figure 24 : Teneur des flavonoïdes en µg EQ/g MS	56
Figure 25 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par le diclofénac sodique et l'extrait méthanolique	57
Figure 26 :Zone d'inhibition produite par l'antibiotique de référence sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Caractéristiques morphologiques et physiques comparées des graines de chia (<i>Salvia hispanica</i>) noires et blanches.(Ixtaina et al., 2008).....	7
Tableau 2 : Classification botanique de <i>Salvia hispanica</i> (Hernández,2012).....	8
Tableau 3 : Les Valeurs nutritionnelles des graines de chia (Ullah et al., 2016).....	11
Tableau 4 : méthodes de dépistage phytochimique des principaux groupes de métabolites secondaires dans l'extrait méthanolique	43
Tableau 5 : Estimation de la sensibilité des souches aux extrait (Ponce et al. 2003).	50
Tableau 6 : Dépistage phytochimique qualitatif des principaux groupes de métabolites secondaires présents dans l'extrait methanolique	53
Tableau 7 : Pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait methanolique et le diclofénac sodique (contrôle positif) à différentes concentrations.	56
Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) observés pour différentes souches bactériennes exposées à l'extrait méthanolique de <i>Salvia hispanica</i> à différentes concentrations, incluant les résultats du témoin (méthanol seul) et de l'antibiotique de référence (pour <i>Staphylococcus aureus</i>) .	58
Tableau 9 : Illustrations des zones d'inhibition observées sur gélose pour les souches exposées à l'extrait méthanolique de <i>Salvia hispanica</i> à des différentes concentration	60

Partie Bibliographique

Introduction

Les maladies inflammatoires chroniques et les infections bactériennes résistantes aux traitements conventionnels constituent aujourd'hui un véritable défi pour la santé publique mondiale. Ces pathologies affectent fortement la qualité de vie des patients et posent des problèmes majeurs dans la prise en charge thérapeutique, notamment en raison de la résistance croissante aux antibiotiques classiques.

Dans ce contexte, la recherche de solutions alternatives issues du règne végétal prend une importance croissante. En effet, les extraits naturels de plantes médicinales, riches en composés bioactifs tels que les polyphénols, flavonoïdes et acides gras essentiels, représentent une source prometteuse de nouveaux agents thérapeutiques à la fois antimicrobiens et anti-inflammatoires.

Parmi ces ressources, *Salvia hispanica*, communément appelée graines de chia, est reconnue depuis l'Antiquité pour ses multiples vertus nutritionnelles et pharmacologiques. Riche en acides gras oméga-3, composés phénoliques et flavonoïdes, cette plante suscite un intérêt scientifique grandissant, notamment pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. (Mohd ali, N., Yeap, S. K., et al. 2012).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la spécialité biochimie appliquée, qui vise à valoriser les ressources naturelles pour des applications biomédicales concrètes. L'objectif principal est d'étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des graines de chia, en la comparant à celle d'un standard pharmaceutique bien connu, le diclofénac sodique, un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). Cette activité est évaluée in vitro par l'inhibition de la dénaturation des protéines (albumine d'œuf), un mécanisme clé dans les processus inflammatoires. (Mizushima, Y., & Kobayashi, M. 1968).

En second lieu, nous évaluons l'activité antimicrobienne de cet extrait sur un panel de souches bactériennes représentatives, incluant des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, ainsi que des bactéries lactiques bénéfiques (*Lactobacillus spp.* et *Bifidobacterium spp.*). Cette approche vise à vérifier si l'extrait présente une inhibition sélective des pathogènes sans compromettre la croissance des probiotiques, permettant ainsi une utilisation potentielle en association avec des produits laitiers fermentés.

Afin de structurer notre approche expérimentale et répondre aux problématiques soulevées, plusieurs axes de travail ont été définis :

- La préparation de l'extrait méthanolique brut des graines de *Salvia hispanica* .
- L'évaluation de la teneur en polyphénols et flavonoïdes de cet extrait, en lien avec ses effets biologiques
- L'étude in vitro de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait par comparaison avec le diclofénac, à travers l'inhibition de la dénaturation des protéines .
- L'étude de l'activité antibactérienne sélective de l'extrait sur des bactéries pathogènes et lactiques.

Ce mémoire est structuré en trois parties principales, La première partie est une revue bibliographique consacrée aux propriétés biologiques des graines de *Salvia hispanica* et de leur extrait méthanolique, en mettant en lumière leur potentiel anti-inflammatoire. Elle aborde également le processus inflammatoire ainsi que les généralités sur les bactéries pathogènes et lactiques utilisées dans notre étude, afin de mieux comprendre le contexte scientifique de notre travail. La deuxième partie décrit de manière détaillée les matériaux et les méthodes expérimentales mises en œuvre pour évaluer les activités biologiques ciblées. Enfin, la troisième partie présente les résultats obtenus, leur interprétation et une discussion permettant de les replacer dans le cadre des données existantes..

I Généralités sur Salvia hispanica (Chia)

I *Salvia hispanica*

I.1 Généralité sur *Salvia hispanica* :

La chia (*Salvia hispanica* L.) est une plante herbacée annuelle, appartenant à la famille des Lamiaceae, originaire du centre du Mexique et du nord du Guatemala (Abdelhalim & Hanrahan, 2021). Elle est aujourd'hui considérée comme un aliment fonctionnel de grande valeur, en raison de ses propriétés nutritionnelles exceptionnelles, et elle est largement exploitée dans l'élaboration de produits nutraceutiques et de compléments alimentaires.

La classification botanique de la chia remonte à 1753, lorsque le naturaliste suédois Carl von Linné l'identifia sous l'appellation *Salvia hispanica*. Le terme *Salvia*, dérivé du latin "salvare" (sauver, guérir), fait référence à ses vertus médicinales, tandis que *hispanica* désigne son association géographique à l'Espagne. Ainsi, cette dénomination scientifique évoque une "plante espagnole aux propriétés curatives" (Sosa et al., 2016).

Sur le plan étymologique, le mot "chia" provient du terme "Chian", qui signifie "huileux" en langue nahua. Les civilisations précolombiennes, notamment les Aztèques, utilisaient cette appellation pour désigner les espèces du genre *Salvia*, en raison de leur teneur élevée en lipides, principalement en acides gras insaturés (Sosa et al., 2016).

Au cours de la dernière décennie, la production, la consommation et la demande mondiales de chia ont connu une croissance exponentielle. Cette plante constitue une source précieuse d'acides gras polyinsaturés, notamment d'oméga-3, ainsi que de composés phénoliques aux effets antioxydants notables. Au Mexique, cette dynamique s'est traduite par une augmentation significative des surfaces cultivées, passant de 15 hectares en 2006 à 16 721 hectares en 2014. Cette progression spectaculaire de 11 473 hectares reflète l'intérêt économique croissant pour la chia, qui se révèle plus rentable que le maïs, grâce à ses caractéristiques nutraceutiques. (López et al., 2017)

I.2 Répartition géographique:

Le genre *Salvia* regroupe environ 900 espèces, réparties depuis des millénaires à travers diverses régions du globe, notamment l'Afrique australe, l'Amérique centrale, l'Amérique du Nord et du Sud, ainsi que l'Asie du Sud-Est. Selon les données rapportées dans la littérature scientifique, la culture de la chia (*Salvia hispanica* L.) ne se limite plus à ses régions d'origine, que sont le Mexique et le Guatemala, mais s'est étendue à d'autres pays tels que l'Australie, la Bolivie, la Colombie, le Pérou, l'Argentine, ainsi qu'à certaines régions d'Amérique du Nord et d'Europe.. Actuellement, le Mexique demeure le principal

producteur mondial de chia (**Knez Hrnčič et al., 2019**).

Sur le plan écologique, la chia pousse de manière spontanée dans des environnements forestiers dominés par les chênes ou les pins, caractérisés par des températures relativement basses. Sa répartition naturelle s'étend aux zones semi-chaudes à tempérées, situées le long de l'axe néo-volcanique transversal, de la Sierra Madre Occidentale jusqu'au sud du Chiapas. Elle se développe généralement à des altitudes comprises entre 1 400 et 2 200 mètres (**Figure 1**) (**Di Sapio et al., 2012**).

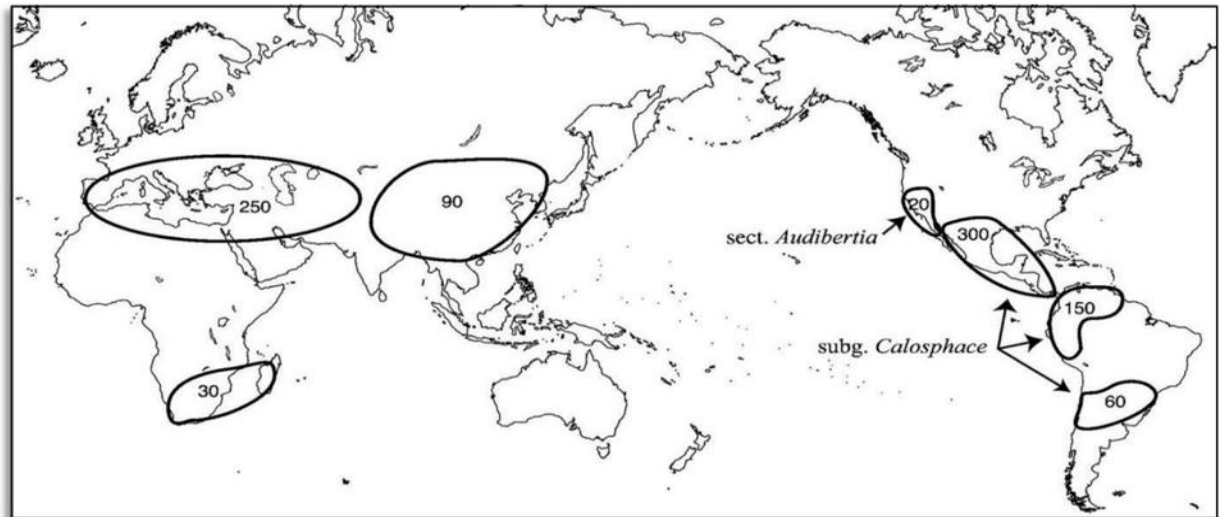


Figure 1: Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker et al.2004).

I.3 Caractéristiques morphologiques de *Salvia hispanica*:

I.3.1 Caractéristique de *Salvia hispanica* (la plante) :

- ✓ Type : Plante herbacée annuelle
- ✓ Origine : Sud du Mexique et nord du Guatemala
- ✓ Adaptation : Cultivable sous climats tropicaux à subtropicaux ; peu tolérante au gel
- ✓ Hauteur : Environ 1 à 1,5 m
- ✓ Les feuilles : portées par un pétiole de 40 mm de long , sont opposées, ovales à oblongues, et couvertes d'une pubescence blanchâtre. Elles font 40-60 × 80-100 mm et ont des marges serretées.
- ✓ Floraison : Petites fleurs blanches ou violettes
- ✓ Sensibilité : Plante photopériodique (sensible à la lumière du jour)
- ✓ Fruit : Akène contenant une graine. (**Ixtaina et al., 2008**)

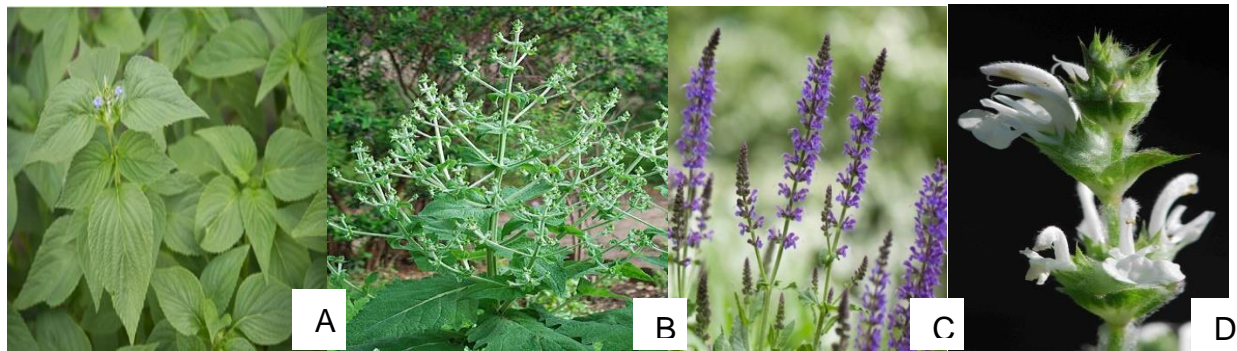


Figure 2: Aet B : Plante de chia (*Salvia hispanica* L.) en floraison. (Botanik Sämereien, s.d.).

C : *Salvia hispanica* L.à fleurs violettes (enGraineToi, s.d.)

D : *Salvia hispanica* L.à fleurs blanches (Triple Performance, s.d.)

I.3.2 Caractéristique des graines (fruits) de chia *Salvia hispanica* :

Caractéristique	Graines noires (majoritaires)	Graines blanches (issues d'un gène récessif)
Type de fruit	Akène (fruit sec indéhiscent)	
Forme	Ellipsoïde scalène	
Longueur moyenne (mm)	2.11	2.15
Largeur moyenne (mm)	1.32	1.40
Épaisseur moyenne (mm)	0.81	0.83
Diamètre géométrique moyen(mm)	1.31	1.36
Surface moyenne (mm ²)	5.42	5.79
Masse de 1000 graines (g)	1.323	1.301
Diamètre équivalent (mm)	1.32 – 1.39	
Sphéricité (%)	62.2 à 66.0	
Volume unitaire (mm ³)	1.19 à 1.42	
Densité apparente (g/cm ³)	0.667 – 0.722	
Densité réelle (g/cm ³)	0.931 – 1.075	
Porosité (%)	22.9 – 35.9	
Angle de repos (°)	16 à 18	
Coefficient de friction statique	0.28 (tôle galvanisée), 0.31 (acier doux)	

Tableau 1: Caractéristiques morphologiques et physiques comparées des graines de chia (*Salvia hispanica*) noires et blanches.(Ixtaina et al., 2008)



Figure 3: Graines de chia (*Salvia hispanica* L.) de couleur noire et blanche, à surface lisse et forme ovale, typiques des fruits secs de type akène. (Ayerza & Coates, 2011) (Chausseau, 2020).

I.4 La classification botanique

La plante de chia appartient à la famille des Lamiacées. Sa classification est la suivante (**Tableau 1**)

Règne :	Plantae
Sous-règne:	Tracheobionta
Division :	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Ordre:	Lamiales
Famille:	Lamiaceae
Genre :	<i>Salvia</i>
Espèce :	<i>Salvia hispanica</i>

Tableau 2 : Classification botanique de *Salvia hispanica* (Hernández, 2012).

I.4.1 Les synonymes:

Il existe d'autres noms et classification scientifiques de la *Salvia hispanica* :

- ✓ *Kiosmina hispanica* (L.) Raf.
- ✓ *Salvia chia* Colla
- ✓ *Salvia chia* Sessé & Moc.
- ✓ *Salvia hispanica* var. *chionocalyx* Fernald
- ✓ *Salvia hispanica* var. *intonsa* Fernald
- ✓ *Salvia neohispanica* Briq.
- ✓ *Salvia prismaticum* Cav.
- ✓ *Salvia schiedeana* Stapf
- ✓ *Salvia tetragona* Moench (**Bánki et al., 2025**)

I.5 Les graines de *Salvia hispanica* :

I.5.1 Usage traditionnel :

□ Au XVe siècle, les peuples de l'Alliance aztèque au Mexique utilisaient les graines de chia (*Salvia hispanica* L.) comme aliment à haute valeur énergétique, comme remède médicinal pour traiter diverses maladies, ainsi que comme offrande rituelle destinée aux dieux dans les cérémonies religieuses (**Akinfenwa et al., 2020**).

La chia occupait une place centrale dans la vie quotidienne des Aztèques. Elle était consommée sous différentes formes : mélangée à de l'eau comme boisson, moulue en farine, intégrée dans des préparations médicinales, offerte aux oiseaux, ou encore pressée pour en extraire une huile utilisée comme base pour les peintures corporelles et faciales. Cette huile servait également à protéger les statues et peintures religieuses des intempéries. Riche en énergie, la graine de chia était particulièrement prisée comme fortifiant pour les guerriers en campagne et pour les femmes en préparation à l'accouchement (**López et al., 2017**).

La conservation des graines et de la farine de chia pendant de longues périodes renforçait son statut d'aliment stratégique, notamment lors des déplacements militaires. Elle était considérée comme une source d'énergie essentielle dans ce contexte (**Coates, 2011**).

Par ailleurs, plusieurs auteurs soulignent l'importance de la chia dans l'alimentation précolombienne. Les graines étaient fréquemment torréfiées puis moulues pour produire une farine appelée *chianpinolli*, qui entrait dans la composition de tortillas, tamales ou encore de boissons appelées *chianatoles*. Pour les Aztèques, la récolte de chia avait une importance comparable à celle du maïs, au même titre que l'amarante (**Valdivia-López & Tecante, 2015**).

Sur le plan médicinal, la chia était largement utilisée, soit seule, soit en association avec d'autres plantes. Elle est d'ailleurs répertoriée dans la *Nueva Farmacopea de México* (1874) comme plante médicinale aux propriétés émoullientes. Une des applications mentionnées était son utilisation pour retirer les corps étrangers de l'œil.

I.5.2 Intérêt nutritionnel :

La chia est une plante oléagineuse reconnue pour sa richesse en acides gras essentiels, notamment en oméga-3 et oméga-6, ainsi qu'en fibres alimentaires (**Ayerza & Coates, 2004**).

Ses graines sont consommées de diverses manières : entières, moulues comme ingrédient fonctionnel, ou après extraction de l'huile. Elles sont également valorisées pour leurs propriétés nutritionnelles et médicinales, notamment comme source de protéines végétales, coupe-faim, régulateur glycémique et stimulant d'endurance chez les athlètes (**Bochicchio et al., 2015**). De plus, en l'absence de gluten, la chia constitue un ingrédient adapté aux régimes sans gluten, améliorant les qualités nutritionnelles sans altérer les caractéristiques organoleptiques des produits (**Steffolani et al., 2014**).

Lorsqu'elles sont hydratées, les graines de chia forment un mucilage, une substance gélatineuse aux multiples applications qui est exploitée dans des préparations traditionnelles mexicaines telles que les boissons *aguafresca* ou *chia fresca*, mais aussi dans les eaux sucrées et les produits de boulangerie (**López et al., 2017 ; Bochicchio et al., 2015**).

Outre leur intérêt culinaire, les graines hydratées sont aussi utilisées comme agent épaississant ou stabilisant dans les conserves, les yaourts, les sauces ou les mayonnaises, et peuvent même remplacer l'œuf ou l'huile dans certaines recettes boulangères (**Bochicchio et al., 2015**).

Selon **Ayerza et Coates (2011)**, un adulte ayant un apport journalier de 2700 kcal devrait consommer environ 22,5 à 26,5 g de graines de chia, ou 6,9 à 7,9 g d'huile, pour couvrir ses besoins quotidiens en acides gras oméga-3.

L'huile de chia peut également être utilisée comme assaisonnement ou comme ingrédient dans les aliments fonctionnels, en complément des graines (**Muñoz et al., 2013**).

Enfin, les graines de chia sont largement commercialisées dans l'industrie agroalimentaire aux États-Unis, en Amérique latine et en Australie, pour la fabrication de pains, barres céréalières, biscuits, produits de petit-déjeuner, salades et boissons à base de céréales (**Ullah et al., 2016**).

Ce tableau présente la teneur en macronutriments, acides gras essentiels, minéraux et vitamines des graines de chia, exprimée pour 100 g et pour une cuillère à soupe (10 g), ainsi que leur contribution relative aux apports journaliers recommandés chez l'adulte :

	Apport pour 100g	Apport pour 1 càs soit 10g	Besoins journaliers pour l'adulte
Protéines (g)	19,5	1,95	Dépend de votre besoin énergétique
Glucides (g)	7,72	0,77	
Lipides (g)	30,7	3,07	
Fibres (g)	34,4	3,44	30
Acide linoléique (oméga 6) (g)	5,84	0,58	Environ 8 – 10g
Acide alpha- linoléique (oméga 3) (g)	17,8	1,78	Environ 2 – 3g
Calcium (mg)	631	63,1	950
Cuivre (mg)	0,92	0,092	H : 1,3 F : 1
Fer (mg)	7,72	0,77	H : 11 F : 11 ou 16 si règles
Magnésium (mg)	335	33,5	H : 420 F : 360
Manganèse (mg)	2,72	0,27	H : 2,8 F : 2,5
Phosphore (mg)	860	86	550
Potassium (mg)	407	40,7	Minimum 390 à 585
Zinc (mg)	4,58	0,45	H : 9,4 à 14* F : 7,5 à 11*
Vitamine E (mg)	0,5	0,05	H : 10,5 F : 9,9
Vitamine C (mg)	1,6	0,16	110
Vitamine B2 (mg)	0,17	0,017	H : 1,8 F : 1,5
Vitamine B3 (mg)	8,83	0,88	H : 17,4 F : 14
Vitamine B9 (µg)	49	0,49	330
Vitamine B12 (µg)	0	0	4

Tableau 3 : Les Valeurs nutritionnelles des graines de chia (Ullah et al., 2016)

I.5.3 Activités biologiques des graines de chia (*Salvia hispanica* L.)

Depuis toujours, l'homme a cherché dans la nature des solutions pour répondre à ses besoins fondamentaux, notamment en matière de santé. La médecine traditionnelle comme la recherche moderne ont reconnu l'importance des propriétés biologiques naturelles telles que les activités antioxydantes (**Arulselvan et al., 2016**), anti-inflammatoires (**Chen et al., 2020**) et enzymatiques (**Gurung et al., 2013**), issues principalement de métabolites secondaires extraits de microorganismes (**Vijayakumar et al., 2016 ; Mi et al., 2017 ; Zheng et al., 2021**) ou de plantes médicinales (**Teoh, 2016**). En raison de ces bienfaits, de nombreux médicaments modernes ont été développés à partir de ces composés naturels (**Maciel et al., 2002**). Parmi les plantes d'intérêt, la chia (*Salvia hispanica* L.) occupe une place particulière grâce à ses graines riches en composés bioactifs. Diverses études ont mis en évidence plusieurs activités biologiques bénéfiques associées à la consommation ou à l'utilisation topique de ses graines ou de leur extrait :

I.5.3.1 *Activité antioxydante :*

les graines de chia sont riches en composés phénoliques, flavonoïdes et acides gras polyinsaturés, leur conférant une forte capacité à neutraliser les radicaux libres et à réduire le stress oxydatif. (**Reyes-Caudillo et al., 2008**)

I.5.3.2 *Activité antidiabétique :*

la richesse en fibres solubles et en composés mucilagineux contribue à la régulation de la glycémie postprandiale, améliorant la réponse insulinaire. (**Chicco et al., 2009**)

I.5.3.3 *Activité hypotensive :*

les graines de chia ont montré des effets bénéfiques sur la réduction de la tension artérielle, en partie grâce à leur teneur en potassium, magnésium et acides gras essentiels. (**Vuksan et al., 2007**)

I.5.3.4 *Activité hypocholestérolémiant :*

la consommation régulière de graines de chia permet de diminuer les niveaux de cholestérol LDL et de triglycérides, tout en augmentant le HDL. (**Ullah et al., 2016**)

I.5.3.5 *Activité cytotoxique :*

certaines extraits de chia ont démontré un potentiel cytotoxique contre certaines lignées cellulaires cancéreuses, ouvrant des perspectives en oncologie naturelle. (**Segura-Campos et al., 2014**)

I.5.3.6 Effet hydratant pour la peau :

grâce à la présence de mucilage et d'antioxydants, les graines de chia ont également été utilisées en cosmétique naturelle pour maintenir l'hydratation cutanée. (Jin et al., 2012)

I.5.3.7 Activité anti-inflammatoire :

Les graines de chia (*Salvia hispanica* L.) sont reconnues pour leurs vertus nutritionnelles et pharmacologiques, notamment en matière de modulation de l'inflammation. Plusieurs mécanismes ont été mis en évidence pour expliquer cette activité.

I.5.3.7.1 Mécanismes biochimiques de l'ALA sur la cascade inflammatoire

L'un des composants majeurs des graines de chia est l'acide alpha-linolénique (ALA), un acide gras polyinsaturé de type oméga-3. Celui-ci entre en compétition avec l'acide arachidonique (oméga-6) dans les voies enzymatiques cyclooxygénase (COX) et lipoxygénase (LOX). En bloquant l'accès de l'AA à ces enzymes, l'ALA limite la formation de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines E2 (PGE₂) et les leucotriènes B4 (LTB₄), au profit de dérivés moins actifs ou anti-inflammatoires (Nieman et al., 2012 ; Poudyal et al., 2012 ; Simopoulos, 2002).

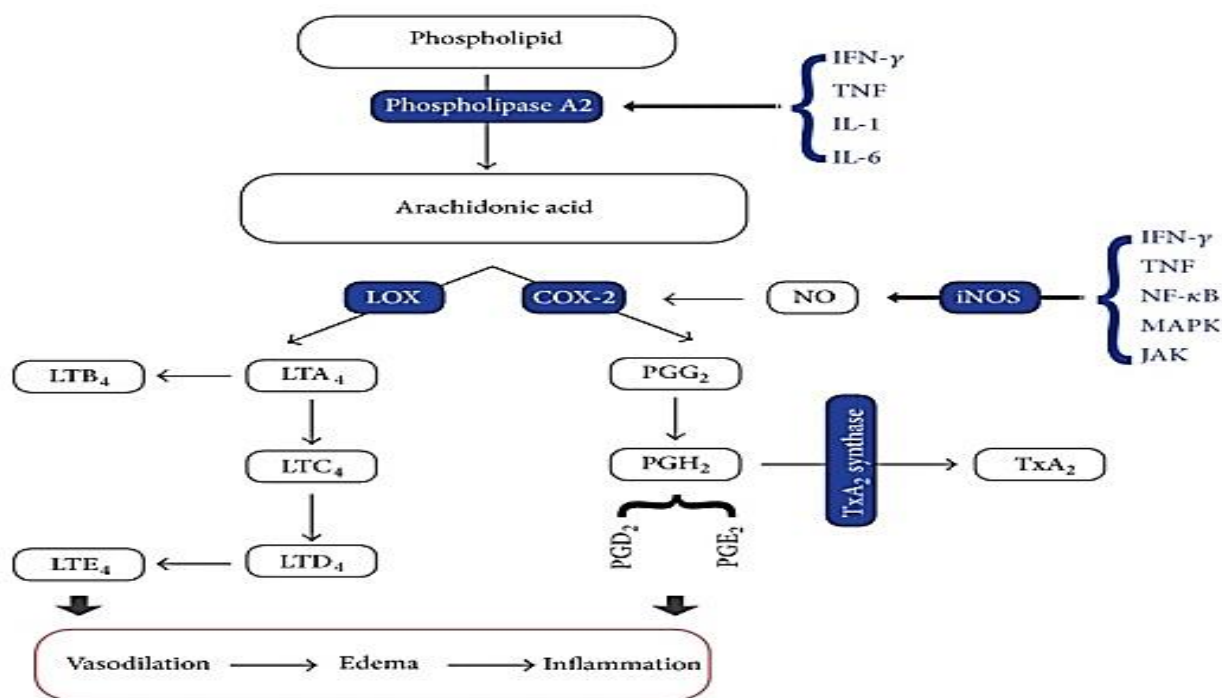


Figure 4 : Schéma des voies métaboliques COX/LOX. (Ghasemian, Owlia, & Owlia, 2016).

I.5.3.7.2 Réduction des biomarqueurs inflammatoires in vivo

Des études cliniques et animales ont mis en évidence une diminution significative des marqueurs de l'inflammation systémique suite à la consommation régulière de graines ou d'huile de chia. On observe notamment une réduction de la protéine C-réactive (CRP), de l'interleukine-6 (IL-6) et du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) (Nieman *et al.*, 2012 ; Reyes-Caudillo *et al.*, 2008).

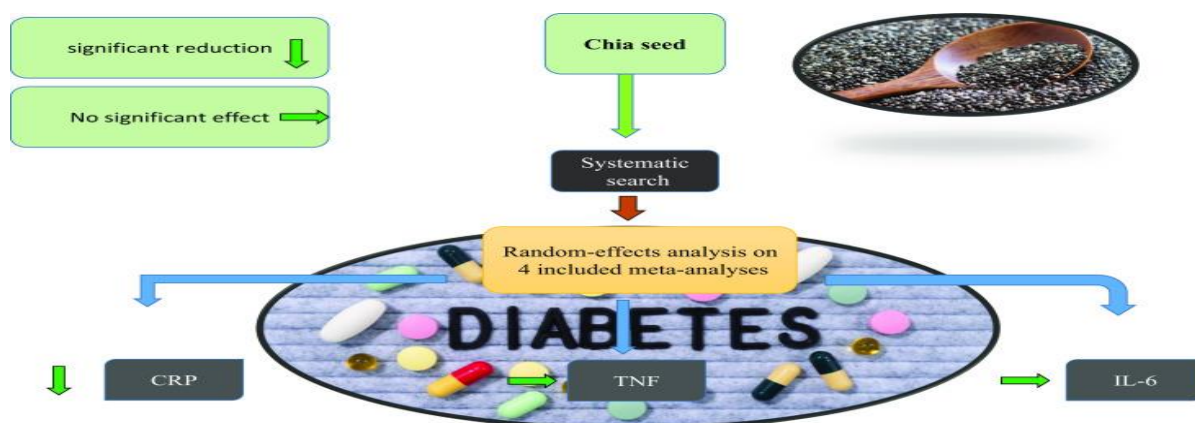


Figure 5 : Graphique montrant la diminution des marqueurs CRP, IL-6 et TNF- α après supplémentation en chia. (Alvarez-Jubete, Arendt, & Gallagher, 2023).

I.5.3.7.3 Études expérimentales sur modèle animal

Dans un modèle murin de syndrome métabolique induit par un régime riche en graisses, la supplémentation en chia a montré une réduction de l'infiltration des macrophages dans le tissu adipeux et une diminution de l'expression des gènes inflammatoires, notamment NF- κ B, IL-6 et MCP-1. Cela confirme l'effet anti-inflammatoire systémique de la chia (Poudyal *et al.*, 2012).

I.5.3.7.4 Rôle des composés phénoliques et peptides bioactifs

Les graines de chia sont également riches en composés phénoliques (acide caféique, acide rosmarinique, quercétine) et peptides bioactifs issus de l'hydrolyse des protéines. Ces molécules possèdent des effets antioxydants et anti-inflammatoires démontrés, notamment via l'inhibition de la voie NF- κ B et la réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires (Reyes-Caudillo *et al.*, 2008 ; Vauzour *et al.*, 2010 ; Simopoulos, 2002).

I.5.3.7.5 Applications cliniques potentielles

Les propriétés anti-inflammatoires des graines de chia en font un agent thérapeutique potentiel dans la prévention ou la gestion des maladies inflammatoires chroniques, telles que :

- Le diabète de type 2
- Les maladies cardiovasculaires
- Les maladies inflammatoires de l'intestin
- Certaines maladies auto-immunes (Simopoulos, 2002 ; Poudyal et al., 2012).

I.5.3.8 Activité antimicrobienne :

Les graines de chia (*Salvia hispanica* L.) présentent une activité antimicrobienne attribuée à leur richesse en composés bioactifs tels que les phénols, flavonoïdes, acides gras essentiels et autres antioxydants. Ces composés permettent d'inhiber la croissance de diverses souches pathogènes, notamment celles impliquées dans les infections urinaires comme *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella spp.* (Abdullah, 2025)

I.5.3.8.1 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Plusieurs méthodes in vitro sont utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits végétaux, notamment ceux issus des graines de chia (*Salvia hispanica* L.). Ces méthodes permettent d'identifier les effets bactériostatiques ou bactéricides des extraits en fonction de leur concentration, de leur nature chimique et de leur mode d'action.

I.5.3.8.2 La méthode de diffusion sur disque :

également appelée aromagramme, est l'une des plus simples et des plus économiques pour une première évaluation qualitative. Elle consiste à imprégner un disque de papier stérile avec l'extrait végétal, puis à le placer sur une gélose, généralement Mueller-Hintonensemencée avec une souche bactérienne normalisée. Après incubation, une zone d'inhibition se forme autour du disque si l'extrait possède une activité antimicrobienne (Divyapriya et al., 2016). Cette méthode permet de comparer visuellement l'efficacité de plusieurs extraits ou concentrations, mais elle ne permet pas de déterminer la concentration exacte nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne. De plus, son efficacité peut être influencée par la diffusion du composé dans le milieu, ce qui peut poser problème pour les molécules peu diffusibles

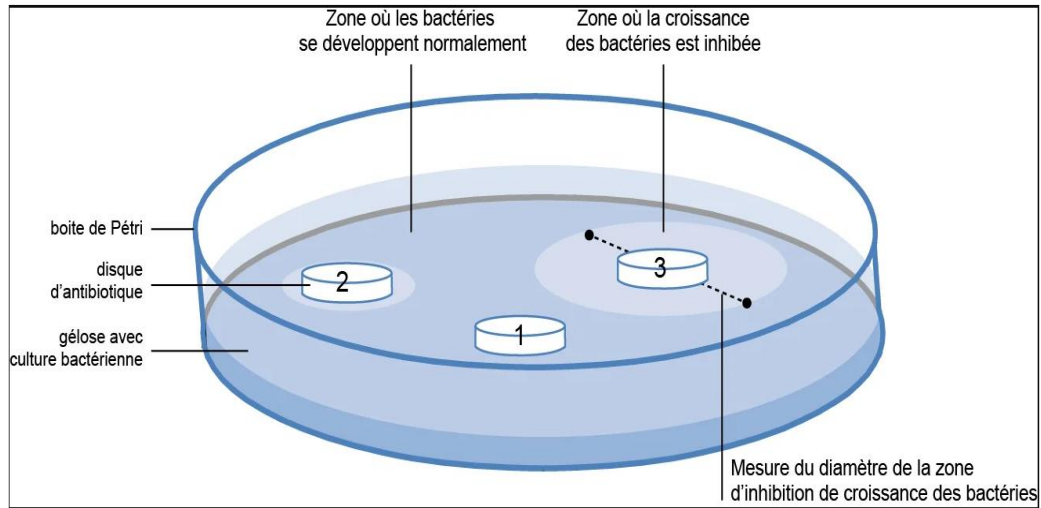
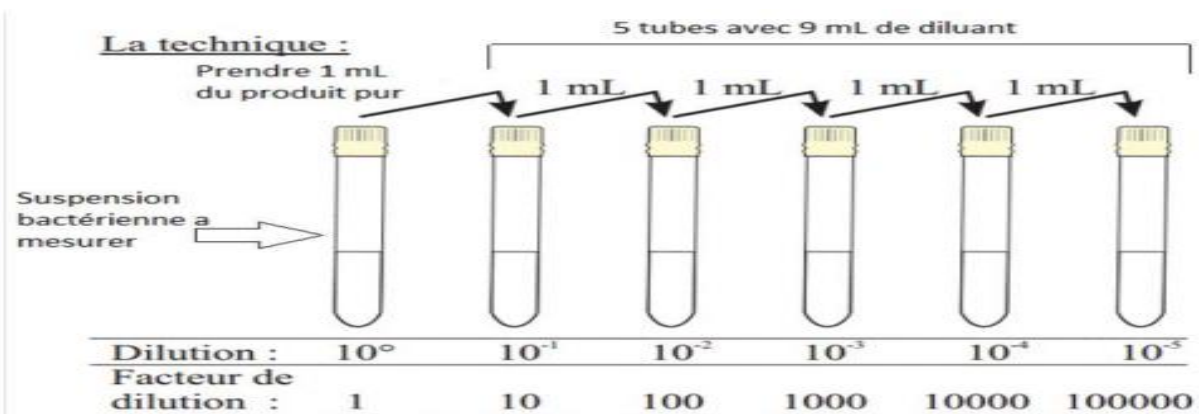


Figure 6 : Antibiogramme par méthode de diffusion (Balouiri, Sadiki, & Ibsouda, 2016).

I.5.3.8.3 La méthode de dilution :

réalisée en milieu liquide ou sur gélose, est une approche quantitative permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Elle consiste à préparer des dilutions successives de l'extrait testé dans un milieu de culture tel que le bouillon de Müller-Hinton, puis à y ajouter une inoculation standardisée de la souche bactérienne. Après incubation, la plus faible concentration empêchant toute croissance visible est considérée comme la CMI. La CMB est quant à elle déterminée en repiquant sur une gélose les milieux où aucune croissance n'a été observée (Divyapriya *et al.*, 2016). Bien que cette méthode fournisse des résultats précis, elle nécessite plus de matériel, de temps et peut être affectée par la solubilité des extraits.



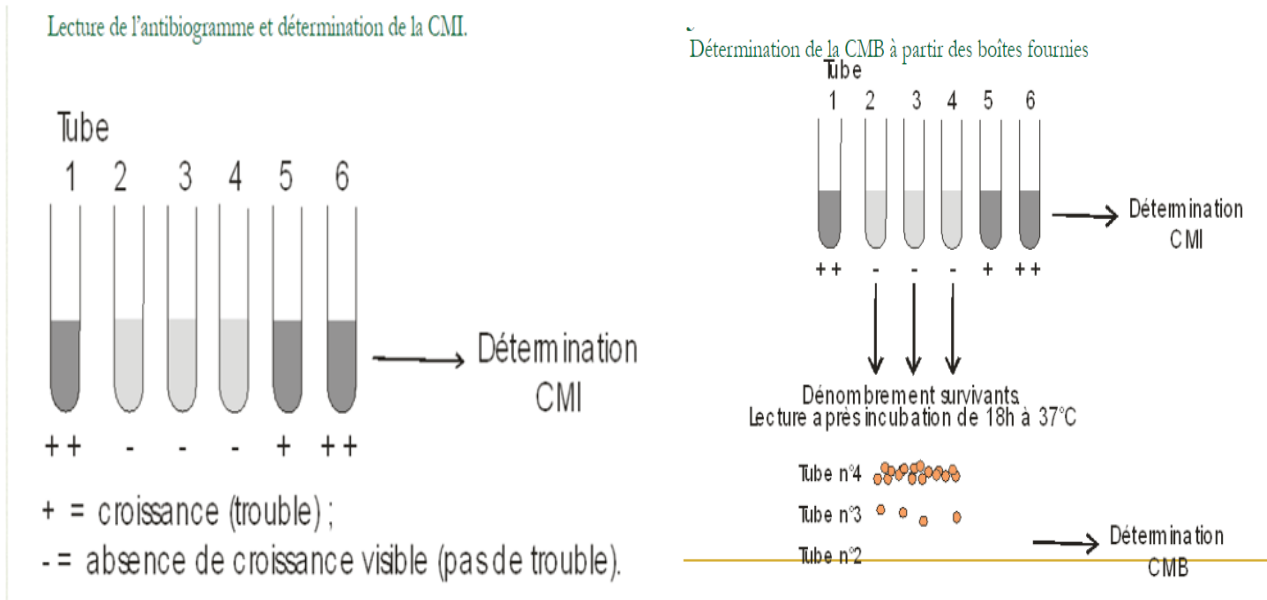


Figure 7 : La méthode de dilution et la détermination de la CMI et CMB

(Université Mohamed Boudiaf de M'sila, s.d.)

I.5.3.8.4 La méthode de microatmosphère :

décrite notamment par **Hernández-Morales et al. (2019)**, est utilisée pour évaluer l'effet des composés volatils. Dans ce cas, le composé est appliqué sur un disque fixé au couvercle d'une boîte de Pétri, de sorte qu'il ne soit pas en contact direct avec la gélose ensemencée. Après incubation, l'absence ou la réduction de la croissance bactérienne indique une action antimicrobienne des vapeurs ou gaz émis par le composé. Cette méthode est particulièrement adaptée aux huiles essentielles ou extraits aromatiques, mais elle est moins standardisée et ne permet pas d'obtenir des CMI ou CMB, ce qui limite son interprétation quantitative.

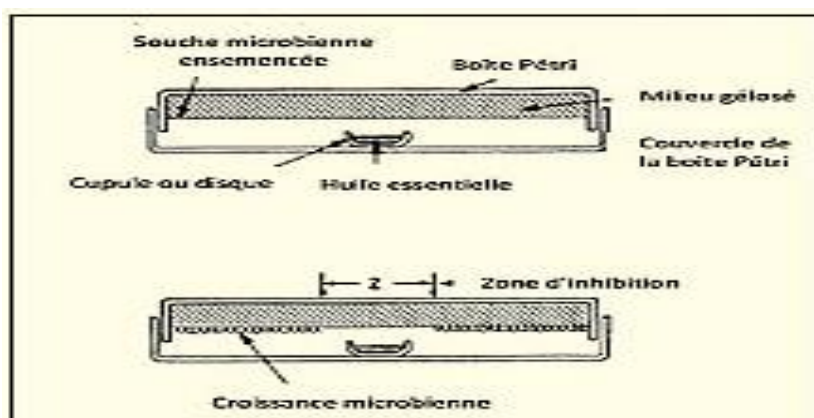


Figure 8 : Analyse de l'activité antimicrobienne par micro-atmosphère(**Zaika, 1988**).

I.5.3.8.5 la méthode de diffusion en puits :

cest une variante courante, consiste à percer de petits puits dans une gélose ensemencée, puis à y déposer une quantité mesurée d'extrait. Cette technique est souvent utilisée lorsque les extraits sont visqueux ou peu diffusibles, car elle permet d'en déposer une quantité plus importante que sur un disque. Toutefois, elle présente des limites en termes de reproductibilité et peut être affectée par une diffusion inégale ou une évaporation du solvant. (Balouiri et *al.*, 2016)

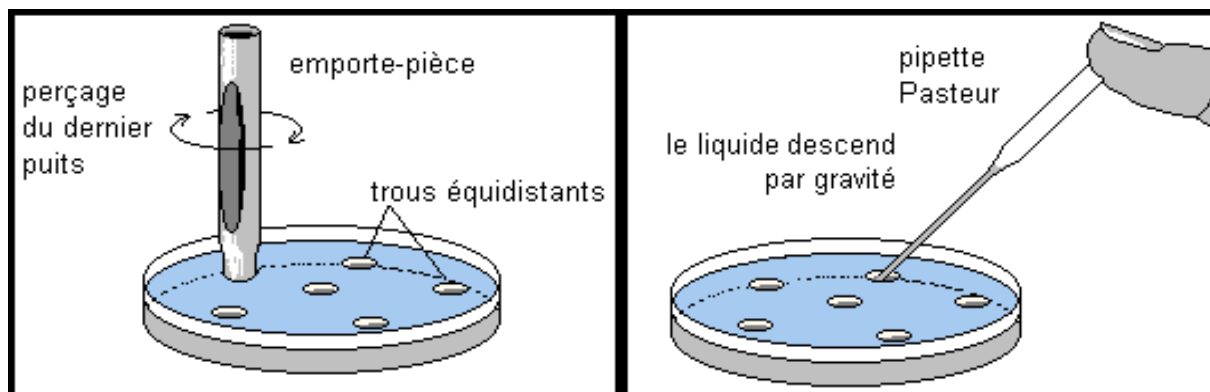


Figure 9 : la méthode de diffusion en puits sur gélose (vt.enseigne.ac-lyon.fr, 2008)

II Extrait méthanolique

II.1 généralité sur les méthodes d'extractions

L'extraction de principes actifs à haute valeur est cruciale pour isoler et identifier les molécules bioactives naturelles, permettant de séparer les éléments actifs des tissus végétaux des composants inactifs à l'aide de solvants spécifiques. (Mahmoudi et al., 2013) Parmi les méthodes traditionnelles, la macération, la décoction, l'infusion et l'extraction Soxhlet se distinguent par leur efficacité et leur rendement, variant selon les matières végétales et les composés recherchés, telles que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes.

- La décoction, utilisée pour extraire des composés bioactifs des plantes médicinales, consiste à faire bouillir la matière première dans de l'eau, libérant ainsi les substances actives. Ce processus nécessite un broyage préalable et un contrôle de la température entre 90°C et 100°C pendant 30 à 90 minutes, suivi d'une filtration. (Walid et al., 2022). Elle est particulièrement efficace pour les matières dures, accessible et permet une extraction complète de composés.
- L'infusion, en revanche, implique de verser de l'eau chaude sur des parties tendres de plantes et de laisser reposer pendant 5 à 20 minutes, ce qui permet d'extraire efficacement les composés phénoliques tout en préservant les substances sensibles à la chaleur. (Maria S et al., 2007). Cette méthode rapide conserve également les arômes volatils.
- Enfin, l'extraction Soxhlet, méthode classique, repose sur un cycle d'extraction continue par solvant chaud, assurant des rendements élevés grâce à la percolation répétée à travers la matière solide (MD Lugue ., 1998). Elle est adaptée à une variété de solvants et est idéale pour les matières végétales sèches et compactes.
- Le choix de la méthode dépend du type de composé ciblé, du rendement souhaité et des équipements disponibles.

II.1.1 L'extraction par macération

La macération est une méthode d'extraction traditionnelle largement utilisée pour isoler des composés bioactifs à partir de matrices végétales. Cette technique consiste à immerger la matière première, telle que des fruits, des écorces ou des feuilles, dans un solvant (le méthanol) à température ambiante ou modérée, généralement pendant plusieurs heures à plusieurs jours. Le processus commence par le broyage des particules afin d'augmenter la surface de contact. Ensuite, le solvant est ajouté. Une agitation continue est effectuée pour favoriser l'extraction des composés d'intérêt dans le solvant. Enfin, une filtration permet de séparer l'extrait du résidu solide, obtenant ainsi une solution riche en substances bioactives. La macération s'avère efficace pour extraire des polyphénols, des tanins et d'autres pigments. (Nada et al., 2016)

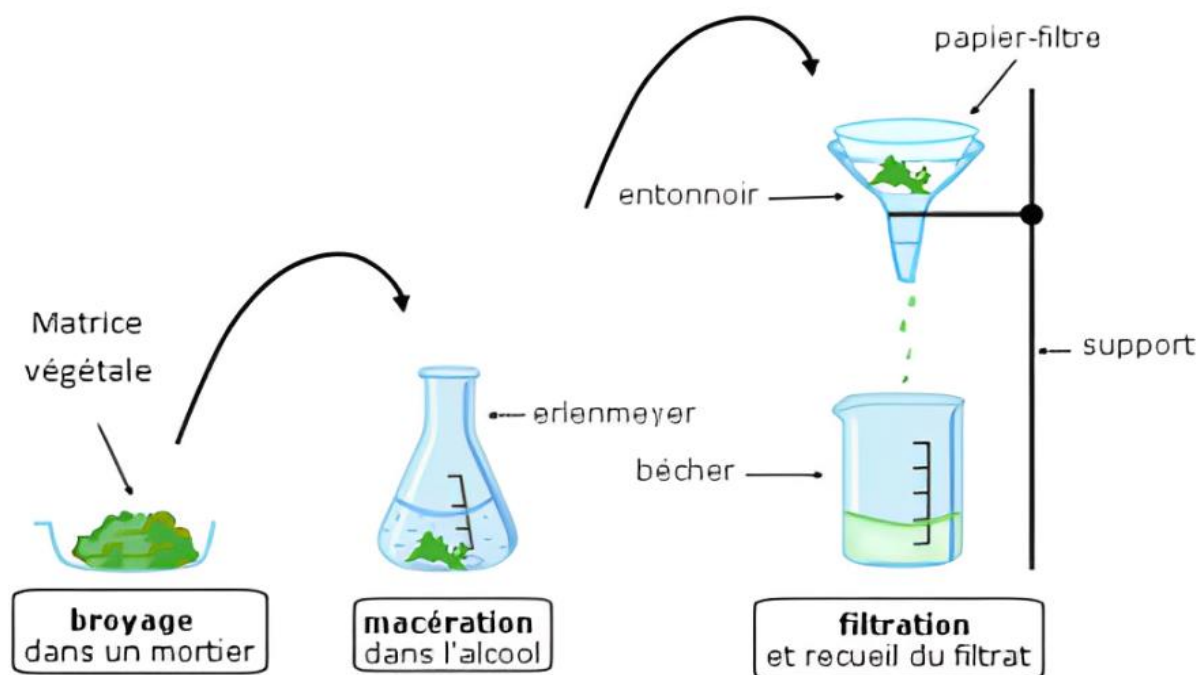


Figure 10 : processus d'extraction de l'extrait méthanolique par macération (Maxicours. (S.D.)

II.2 Extrait méthanolique de graines de chia :

II.2.1 Composition chimique :

II.2.1.1 Composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont une classe de composés organiques présents dans toutes les plantes sous forme de métabolites secondaires à des concentrations variables (Tsimogiannis Et Oreopoulou, 2019). Ils sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...). Toutes ces molécules partagent une caractéristique commune : la présence d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones dans leur structure, qui peut comporter un nombre variable de groupes hydroxyles (OH) (Hennebelle Et al., 2004).

Les polyphénols, qui constituent l'un des groupes de composés phytochimiques les plus répandus, jouent un rôle important tant sur le plan physiologique que morphologique chez les plantes. En tant que large catégorie de produits chimiques bioactifs, ils remplissent diverses fonctions biologiques. Par exemple, ils peuvent agir comme phytoalexines (Popa et al., 2008), attirer les pollinisateurs, contribuer à la pigmentation des plantes, et servir d'antioxydants ainsi que de protecteurs contre les rayons UV (Nacz et Shahidi, 2006). Les composés phénoliques sont essentiels pour la physiologie et le métabolisme cellulaire. Grâce à leurs propriétés bioactives, ils jouent un

rôle clé dans la croissance et la reproduction des plantes, tout en offrant une protection efficace contre les agents pathogènes et les prédateurs (Popa *et al.*, 2002 ; Giada, 2013).

II.2.1.2 Classification des composés phénoliques

Les polyphénols partagent une caractéristique phénolique commune, mais leur diversité structurale entraîne des variations dans leurs propriétés physicochimiques (Rajbhar *et al.*, 2015). Ils comprennent différentes classes de molécules, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins (Menat, 2006).

❖ Les acides phénoliques:

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires largement fabriqués par les plantes (Santi, 2010). Les phénoliques ont de multiples fonctions, tels que l'absorption des nutriments, la synthèse des protéines, l'activité enzymatique, la photosynthèse, les composants structurels et l'allélopathie. (Kumara et Nidhi, 2019). Il existe deux classes d'acides phénoliques : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (Rupasinghe *et al.* 2014).

❖ Les flavonoïdes:

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, avec plus de 10 000 structures différentes identifiées. Ce sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire. Leur structure chimique se compose d'un squelette phénylbenzopyrane, formé de deux cycles aromatiques (A et B) liés à un cycle tétrahydropyran (C). Ce cycle pyrane peut varier, ce qui permet de classer les flavonoïdes en six groupes : flavonols, flavonones, flavanols, flavones, anthocyanes et isoflavons (De Araújo *et al.*, 2021). Les flavonoïdes, les plus abondants parmi les composés phénoliques, jouent divers rôles en tant que métabolites secondaires, participant à la défense contre les UV, à la pigmentation, à la stimulation des nodules de fixation de l'azote et à la résistance aux maladies (Chira, 2008).

❖ Les tanins :

Les tanins sont des substances polyphénoliques naturelles, hydrosolubles, dont la masse moléculaire varie entre 500 et 3000 Da. Ils constituent une vaste famille de molécules, caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique associé à un ou plusieurs groupements phénoliques hydroxylés. En fonction de leur structure moléculaire, on distingue les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Ribereau-Gayon, 1968). La synthèse des tanins représente un des mécanismes de défense des plantes contre les agressions des phytopathogènes (bactéries, champignons, virus) et des prédateurs (insectes, mammifères herbivores) (Mueller-Harvey *et al.*, 2018).

II.2.2 Les propriétés chimique d'extrait méthanolique de graines de chia :

- ✓ **L'Apparence** : liquide brun foncé à noirâtre (après évaporation du méthanol, il reste un extrait sec ou semi-liquide).
- ✓ **La Solubilité** : solubles dans des solvants polaires (méthanol, éthanol, eau).
- ✓ **Le pH** : légèrement acide (pH entre 4 et 6 selon dilution).
- ✓ **La Stabilité** : relativement stable à température ambiante, mais sensible à la lumière et à la chaleur prolongée (Sargi,S.C.,et *al.*2013).

III Bactéries pathogènes et Bactéries lactiques

III.1 Les bactéries pathogènes :

III.1.1 Généralité :

Les bactéries pathogènes sont des microorganismes capables de provoquer diverses maladies, notamment des toxi-infections alimentaires (TIA) et des infections alimentaires (MIS). Les TIA surviennent lorsque ces bactéries produisent des toxines, comme dans le cas du botulisme, tandis que les MIS résultent de leur développement dans l'organisme après ingestion d'aliments contaminés, entraînant des affections telles que les gastro-entérites ou les fièvres typhoïdes. (Belabbes.S. 2009). Bien que les aliments contiennent souvent des germes en quantité bénigne, leur prolifération peut entraîner des problèmes de santé.

De plus, ces organismes pathogènes peuvent se développer facilement chez les êtres vivants, que ce soit par transmission maternelle ou par contact direct avec l'environnement. (Mari.B. 2011).

III.1.2 Staphylococcus aureus :

Staphylococcus aureus est une bactérie de la famille des Micrococcaceae, est découvert dans les années 1870 (Pascale, P.2013), *S. aureus* a été nommé par Alexander Ogston en 1880 en raison de son aspect en grappes (Hennekinne, Ja. 2009). En 1884, Anton Julius Friedrich Rosenbach a décrit l'espèce en raison de sa pigmentation dorée (Pascale, P.2013). Est un membre de notre écosystème cutané-muqueux, appartenant à un groupe d'agents pathogènes à Gram positif opportunistes (Aliou, M. 2015). Sa capacité d'adaptation, son ubiquité et ses faibles exigences nutritionnelles en font un exemple frappant de dissémination, en particulier lors de ruptures de la barrière cutanée ou d'immaturation du système immunitaire (Rebiahi, SA. 2012).

Morphologiquement, *S. aureus* se présente sous forme de coques sphériques d'environ 1 µm de diamètre, se trouvant couramment dans les fosses nasales et sur la peau des individus sains. Lorsqu'elle pénètre dans l'organisme, elle peut provoquer des infections cutanées bénignes, mais aussi des infections plus graves, comme des pneumonies ou des bactériémies (Mungkalasiri, 2009).

Ces bactéries, souvent appelées staphylocoques dorés, sont responsables d'infections chroniques sévères, pouvant affecter presque tous les organes ou tissus, et se propagent facilement, notamment chez les personnes immunodéprimées (Mungkalasiri, 2009).

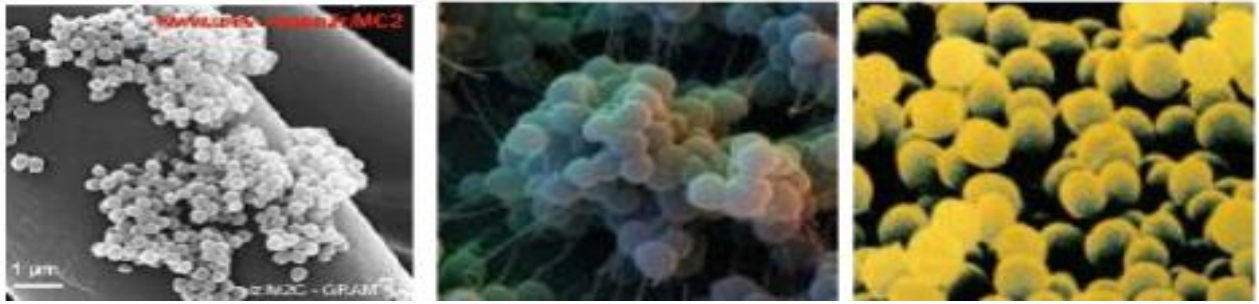


Figure 11 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (Antoine Henne ,2009)

III.1.2.1 Les caractères morphologiques et culturaux :

Staphylococcus aureus se présente sous forme de cocci à Gram positif, mesurant entre 0,8 et 1 μm de diamètre. Ces bactéries peuvent être isolées, en diplocoques, en tétrades ou regroupées en amas, donnant un aspect caractéristique de « grappe de raisin ». Elle est immobile et non sporulée. *Staphylococcus aureus* est aérobic et anaérobic facultatif, se développant facilement sur des milieux ordinaires. Sa température de croissance optimale est de 37 °C, bien qu'elle puisse croître entre 10 °C et 45 °C. Le pH optimal pour sa croissance est de 7,5, mais cette bactérie tolère de grandes variations de pH et de température.

III.1.2.2 Habitat :

L'espèce *Staphylococcus aureus* est un germe ubiquitaire. (Jean-Louis, et al.,2002). avec un réservoir naturel chez l'homme et les animaux à sang chaud. (Touati, R. 2016). On le trouve normalement dans l'oropharynx, les fosses nasales, les selles, ainsi qu'au niveau du périnée et des aisselles. En tant que commensal de la peau et des muqueuses. (Eyque, Ma., et al . 1998). environ un tiers des individus sains sont porteurs de *S. aureus* dans les fosses nasales. Cette bactérie possède une grande capacité d'adaptation et de résistance au stress, ce qui lui permet de se répandre largement dans la nature, notamment dans l'eau, l'air et la poussière. *S. aureus* est l'une des espèces de staphylocoques pathogènes responsables d'infections nosocomiales. (Jean-Louis, et al.,2002).

III.1.2.3 Le pouvoir pathogène:

La diversité des tableaux cliniques provoqués par *Staphylococcus aureus* est due à la variété de ses facteurs de virulence, qui se divisent en deux catégories : les toxi-infections et les infections suppuratives.

III.1.2.3.1 Toxi-infection :

- **Syndrome du choc toxique staphylococcique (SCTS)** : Décrit pour la première fois en 1978 par Todd, ce syndrome se manifeste par une fièvre, une érythrodermie, une hypotension et au moins trois atteintes viscérales. Il est causé par la toxine TSST.
- **Syndrome d'exfoliation généralisé** : Se manifeste par une érythrodermie douloureuse, souvent autour des yeux et de la bouche, due à la production d'exfoliatines A et B.
- **Toxi-infections alimentaires** : Les toxines ingérées via des aliments contaminés provoquent des symptômes dans les 2 à 6 heures, avec l'entérotoxine A étant la plus courante.

III.1.2.3.2 Infections suppuratives :

Ces infections impliquent la multiplication bactérienne et la sécrétion de facteurs de virulence :

- **Infections cutanées et des tissus mous** : Incluent folliculite, furoncle, anthrax, érysipèle, etc. Des toxines comme les exfoliatines et la leucocidine de Panton-Valentine (LPV) peuvent être impliquées, particulièrement dans les abcès récidivants.
- **Pneumopathies** : La LPV doit être recherchée dans les pneumonies nécrosantes.
- **Bactériémies et endocardites** : Toute bactériémie à *S. aureus* nécessite la recherche d'un abcès profond. *S. aureus* est un agent fréquent d'endocardite infectieuse, avec un risque élevé d'embolies périphériques.
- **Infections ostéo-articulaires** : *S. aureus* est l'un des principaux agents responsables, pouvant survenir par voie hématogène ou par extension d'une infection. La spondylodiscite est une complication notable des endocardites associées à cette bactérie.

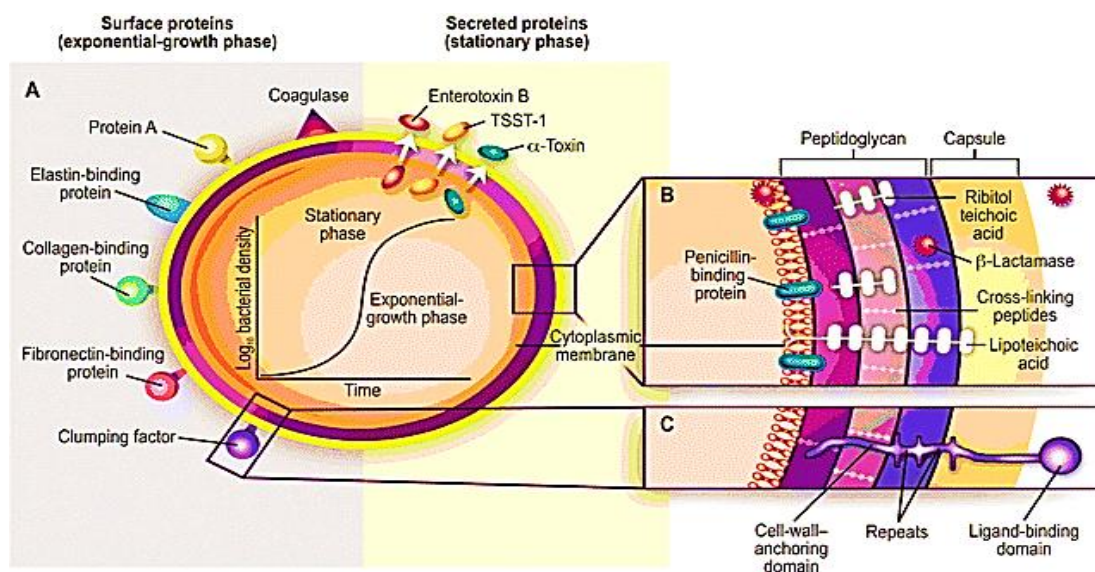


Figure 12 : Facteurs de virulence de *S. aureus*. (Mouatasseem .B.2018).

III.1.3 Escherichia coli:

En 1885, Theodor Escherich a identifié un bacille qu'il a nommé **Bacterium coli**. Cette découverte a été significative car ce microbe se trouvait couramment dans les selles de nourrissons. Par la suite, ce bacille a été renommé *Escherichia coli*. (Guiraud.J.P.1998)

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, mais seule *E. coli* (colibacille) est considérée comme potentiellement pathogène pour l'homme. (Avril J.L. et al.,2000). Cette bactérie est l'espèce prédominante de la flore intestinale aérobie, où elle joue un rôle crucial en formant une barrière intestinale qui inhibe la croissance d'autres bactéries nuisibles. (Aril J.L., et al.1987) . La colonisation du tube digestif par *E. coli* commence dès les premières heures après la naissance. Grâce à son rythme de division rapide (environ toutes les 20 minutes à 37 °C dans des conditions favorables) *E. coli* maintient sa position dominante tout au long de la vie d'un individu. (Aril J.L.,et al.1987)

En outre, la présence d'*E. coli* dans le sol, l'eau ou les aliments est un indicateur de contamination fécale, suggérant la présence potentielle d'autres bactéries ou virus d'origine digestive. Par conséquent, la détection d'*E. coli* dans ces milieux rend souvent l'eau ou les aliments impropres à la consommation. (Aril J.L., et al.1987)

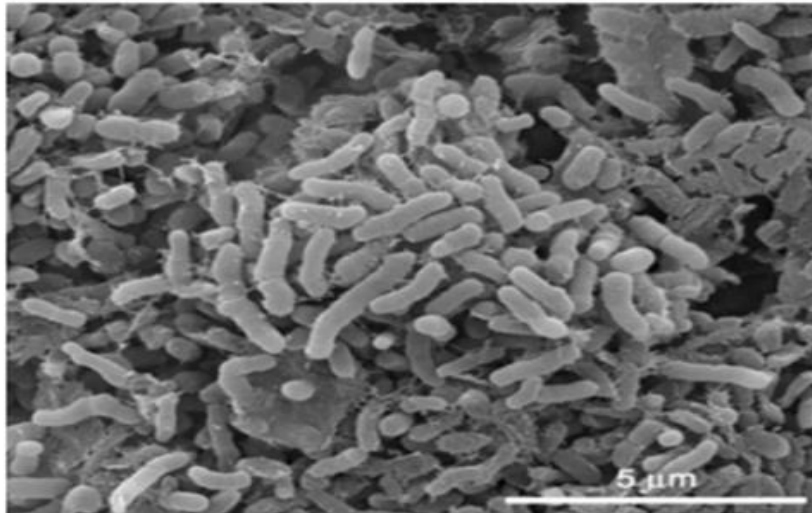


Figure 13 : Photographie d'Escherichia coli, visualisée par microscope électronique à balayage, extraite d'Annous et al. (2009) avec autorisation de reproduction de John Wiley and Sons, Copyright (2019).

III.1.3.1 Caractères morphologiques et cultureux

E. coli, ou colibacille, est une bactérie asporulée mesurant entre 2 et 4 µm de long et 0,4 à 0,6 µm de large. Sa forme est fine et allongée, avec des extrémités arrondies, et elle est mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37 °C sur des milieux gélosés, formant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, mesurant 2 à 3 mm de diamètre et non pigmentées. Sur des milieux contenant du lactose, les

colonies sont généralement positives au lactose. Sur gélose au sang, elles peuvent également être hémolytiques. (Avril J.L. et al., 2000)

III.1.3.2 Habitat:

E. coli, en tant que bactérie commensale du tube digestif, est l'espèce la plus significative parmi les anaérobies facultatifs de l'intestin, représentant environ 10^8 bactéries par gramme de fèces. Bien qu'elle ne constitue pas plus de 1 % de la flore totale du côlon, qui comprend entre 10^{11} et 10^{12} bactéries par gramme, les 99 % restants sont principalement des anaérobies strictes. (James B., et al. 2004)

III.1.3.3 Pouvoir pathogène chez l'homme :

E. coli est responsable de diverses infections extra-intestinales, notamment :

- Infections urinaires
- Infections abdominales
- Infections méningées néonatales (souche *E. coli* K1)
- Septicémies accompagnées de choc septique dues à l'endotoxine O

Concernant les infections intestinales, les diarrhées causées par *E. coli* sont reconnues depuis 1940. Elles résultent de souches spécifiques de sérotypes qui peuvent provoquer des cas sporadiques ou de petites épidémies. (Avril J.L. et al., 2000).

Il existe quatre groupes principaux de souches d'*E. coli* responsables de diarrhées :

- *E. coli* entéro-pathogènes EPEC : responsables de gastro-entérites infantiles
- *E. coli* entéro-invasifs EIEC : syndromes dysentériques (diarrhées mucopurulentes et sanglantes)
- *E. coli* entéro-toxinogènes ETEC : responsables de diarrhées liquidiennes cholériques (diarrhée du voyageur ou turista)
- *E. coli* entéro-hémorragiques EHEC : syndrome entéro-hémorragique responsable chez les enfants (1 mois à 3 ans) du syndrome hémolytique et urémique.

III.1.4 *Candida albicans* :

Candida albicans est un microorganisme de la famille des levures, fréquemment associé à un champignon microscopique, et se retrouve en quantité limitée dans l'organisme humain (Youcef-Ali, 2014). Cette espèce présente un thalle unicellulaire constitué de blastoconidies. Lorsqu'elle est cultivée sur milieu Sabouraud, elle forme des colonies blanches, crémeuses et lisses, certaines étant légèrement rugueuses. Après quelques jours, des filaments de 4 à 6 micromètres apparaissent dans la gélose (Nicolas, 2016).

En tant que levure commensale, *Candida albicans* se trouve dans la voie orale, vaginale, gastro-intestinale, ainsi que sur la peau et les muqueuses. Elle est reconnue comme le fongique opportuniste le plus courant chez l'humain.

Sur le plan taxonomique, *Candida albicans* appartient au règne des champignons, à la division des Eumycota et au phylum des Deuteromycotina. Elle se classe dans la classe des Blastomycètes (levures asexuées), au sein de l'ordre des Moniliales et de la famille des Moniliaceae, dans le genre *Candida*.

Les diverses espèces de *Candida* se différencient par leurs caractéristiques nutritionnelles et biochimiques. *Candida albicans*, la levure pathogène la plus répandue (Benmansour, 2012), se distingue par sa capacité à fermenter le glucose et le maltose, mais pas le lactose, le raffinose ou le saccharose. Elle ne réduit pas les sels de tétrazolium, ce qui fait que ses colonies restent blanches, et elle n'est pas inhibée par l'actidione.

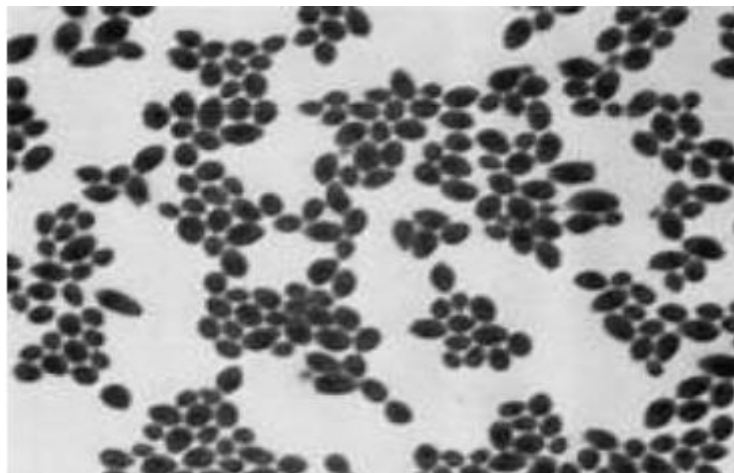


Figure 14 : *Candida albicans* (Sudbery et al., 2004)

III.1.4.1 Caractères morphologiques et cultureux:

- **Reproduction asexuée** : La multiplication de *Candida albicans* se fait principalement par des blastospores ou blastoconidies, qui sont de petites cellules ovoïdes mesurant entre 3,5 et 6

micromètres de large et 6 à 10 micromètres de long. Ces cellules peuvent bourgeonner pour former des cellules filles identiques à la cellule mère (**Benmansour, 2012**).

- **Reproduction sexuée** : Bien que *Candida albicans* ait été classé comme un champignon diploïde asexué, la découverte du Mating Type Locus (MTL) a permis d'établir un cycle parasexuel, impliquant une reproduction et une réduction génomique sans méiose, comme modèle possible de reproduction sexuée.

En ce qui concerne les conditions de croissance, la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7 et à des températures comprises entre 20 °C et 30 °C, tandis que les espèces pathogènes peuvent se développer à 37 °C (**Benmansour, 2012**). Toutes les espèces du genre *Candida* sont aérobies et vivent principalement sur les muqueuses. Elles peuvent également survivre dans l'environnement extérieur, par exemple, jusqu'à 7 à 8 semaines dans le sable des plages, même en contact avec de l'eau de mer. Cependant, elles sont éliminées par des méthodes telles que le lavage des mains, la stérilisation du matériel médical et des cathéters (**Euzeby, 1994**).

III.1.4.2 Habitat

Candida albicans est une levure de forme variable, allant de ronde à allongée. Elle est commensale dans le tube digestif des humains, des mammifères et des oiseaux. En règle générale, elle n'est pas présente dans l'environnement, sauf en cas de contamination par l'homme ou l'animal. Cette levure est considérée comme un agent opportuniste, devenant pathogène sous l'influence de facteurs favorisant, qu'ils soient généraux ou locaux (**Segal, 2005**).

III.1.4.3 Pouvoir pathogène :

Candida albicans est à l'origine saprophyte, mais devient pathogène lorsqu'elle est présente en grande quantité. Elle peut provoquer un érythème douloureux, parfois recouvert de dépôts blanchâtres et crémeux. Sur la peau, *Candida* est responsable de plaques érythémateuses prurigineuses et émiettées .

III.1.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Les bactéries du genre *Pseudomonas*, appartenant à la famille des Pseudomonadaceae, sont des bacilles à Gram négatif, mobiles grâce à un flagelle polaire, strictement aérobiques et largement répandues dans l'environnement. Elles se retrouvent dans le sol, l'eau, les végétaux, mais aussi dans des milieux hospitaliers ou les fluides corporels de l'hôte infecté. Leur ubiquité et leur capacité à s'adapter à divers environnements

en font des organismes d'un intérêt majeur en microbiologie médicale, alimentaire, aquatique, environnementale et agronomique (**Meghdas et al., 2003**).

Parmi ces espèces, *Pseudomonas aeruginosa* est la plus connue en pathologie humaine. Elle a été isolée pour la première fois en 1882 par Gessard, qui avait observé un pigment bleu-vert caractéristique dans les sécrétions d'un patient. Le nom *Pseudomonas* vient du grec "pseudo" (faux) et "monas" (unité), tandis que *aeruginosa* signifie « vert de gris » en latin, désignant la couleur de la colonie bactérienne liée à la production de pigments phénaziniques (**Chaker, 2012**).

D'un point de vue biochimique, *P. aeruginosa* est une bactérie non fermentante, dotée d'un métabolisme strictement oxydatif, capable de dégrader des composés complexes comme les protéines, l'amidon et la cellulose (**Boudouda, 2015**). Elle produit diverses enzymes extracellulaires, notamment une nitrate réductase, une arginine dihydrolase, ainsi qu'une lécithinase détectable uniquement en milieu liquide. Elle ne dégrade pas le lactose, et dégage une odeur typique de raisin ou de seringa, utile à son identification en culture (**Barir & Ghilani, 2011**).

Sur le plan antigénique, *P. aeruginosa* possède plusieurs facteurs de virulence structuraux : la membrane externe contient un lipopolysaccharide (LPS) dont l'antigène O est thermostable et joue un rôle central dans la réponse immunitaire de l'hôte. La spécificité de cet antigène O repose sur la nature des chaînes latérales polysaccharidiques, variables en longueur et en composition. Il existe aussi des antigènes flagellaires (H) et pili, impliqués dans la motilité, la bioadhésion et la formation de biofilms (**Pounch, 2009**).

III.1.5.1 Caractères morphologiques et culturels :

Pseudomonas aeruginosa est un bacille droit, fin, en forme de bâtonnet, mesurant environ 1 à 5 µm de long et 0,5 à 1 µm de large (**Chaker, 2012**). C'est une bactérie à Gram négatif, mobile grâce à la présence d'un flagelle polaire unique, et dépourvue de spores et de capsule (**Hafiane & Ravaoarino, 2008**).

Elle présente une grande simplicité nutritionnelle, ce qui lui permet de croître aisément sur des milieux synthétiques pauvres. La croissance est rapide : en 24 heures à 37 °C, elle forme des colonies visibles. Toutefois, elle peut également croître dans une plage de température plus large, allant de 5 à 42 °C, avec une température optimale autour de 30 °C. Son développement est favorisé dans un pH compris entre 6,5 et 7,5, avec un optimum à pH 7,2 (**Barir & Ghilani, 2011**).

Sur le plan respiratoire, il s'agit d'une bactérie strictement aérobie, bien qu'elle soit également capable de croître en anaérobiose grâce à l'utilisation des nitrates comme accepteurs d'électrons, via son activité nitrate réductase (**Flandrois, 1997**). En culture, elle dégage une odeur caractéristique florale, souvent décrite comme proche de celle du raisin ou du seringa, ce qui constitue un critère empirique utile en diagnostic (**Delarras, 2007**).

Pour l'isolement sélectif, notamment à partir de prélèvements biologiques (urines, pus, selles, liquide céphalo-rachidien...), on utilise fréquemment un milieu au cétrimide. Ce milieu sélectif, à base d'ammonium quaternaire, inhibe la croissance d'autres bactéries tout en permettant à *P. aeruginosa* de se développer, grâce à sa résistance naturelle à ce désinfectant (Denis et al., 2007).



Figure 15 : Image tridimensionnelle générée par ordinateur (3D) *P. aeruginosa*(Science Source, 2016).

III.1.5.2 Habitat

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire, que l'on retrouve dans une grande diversité d'environnements. Elle peut parfois être présente en tant que commensale transitoire du tube digestif humain, mais elle est surtout connue comme saprophyte des milieux humides. Son réservoir naturel comprend le sol, les eaux douces telles que les lacs, rivières, mais aussi les eaux polluées, les piscines, les jacuzzis et autres milieux aqueux artificiels.

Elle est également répandue dans l'environnement domestique et hospitalier, où elle peut se fixer aux poussières, mais aussi contaminer divers produits alimentaires crus, en particulier les légumes comme les tomates, carottes et céleris(Boudouda, 2015)..

En milieu hospitalier, *P. aeruginosa* représente une source importante d'infections nosocomiales, en raison de sa capacité à coloniser des milieux théoriquement stériles. Elle peut en effet être détectée dans certaines solutions aseptiques et se retrouver sur des dispositifs médicaux tels que les cathéters, sondes urinaires, ou encore dans les systèmes de plomberie (canalisations, lavabos, douches), où elle forme des biofilms résistants (Essoh, 2013).

III.1.5.3 Pouvoir pathogène :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie opportuniste capable de provoquer des infections graves, en particulier chez les patients immunodéprimés ou hospitalisés. Elle est fréquemment impliquée dans des

infections nosocomiales telles que les pneumonies, infections urinaires, septicémies, otites externes et infections de plaies ou de brûlures (Lyczak et al., 2000).

Son pouvoir pathogène repose sur la production de nombreux facteurs de virulence : toxines (exotoxine A), enzymes destructrices (protéases, élastases), et pigments comme la pyocyanine qui génèrent du stress oxydatif. Elle peut aussi former des biofilms protecteurs sur les surfaces et dispositifs médicaux (Gellatly et Hancock, 2013).

La capacité de *P. aeruginosa* à résister à plusieurs classes d'antibiotiques, via des mécanismes de résistance naturels (pompes d'efflux, bêta-lactamases, faible perméabilité), rend son traitement particulièrement difficile (Breidenstein et al., 2011).

III.2 Les bactéries lactiques :

III.2.1 Généralité :

Les bactéries lactiques constituent un groupe de micro-organismes bénéfiques présents dans la nature ainsi que dans le système digestif humain. Utilisées depuis des millénaires dans l'alimentation, elles jouent aujourd'hui un rôle clé dans l'industrie agroalimentaire, notamment en tant qu'auxiliaires de fabrication. Leur importance est particulièrement reconnue dans le secteur laitier (Dortu & Thonart, 2009 ; Moraes et al., 2010).

Ces micro-organismes très anciens ont été découverts dans des sédiments vieux de 2,75 milliards d'années, ce qui précède l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère et pourrait expliquer leur caractère anaérobie (Quiberoni et al., 2001). Elles sont apparues avant les cyanobactéries photosynthétiques (Quiberoni et al., 2001 ; Drider et Prevost, 2009).

III.2.2 Définition

Le groupe des bactéries lactiques a été défini par ORLA-JENSEN en 1919 et regroupe plusieurs genres capables de fermenter les glucides pour produire de l'acide lactique. Ces bactéries sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (De Roissart, 1986). Elles forment un ensemble hétérogène de coques et de bacilles, caractérisé par leur capacité à produire de l'acide lactique via la fermentation des sucres (BADIS et al., 2005).

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, généralement immobiles, non sporulées et microaérophiles. Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase (**Köning et Förhlich, 2009**).

Ce groupe comprend 13 genres, notamment : *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* (**Dortu, 2009**). Ces bactéries fermentent divers sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) en acide lactique (**Kandler et Weiss, 1986**).

Bien que les bactéries lactiques utilisées en alimentation soient généralement considérées comme non pathogènes, certaines espèces du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* peuvent agir comme pathogènes opportunistes (**Aguirre et Collins, 1993**).

Elles ont des besoins nutritionnels variés, incluant des acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides (**Holzapfel et al., 2001 ; Gevers, 2002**).

III.2.3 Habitat :

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, se retrouvant dans diverses niches écologiques telles que le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, ainsi que sur les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif. Cette ubiquité explique leur large gamme de températures de croissance (**Mayo et al., 2010 ; Klein et al., 1998**).

III.2.4 Caractéristiques des genres :

III.2.4.1 *Lactobacillus* :

C'est l'un des plus importants genres des bactéries lactiques. Il appartient à la famille des Lactobacillaceae contenant aussi les genres *Paralactobacillus* et *Pediococcus*. Il comprend 96 espèces et 16 sub-espèces qui sont adaptées à des endroits spécifiques et ne sont pas trouvées généralement en dehors de leurs habitats (**De Vos et al, 2009**).

Selon la classification révisée par KANDLER et WEISS (1986), les lactobacilles sont regroupés en trois catégories selon leur type de fermentation :

- **Groupe I** : Autrefois désigné comme *Thermobacterium*, ce groupe inclut des lactobacilles homofermentaires stricts et thermophiles, incapables de fermenter les pentoses et le gluconate. Ils se développent à 45°C mais pas à 15°C (**Bottazi, 1988**).

- **Groupe II** : Anciennement appelé Streptobacterium, il regroupe les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs et mésophiles, capables de se développer à 15°C (**Bottazzi, 1988**).
- **Groupe III** : Connu sous le nom de Betabacterium, ce groupe comprend des espèces ayant un métabolisme strictement hétérofermentaire (**Bottazzi, 1988**).

En raison de leur diversité, les lactobacilles se trouvent dans de nombreux environnements différents (**Novel, 1993**), tels que la cavité buccale, le tractus digestif, les organes génitaux chez l'homme, ainsi que dans divers produits végétaux, laits, produits laitiers (comme différents types de fromages), viandes et poissons marinés ou fumés.

III.2.4.2 Bifidobacterium :

les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont des bacilles Gram positifs, non mobiles, non sporulés et anaérobies stricts, appartenant au phylum des Actinobacteria. Elles présentent une morphologie pléomorphe, souvent en forme de V ou de Y, et parfois coccoïde, une caractéristique particulièrement notable chez certaines espèces telles que *Bifidobacterium adolescentis* (**Lugli et al., 2017**).

Le métabolisme des bifidobactéries est fermentatif, principalement hétérolactique, produisant de l'acide lactique et de l'acide acétique sans production de gaz. Elles possèdent une enzyme spécifique, la 6-phosphocétolase, qui leur permet de fermenter les glucides via la voie des pentoses phosphates (**Pokusaeva et al., 2011**).

La température optimale de croissance des bifidobactéries se situe entre 37 °C et 41 °C, avec une plage de croissance possible entre 25 °C et 45 °C. Leur pH optimal de croissance est compris entre 6,5 et 7,0, tandis qu'une inhibition est observée en dessous de pH 4,5 et au-dessus de pH 8,5 (**Gomes & Malcata, 1999**).

Bifidobacterium est un genre largement étudié pour ses propriétés probiotiques. Certaines souches, telles que *B. longum* et *B. breve*, sont utilisées dans des produits laitiers fermentés et des compléments alimentaires pour leurs effets bénéfiques sur la santé intestinale, notamment la modulation du microbiote, le renforcement de la barrière intestinale et la stimulation du système immunitaire (**Hughes & Hill, 2018 ; Vinderola et al., 2017**).

Historiquement, *Bifidobacterium* a été isolé pour la première fois en 1899 par Henri Tissier à partir des selles de nourrissons allaités (**Pokusaeva et al., 2011**). Depuis, de nombreuses espèces ont été identifiées, et leur rôle dans le maintien de la santé humaine continue d'être un sujet de recherche actif.

Partie expérimentale

IV Matériels et méthodes

IV.1 objectif du travail :

On a procédé à la préparation d'un extrait méthanolique à partir des graines de *Salvia hispanica*, en calculant le rendement d'extraction. Une caractérisation phytochimique a été menée pour identifier et doser les métabolites secondaires. L'activité anti-inflammatoire a été comparée à celle du diclofénac sodique. L'effet antibactérien a été évalué sur diverses souches pathogènes et probiotiques.

IV.2 Matériel végétal :

Dans le cadre de cette étude, les graines de chia ont été acquises en février 2025 dans une épicerie située dans la Wilaya de Mostaganem.

Elles ont été soigneusement nettoyées et stockées dans des bocaux en plastique, à température ambiante, dans un endroit sec, à l'abri de l'humidité et de la lumière, jusqu'à leur utilisation.

IV.3 Méthodes :

Nous avons réalisé une étude sur une technique d'extraction permettant d'obtenir des molécules naturelles à partir des graines de chia. Les composés phénoliques ont été extraits par le processus de macération.

IV.3.1 Extraction par macération dans un solvant méthanol aqueux (extraction solide/liquide) :

La macération, ou extraction solide-liquide, consiste à laisser la matière végétale (broyat) infuser dans un solvant méthanol aqueux afin d'extraire les principes actifs, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes. Cette méthode d'extraction a été réalisée selon le protocole établi par **Hamia et al. (2014)**, avec quelques adaptations.

Un échantillon de 300 g de poudre de chaque graine a été placé dans un ballon contenant 3 L de méthanol. Le mélange a été maintenu sous agitation magnétique pendant 48 heures à température ambiante. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide à 40 °C.

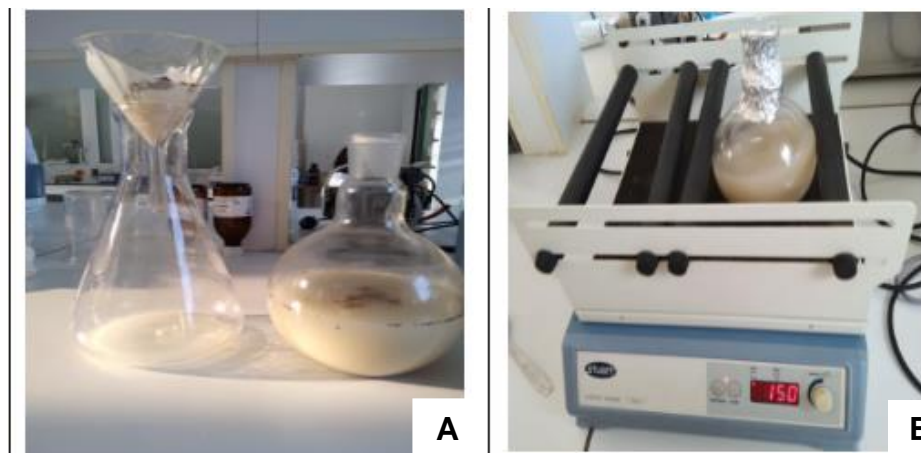


Figure 16 : A: Filtration ; B: Agitation magnétique.

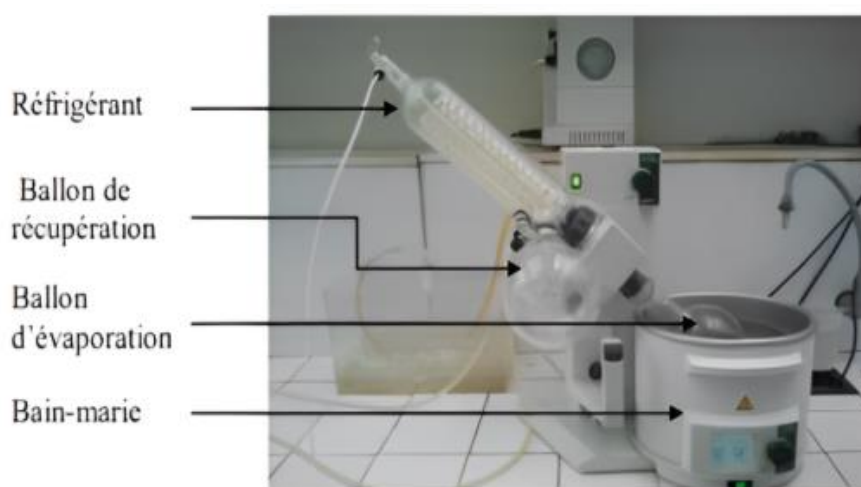


Figure 17 : Evaporation rotatif (Rihane et Benlahreche ,2013)

IV.3.1.1 Calcul du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction en extrait méthanolique a été calculé en déterminant la quantité de matière sèche extraite par rapport à la masse initiale de matière végétale sèche, selon la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

où :

- **P₁** = masse du ballon contenant l'extrait sec (après évaporation),
- **P₂** = masse du ballon vide (avant évaporation),
- **P₃** = masse de la matière végétale sèche utilisée.

Pour estimer précisément la teneur en matière sèche dans l'extrait méthanolique liquide, un volume de 10 mL d'extrait brut a été prélevé puis évaporé complètement.

IV.3.2 Analyse qualitative

IV.3.2.1 Analyse phytochimique

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux a été effectuée à l'aide de réactions classiques utilisant des réactifs de caractérisation standards, conformément aux méthodes décrites par **Bruneton (2009)**. Ces techniques, bien qu'usuelles, doivent répondre à certains critères fondamentaux : elles doivent être simples à mettre en œuvre, rapides, reproductibles et suffisamment sensibles pour détecter la présence de divers groupes chimiques tels que les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les saponines, les terpènes ou encore les composés réducteurs. Néanmoins, ces tests ne fournissent qu'une indication préliminaire sur la composition chimique des extraits analysés. Une confirmation par des méthodes analytiques plus spécifiques et plus précises, comme la chromatographie en couche mince ou d'autres techniques instrumentales, reste indispensable pour valider la présence des substances actives (**Wagner & Blatt, 1996 ; Bruneton, 2009**).

IV.3.2.1.1 Méthodes de dépistage phytochimique des principaux groupes chimiques :

L'analyse phytochimique a été réalisée sur l'extrait méthanolique (EM) à l'aide de tests colorimétriques simples permettant la mise en évidence de différents groupes de métabolites secondaires.

❖ Flavonoïdes :

La détection des flavonoïdes repose sur la réaction de Shinoda. Dans un tube à essai, 1 mL d'extrait méthanolique est mélangé avec 1 mL d'acide chlorhydrique concentré (HCl), puis trois copeaux de magnésium métallique sont ajoutés. L'apparition rapide d'une coloration rose, rouge orangé ou jaune traduit la présence de flavonoïdes (**Harborne, 1998**). Ces composés sont souvent associés à des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

❖ Tanins

À 2 mL d' l'extrait méthanolique, on ajoute 1 à 2 gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3 à 0,1%). Une coloration vert foncé indique la présence de tanins condensés, tandis qu'une coloration bleu-vert suggère la présence de tanins hydrolysables (**Harborne, 1998**). Ces composés possèdent des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes bien documentées (**Bruneton, 1999**).

❖ Saponines

Pour détecter les saponines, 5 mL d'EM sont mélangés à 10 mL d'eau distillée dans un tube à essai. Ce dernier est ensuite agité vigoureusement pendant une minute. La formation d'une mousse stable (hauteur > 1 cm) persistante indique une présence abondante en saponines, connues pour leurs activités tensioactives et hémolytique (**Bose & Sarma, 1975 ; Bruneton, 1999**).

❖ Alcaloïdes :

Deux tubes sont préparés, chacun contenant 1 mL d'EM et 2 mL d'HCl à 1%. Le contenu est ensuite divisé en deux parties :

- **Tube 1** : on ajoute 1 mL du réactif de Mayer préparé avec 5 g de KI + 1,358 g d'I₂ dans 100 mL d'eau distillée (solution iodée alcaline).
- **Tube 2** : on ajoute 1 mL du réactif de Wagner préparé avec 2 g de KI + 1,27 g d'I₂ dans 100 mL d'eau distillée (solution iodée acide).

L'apparition d'un précipité blanc crème à jaunâtre. (réactif de Mayer) ou brun rougeâtre (réactif de Wagner) est caractéristique de la présence d'alcaloïdes (**Elhomri, 2022**). Ces substances sont souvent responsables d'activités pharmacologiques marquées, notamment analgésiques ou neuroactives.

❖ Terpénoïdes et stéroïdes :

À 1 mL d' l'extrait méthanoïque, on ajoute 0,5 mL de chloroforme, puis 0,7 mL d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une coloration verte-bleue indique la présence d'hétérosides stéroïdiens, tandis qu'une coloration verte-violette suggère la présence d'hétérosides terpéniques (**Benhamdi, 2023**). Ces composés sont impliqués dans des propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes ou antitumorales.

❖ Mucilages (oses et holosides) :

Le test L'analyse des mucilages consiste à ajouter 5 mL d'éthanol à 1 mL d'EM. La formation d'un aspect floconneux indique la présence de mucilages, composés polysaccharidiques hydrophiles jouant un rôle dans la protection des muqueuses et la régulation du transit intestinal (**Bruneton, 1999**).

Groupe chimique recherché	Principe du test / Réactifs utilisés	Observation attendue	Interprétation
Flavonoïdes	1 mL EM + 1 mL HCl conc. + copeaux de Mg	Coloration rose, rouge orangé ou jaune	Présence de flavonoïdes
Tanins	2 mL EM + 1-2 gouttes FeCl ₃ (0,1%)	Vert foncé ou bleu-vert	Tanins condensés ou hydrolysables
Saponines	5 mL EM + 10 mL eau, agitation vigoureuse	Mousse stable > 1 cm persistante 1 h	Présence abondante de saponines
Alcaloïdes	1 mL EM + 2 mL HCl (1%) puis 1 mL de réactif de Mayer ou Wagner	Précipité blanc crème à jaunâtre (Mayer) ou brun (Wagner)	Présence d'alcaloïdes
Terpénoïdes / Stéroïdes	1 mL EM + 0,5 mL chloroforme + 0,7 mL H ₂ SO ₄ conc.	Vert-bleu ou vert-violet	Stéroïdes (vert-bleu) ou Terpénoïdes (vert-violet)
Oses / Holosides (Mucilages)	1 mL EM + 5 mL éthanol	Aspect floconneux	Présence de mucilages

Tableau 4 : méthodes de dépistage phytochimique des principaux groupes de métabolites secondaires dans l'extrait méthanolique

IV.3.3 Analyse quantitative

IV.3.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé à l'aide du réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu, conformément à la méthode décrite par **Juntachote et al. (2006)**.

IV.3.3.1.1 Principe

Cette méthode repose sur la réduction du réactif Folin, un acide de couleur jaune composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, par des composés phénoliques en milieu alcalin, grâce à l'ajout de carbonate de sodium. Cela entraîne la formation d'un mélange de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) de couleur bleue. L'absorption maximale à 765 nm est proportionnelle à la concentration de polyphénols présents dans l'extrait (**Enneb et al. 2015**).

IV.3.3.1.2 Technique

Un volume de 200 µl d'extrait a été mélangé avec 500 µl de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 %. Après 5 minutes, 1500 µl de carbonate de sodium à 7,5 % (Na₂CO₃) ont été ajoutés. Après agitation, le mélange a été incubé à l'ombre pendant 30 minutes, puis la lecture a été effectuée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/V (**Beretta et al. 2005**).

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche, en se basant sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Mahmoudi et al. 2013**).

IV.3.3.2 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl₃), décrite par **Djeridane et al. (2006)**, est utilisée pour quantifier les flavonoïdes présents dans l'extrait.

IV.3.3.2.1 Principe

Le dosage des flavonoïdes repose sur la formation de complexes entre les flavonoïdes et des métaux, tels que l'aluminium, sous forme de chlorure d'aluminium (AlCl₃). La liaison des atomes d'oxygène situés sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes avec les chlorures d'aluminium entraîne la formation de complexes de couleur jaunâtre (**Magri et Benzineb, 2023**).

IV.3.3.2.2 Technique

1 ml d'extrait est mélangé avec 1 ml de solution méthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl₃ à 2 %). Le mélange est ensuite agité vigoureusement et incubé pendant 10 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. La même procédure est réalisée pour le standard (quercétine) à différentes concentrations, et l'absorbance est mesurée à 460 nm (**Saouli et Abdennebi, 2020**).

IV.3.4 Activité Anti-inflammatoire :

IV.3.4.1 Principe :

Pour étudier les propriétés anti-inflammatoires de la solution des graines de *Salvia hispanica*, la méthode d'inhibition de la dénaturation de l'albumine a été utilisée (Kedi, 2018). En effet, en inhibant la dénaturation des protéines, on peut réduire l'activité inflammatoire (Sangeetha et Vidhya, 2016). Ainsi, l'inhibition de la dénaturation des protéines est reconnue comme une action anti-inflammatoire.

IV.3.4.2 Technique :

L'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait méthanolique des graines de chia a été évaluée selon la méthode de dénaturation par l'albumine d'œuf. Pour cela, une solution de 5 mL a été préparée, comprenant 0,2 mL d'albumine d'œuf, 2,8 mL de solution saline de tampon phosphate (PBS, pH 6,4) et 2 mL de l'extrait méthanolique. On prépare des solutions à différentes concentrations :

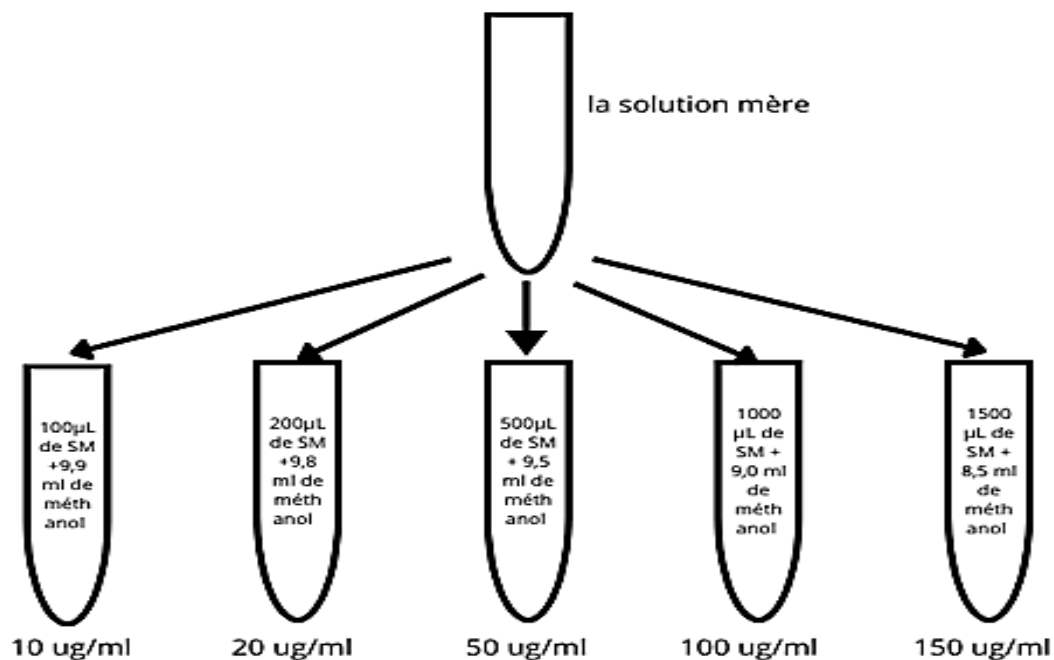


Figure 18 : solutions à différentes concentrations de extraits méthanoliques pour l'analyse anti-inflammatoire.

Le diclofénac a été utilisé comme médicament de référence à différentes concentrations (contrôle positif) pour ce contrôle positif on prépare une solution qui contient 10 mg de diclofénac et 100 ml de PBS on prend 0,2 ml de cette solution et on ajoute 4,8 ml d'albumine, en suite on prépare Les dilution à partir de cette solution

tandis qu'un sérum salin à différentes concentrations comme un contrôle négatif (0,2 g d'albumin + 100 ml de sérum physiologique) . Les mélanges ont été incubés à 37 ± 2 °C pendant 15 minutes, puis chauffés à 70 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement, les absorbances ont été mesurées à 660 nm . (**Fetni et Bertella .2020**). avec quelques adaptations

- Le % d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times [Vt/1-Vc]$$

Vt = absorbance de l'échantillon d'essai

Vc = absorbance de contrôle.

IV.3.5 L'activité antibactérienne :

IV.3.5.1 Origine et choix des souches :

Pour évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica*, un ensemble de souches représentatives a été sélectionné, comprenant à la fois des bactéries pathogènes et des bactéries d'intérêt probiotique :

- **Bactéries pathogènes :**
 - *Staphylococcus aureus* (Gram positif) ATCC 33862
 - *Escherichia coli* (Gram négatif) ATCC 10231.
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
 - *Candida albicans* (levure pathogène) 10231.

- **Bactéries lactiques :**
 - *Lactobacillus fermentum* (L11 et L9).
 - *Bifidobacterium longum* (B9 et B12).
 - *Bifidobacterium* (*breve* et *astéroïdes*).

L'objectif est d'étudier non seulement l'effet inhibiteur de l'extrait sur les souches pathogènes, mais aussi de vérifier s'il affecte les bactéries lactiques bénéfiques. Cela permet de déterminer si les graines de chia peuvent être utilisées en association avec des produits laitiers enrichis ,sans compromettre leur flore probiotique.

IV.3.5.2 Préparation des cultures :

La culture préliminaire a été réalisée dans des tubes contenant 12 mL de bouillon liquide spécifique à chaque type de bactérie :

- **Bactéries pathogènes :** cultivées dans du bouillon nutritif .

- **Bactéries lactiques** : cultivées dans du milieu MRS bouillon.

Les tubes ont été incubés à 37 °C pour obtenir des cultures jeunes et actives (Bactéries pathogènes pendant 8 h Bactéries lactiques pendant 18 h) .

IV.3.5.3 Test de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique a été évaluée selon la méthode classique des disques d'aromatogramme, reconnue pour sa simplicité et sa fiabilité.

IV.3.5.4 Méthodologie expérimentale

IV.3.5.4.1 Préparation des dilutions de l'extrait :

Des dilutions stériles de l'extrait ont été préparées à des concentrations de 20 %, 40 %, 60 %, 80 % et 100 %.

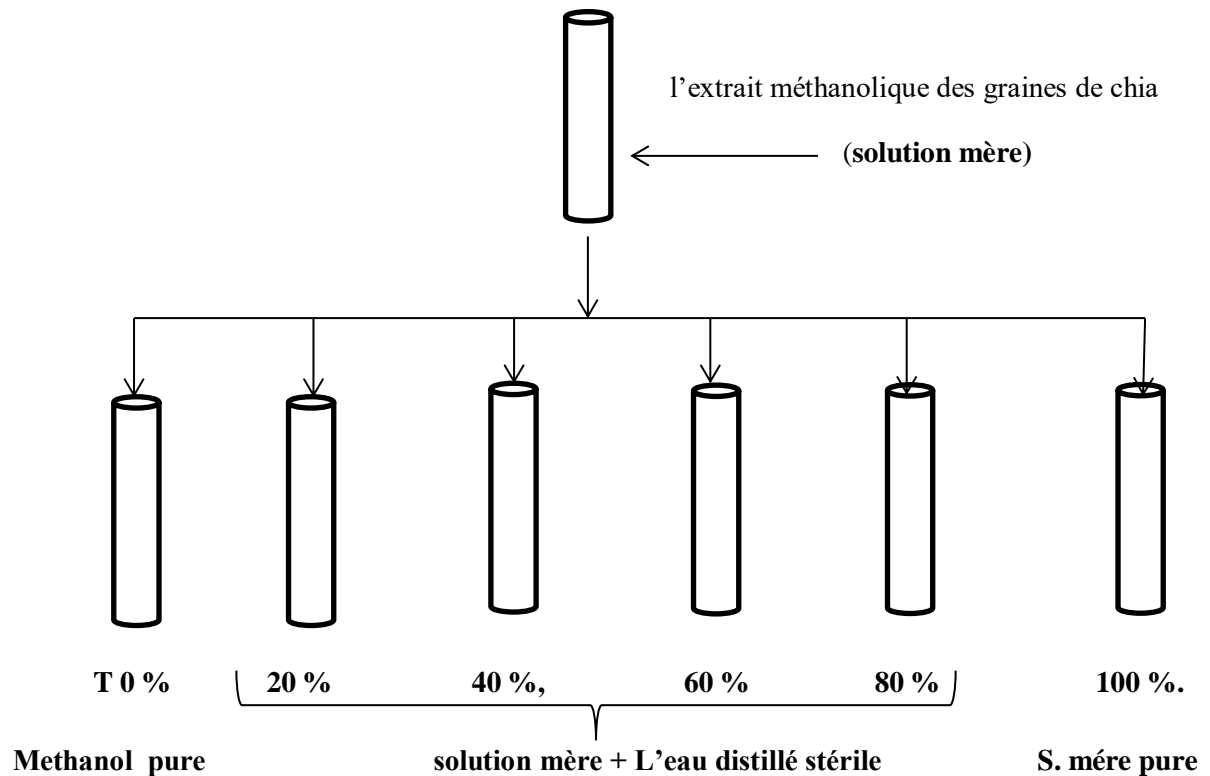


Figure 19 : Préparation des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica*

IV.3.5.4.2 test de contrôle :

Un test utilisant du méthanol pur (solvant) a également été réalisé afin de distinguer l'effet réel de l'extrait de celui du solvant méthanol seul. **T 0 %**

IV.3.5.4.3 Ensemencement et dépôt des disques :

L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage d'une suspension bactérienne fraîchement préparée, étalée par stries croisées sur toute la surface de la gélose.

- **Pour les bactéries pathogènes** : ensemencement sur gélose Mueller-Hinton
- **Pour les bactéries lactiques** : ensemencement sur gélose MRS

Des disques stériles ont été imbibés de 15 µL de chaque dilution d'extrait, ainsi que de méthanol pur, puis déposés sur les boîtes ensemencées à l'aide de pinces stériles.

Les tests ont été réalisés en double pour assurer la fiabilité des résultats. Au total, 10 souches ont été testées à 5 concentrations, soit 50 boîtes de Pétri, répétées deux fois (100 boîtes), avec 10 boîtes supplémentaires pour le méthanol seul, soit **110 boîtes de Pétri** au total.

IV.3.5.4.4 Incubation finale :

Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

IV.3.5.5 Expression des résultats

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats ont été interprétés selon la grille de sensibilité suivante (**Ponce et al., 2003**) :

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Interprétation de la sensibilité
$D \leq 6$	Résistante
$D \leq 8$	Légèrement inhibiteur
$9 \leq D \leq 14$	Modérément inhibiteur
$15 \leq D \leq 19$	Fortement inhibiteur
$D \geq 20$	Très fortement inhibiteur

Tableau 5 : Estimation de la sensibilité des souches aux extrait (Ponce et al. 2003).

L'inhibition des bactéries lactiques par l'extrait serait problématique pour une utilisation dans les produits laitiers enrichis.

IV.3.5.6 Comparaison avec un antibiotique de référence :

Afin de comparer l'effet antibactérien de notre extrait méthanolique, un test a été réalisé en parallèle à l'aide d'un disque antibiotique standard contre *Staphylococcus aureus*. Ce test a permis d'évaluer l'efficacité relative de l'extrait par rapport à un agent antimicrobien reconnu.

V Résultats

V.1 Rendement et concentration en matière sèche

Après extraction méthanolique de 300 g de graines de chia, un volume total de **75 mL** d'extrait brut, d'une masse de **73,9 g**, a été obtenu (méthanol + matière sèche)

Pour estimer la concentration en matière sèche dans cet extrait, **10 mL** ont été prélevés puis complètement évaporés, donnant un résidu sec de **4,32 g**.

- ✓ La concentration en matière sèche dans l'extrait est donc : **0,432g/mL**
- ✓ En extrapolant à l'ensemble des **75 mL**, la masse totale de matière sèche extraite est :

$$0,432\text{g/mL} \times 75\text{mL} = 32,4\text{g}$$

- ✓ Volume de méthanol : **52,53mL**, avec : **Volume = masse ÷ densité**

$$\text{M.de méthanol : } 73,9\text{g} - 32,4\text{g} = 41,5\text{g} \text{ , V. de méthanol} = 41,5 / 0,79 = 52,53\text{mL}$$

- ✓ Le rendement d'extraction, en fonction de la masse initiale de graines (**300 g**) est :

$$(73,9 / 300) \times 100 = 24,63\%$$

V.2 .Analyse qualitative

V.2.1 Analyse phytochimique

Les résultats présentés dans le tableau montrent que l'extrait méthanolique est particulièrement riche en saponines, tanins et flavonoïdes, ce qui justifie potentiellement certaines de ses propriétés biologiques rapportées dans la littérature (activité antioxydante, anti-inflammatoire, etc.). La présence d'alcaloïdes et de terpènes a également été confirmée, suggérant une complexité chimique propice à une activité pharmacologique. Les observations visuelles sont appuyées par des photographies illustrant les réactions caractéristiques obtenues pour chaque groupe de composés.

Tube n°	Groupe chimique recherché	Nom du test	Observation	Interprétation
1	Flavonoïdes	Test de Shinoda	Coloration jaune	Présence confirmée (+)
2	Tanins	Réaction au chlorure ferrique (FeCl ₃)	Coloration vert foncé	Présence de Tanins condensés (+)
3	Saponines	Test de mousse	Mousse stable > 1 cm persistante pendant 1 h	Présence abondante (++)
4	Alcaloïdes	Tests de Mayer	coloration rouge orangé	Présence confirmée (+)
5		Tests de Wagner	Précipité brun	
6	Terpénoïdes / Stéroïdes	Test de Liebermann-Burchard	Coloration vert-violet	Présence de terpènes (+)
7	Mucilages / Oses / Holosides	Précipitation alcoolique	Aspect floconneux	Présence modérée (+)

Tableau 6 : Dépistage phytochimique qualitatif des principaux groupes de métabolites secondaires présents dans l'extrait méthanolique

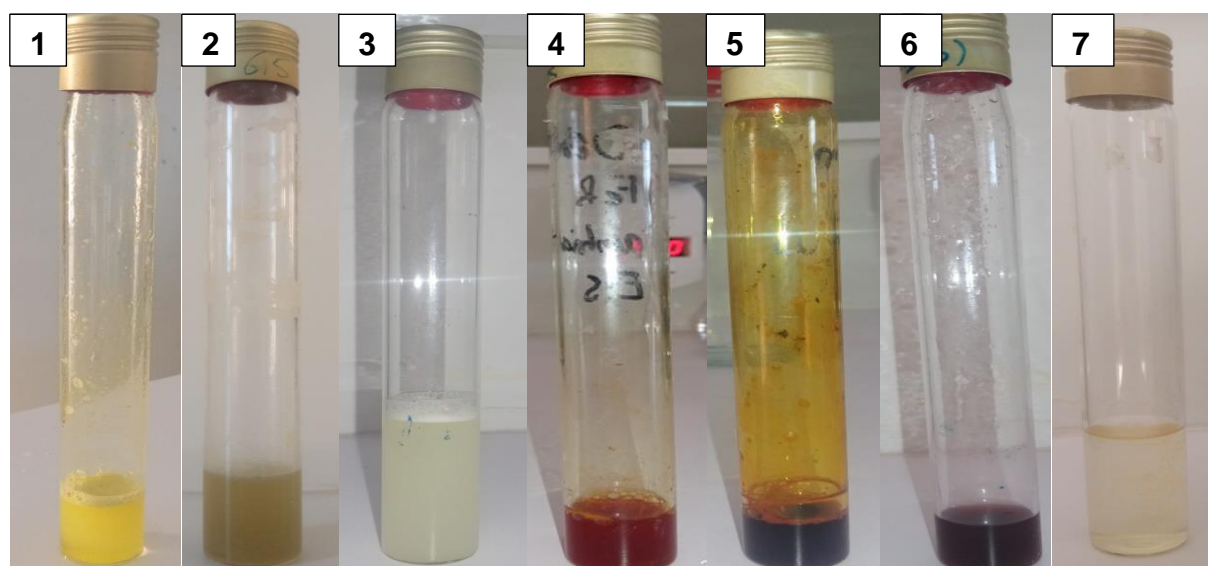


Figure 20 : Résultats visuels des réactions de dépistage phytochimique sur l'extrait méthanolique

V.3 Analyse quantitative :

Afin de caractériser l'extrait méthanolique obtenu à partir des graines de *Salvia hispanica*, la quantification des composés phénoliques a été réalisée en déterminant les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Pour ce faire, deux courbes d'étalonnage ont été établies.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents du standard utilisé par gramme de matière sèche, et les concentrations ont été déterminées à l'aide d'une équation de régression linéaire de la forme : $Y = aX + b$.

V.3.1 Teneur en polyphénols totaux (PPT) :

La teneur en polyphénols totaux des extraits méthanoliques a été déterminée par spectrophotométrie, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage a été réalisée à partir de différentes concentrations d'acide gallique. La figure 21 présente cette courbe d'étalonnage, tandis que la figure 22 illustre les résultats du dosage des polyphénols totaux contenus dans l'extrait méthanolique.

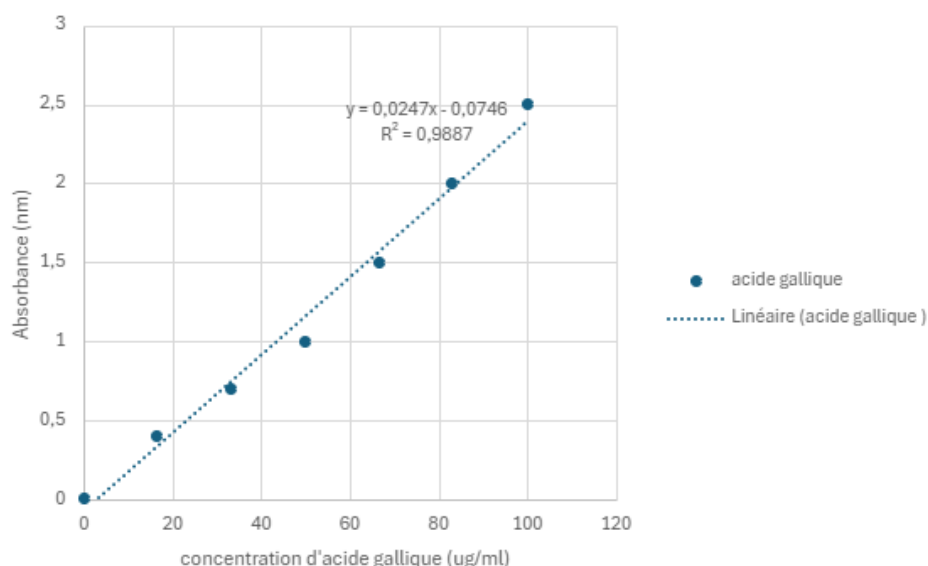


Figure 21 : courbe d'étalonnage d'acide gallique

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,988$ figure

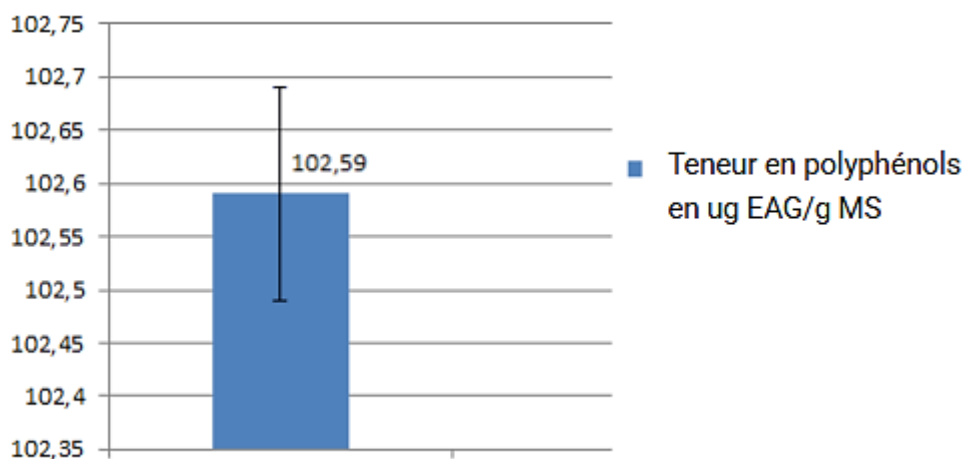


Figure 22 : Teneur des polyphénols totaux en µg EAG/g MS

V.3.2 Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium, en utilisant la quercétine comme standard.

La courbe d'étalonnage, établie à partir de différentes concentrations de quercétine, est présentée dans la figure 23. Les résultats du dosage des flavonoïdes sont illustrés dans la figure 24.

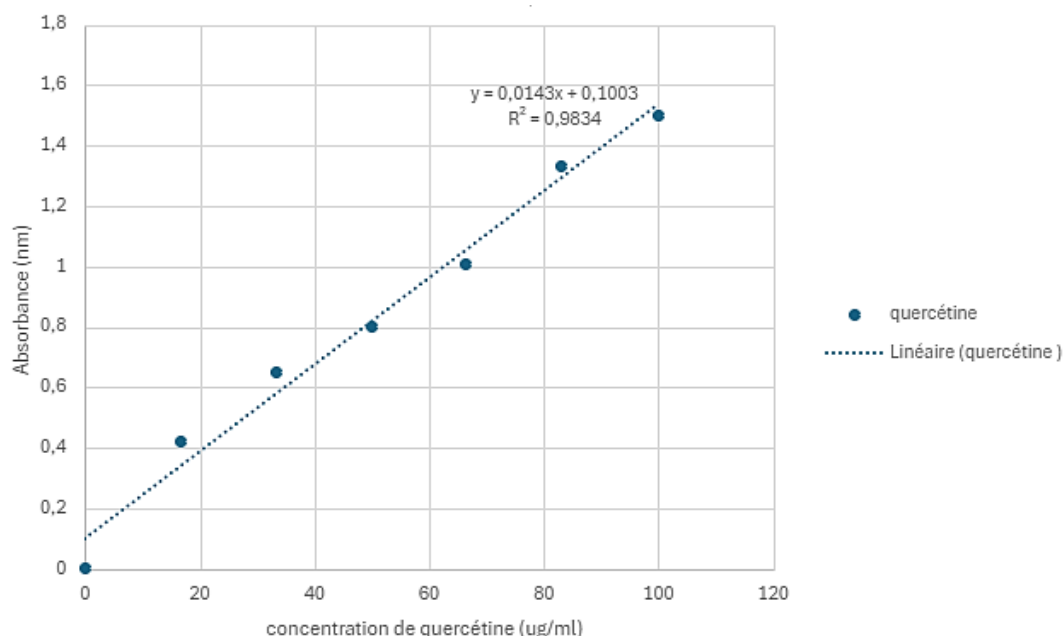


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,983$

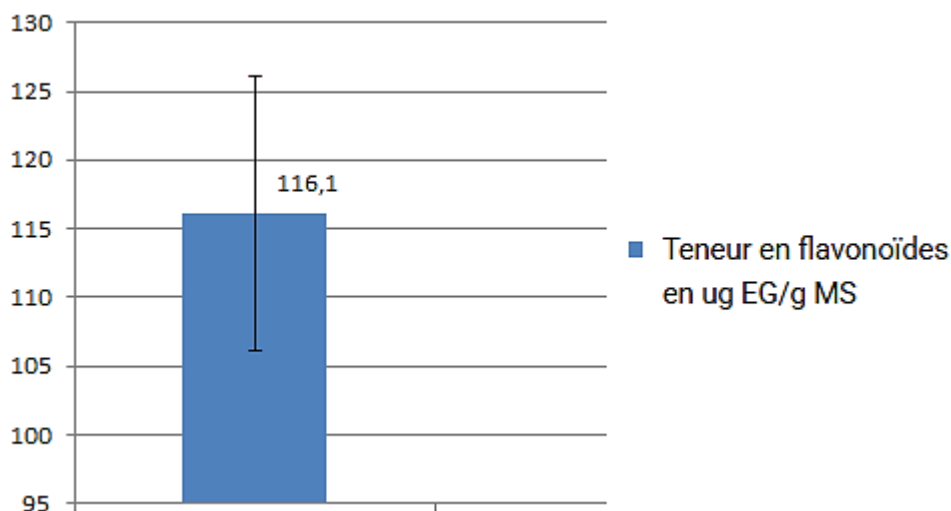


Figure 24 : Teneur des flavonoïdes en µg EQ/g MS

V.4 Evaluation de l’activité anti-inflammatoire :

Dans le cadre de notre étude, l’activité anti-inflammatoire de l’extrait a été évaluée **in vitro** à l’aide du test d’inhibition de la dénaturation des protéines, utilisant l’albumine d’œuf comme modèle, induite par un traitement thermique.

Le tableau 07 et la figure 25 présentent les pourcentages d’inhibition de la dénaturation des protéines en fonction des différentes concentrations de l’extrait méthanolique. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus avec le contrôle positif, le diclofénac sodique.

concentration	10	20	50	100	150
Abs extrait méthanolique	0,176	0,329	0,631	1,284	3,270
Abs diclofénac	0,139	0,278	0,350	0,486	0,776
% inhibition EM	30,88	45,42	60,33	75,46	85,17
% inhibition de diclofénac	41,15	55,24	70,65	85,69	95,01

Tableau 7 : Pourcentages d’inhibition de la dénaturation des protéines par l’extrait méthanolique et le diclofénac sodique (contrôle positif) à différentes concentrations.

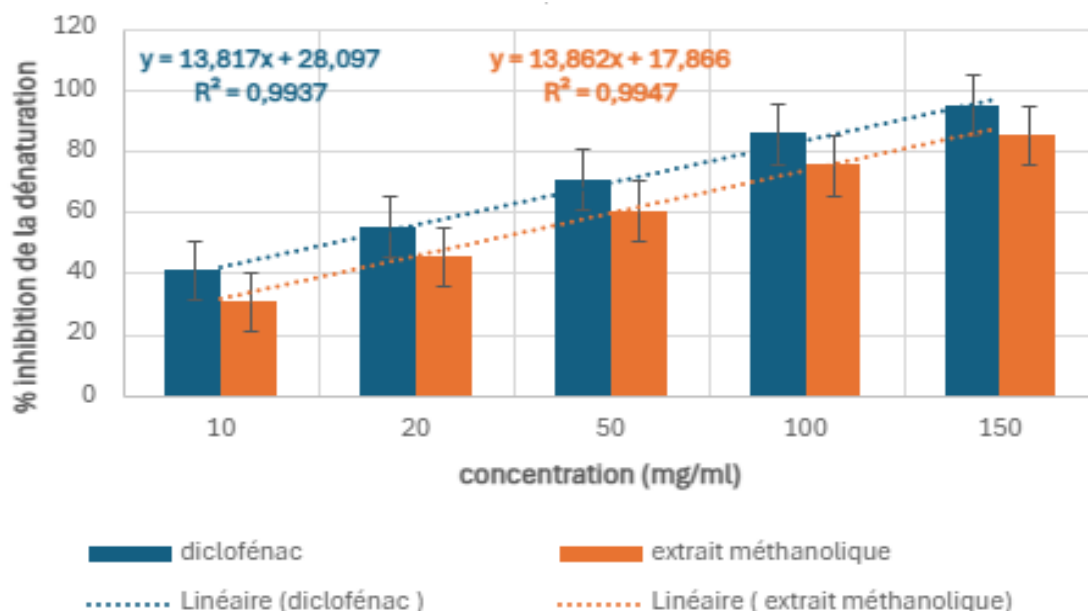


Figure 25 : Pourcentage d’inhibition de la dénaturation de l’albumine par le diclofénac sodique et l’extrait méthanolique

V.5 Résultats de l’évaluation de l’activité antimicrobienne

Les résultats obtenus lors du test de l’activité antibactérienne de l’extrait méthanolique de *Salvia hispanica* sont présentés dans le tableau ci-dessous. les moyennes X du diamètres des zones d’inhibition sont exprimés en millimètres pour chaque souche testée, à différentes concentrations de l’extrait.

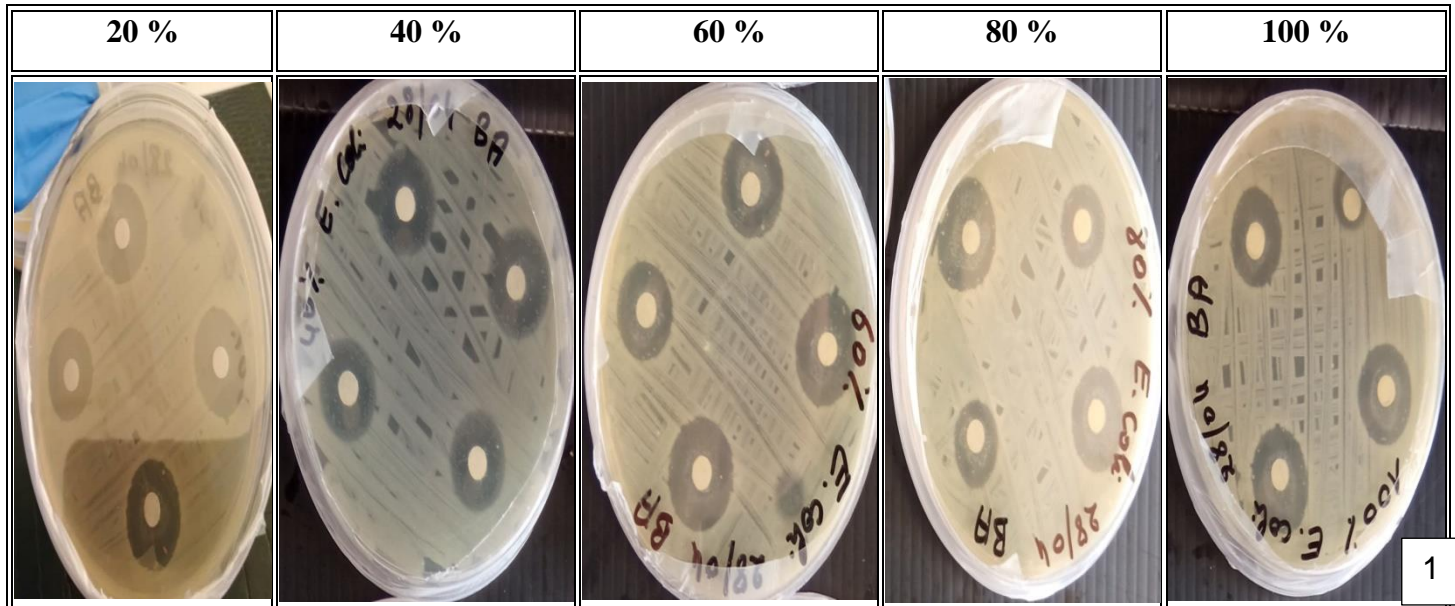
Souche bactérienne	X(mm)					Témoin (Méthanol)	Interprétation (max)
	20%	40%	60%	80%	100%		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	—	—	—	—	Aucune inhibition	Résistante
<i>Candida albicans</i>	—	—	—	—	9		Modérément inhibiteur
<i>Escherichia coli</i>	14.6	16.5	17.2	17.5	18.2		Fortement inhibiteur
<i>Staphylococcus aureus</i>	19.3	20.3	23.6	24.2	27		Très fortement inhibiteur

Souche bactérienne	X(mm)					Témoin (Méthanol)	Interprétation (max)
	20%	40%	60%	80%	100%		
<i>Bifidobacterium breve</i>	—	—	—	—	9		Modérément inhibiteur
<i>Bifidobacterium longum</i> <i>B12</i>	—	—	—	—	9		Modérément inhibiteur
<i>Bifidobacterium</i> <i>astéroïdes</i>	—	—	—	—	6		Résistante
<i>Bifidobacterium longum</i> <i>B9</i>	—	—	—	—	—		Résistante
<i>Lactobacillus</i> <i>fermentum L11</i>	—	—	—	9	13		Modérément inhibiteur
<i>Lactobacillus</i> <i>fermentum L9</i>	—	—	—	8	9		Légèrement à modérément inhibiteur
Antibiotique (réf. sur <i>S. aureus</i>)	La Moyenne : 19.1 mm						Fortement inhibitrice

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) observés pour différentes souches bactériennes exposées à l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* à différentes concentrations, incluant les résultats du témoin (méthanol seul) et de l'antibiotique de référence (**pour *Staphylococcus aureus***)

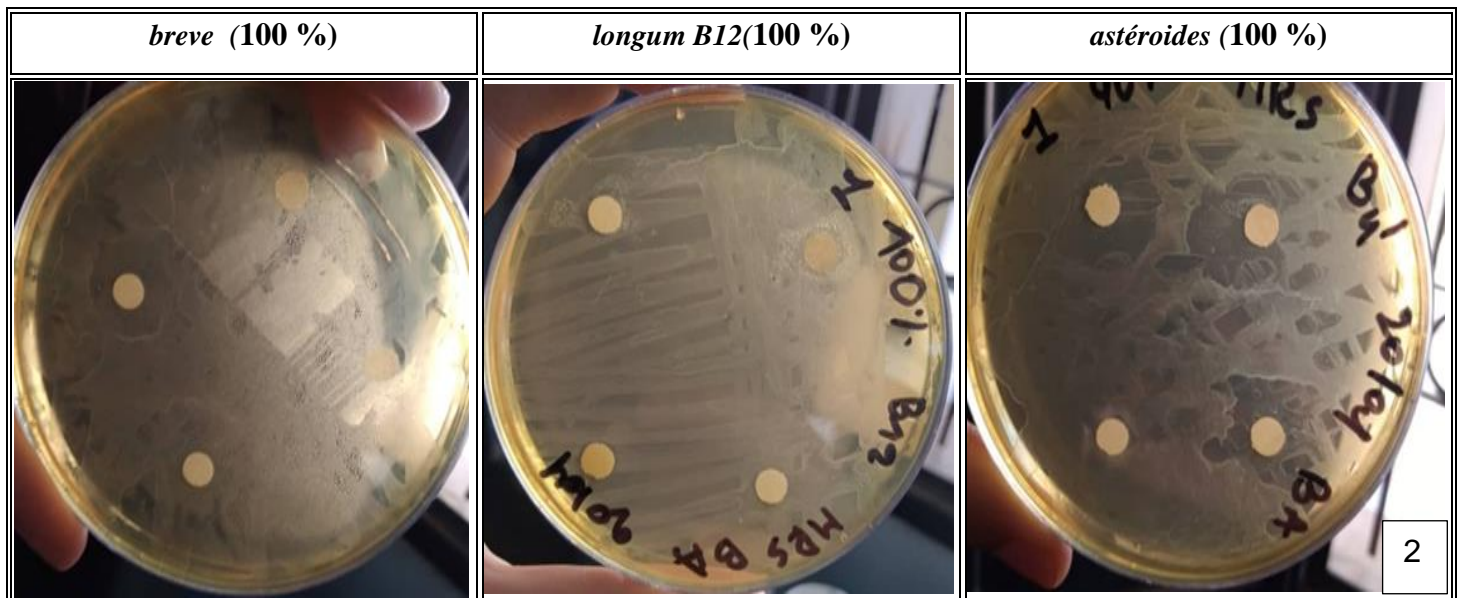
Les images suivantes illustrent uniquement les cas où une zone d'inhibition a été observée, conformément aux résultats du tableau précédent. Le résultat de l'antibiotique de référence utilisé contre *Staphylococcus aureus* est également présenté à titre comparatif.

➤ *Escherichia coli* :



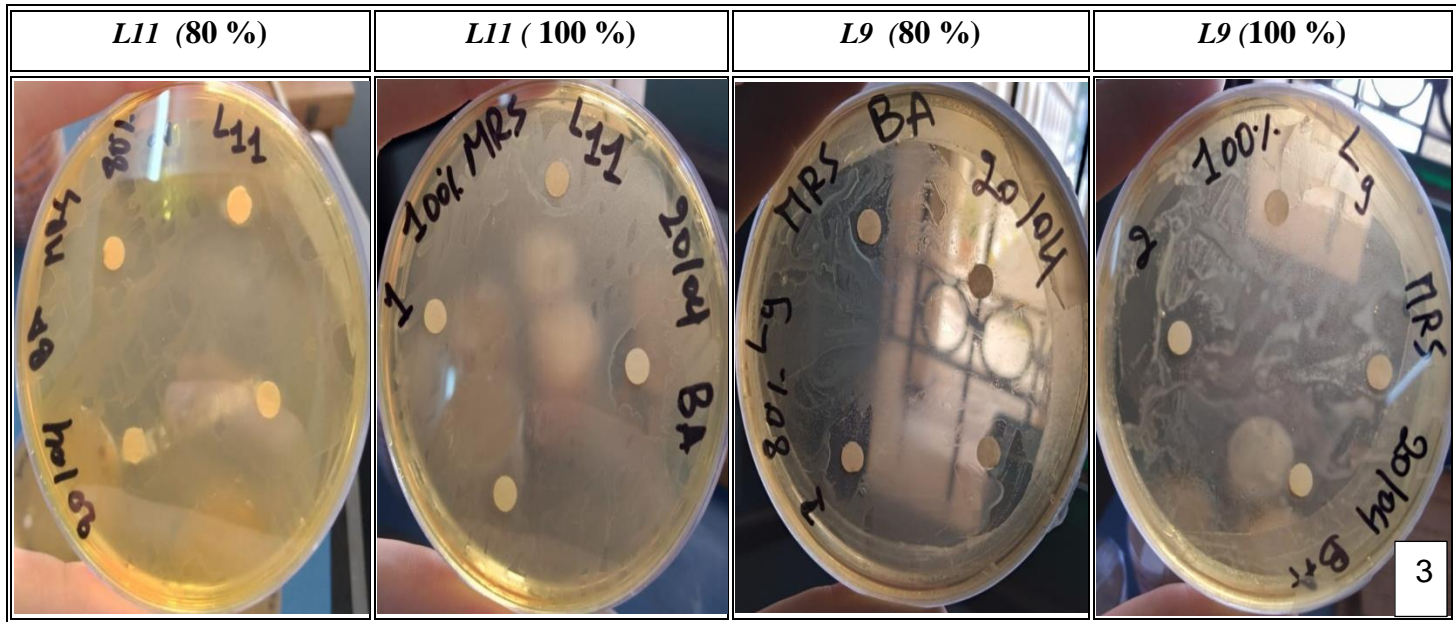
1

➤ *Bifidobacterium breve* , astéroïdes et longum B12:



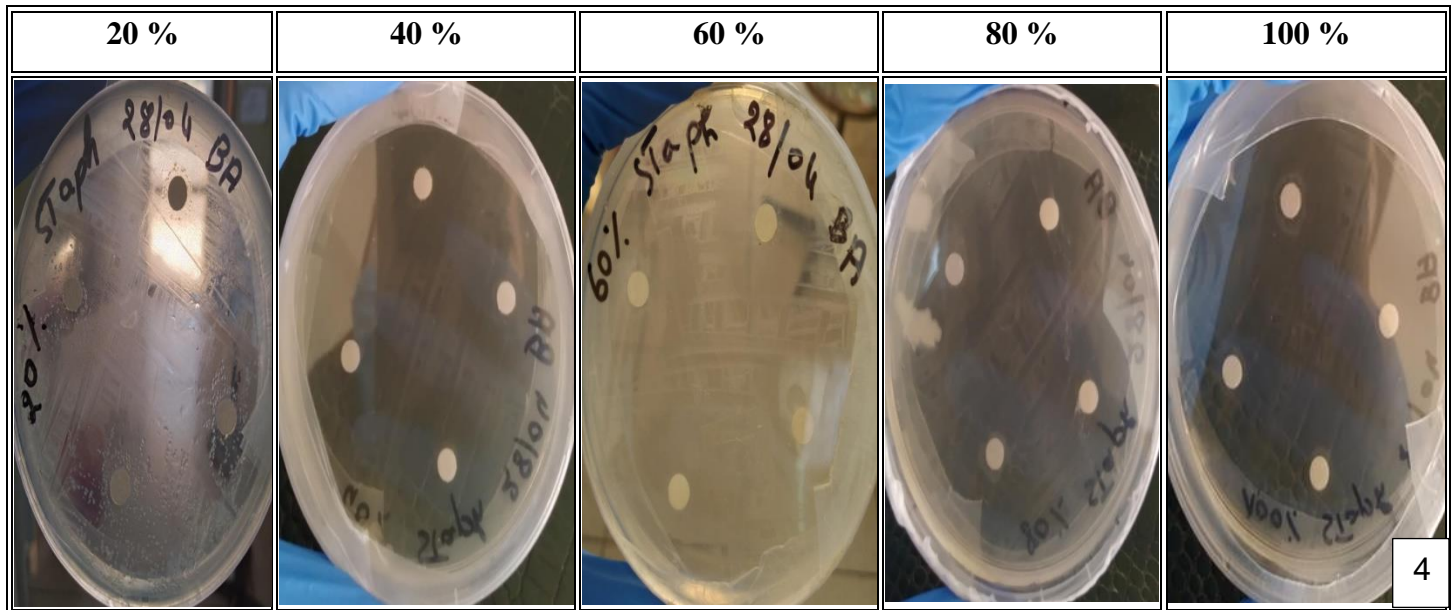
2

➤ *Lactobacillus fermentum* L11 et L9



3

➤ *Staphylococcus aureus*



4

Tableau 9 : Illustrations des zones d'inhibition observées sur gélose pour les souches exposées à l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* à des différentes concentration

➤ Antibiotique (réf. sur *S. aureus*)

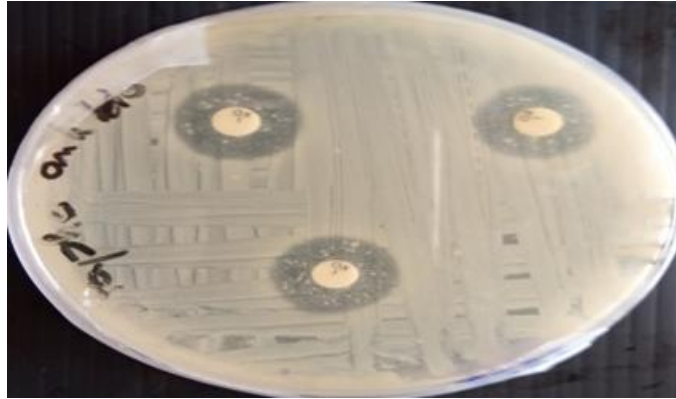


Figure 26 :Zone d'inhibition produite par l'antibiotique de référence sur la souche *Staphylococcus aureus*.

VI Discussion

Dans le but de mieux valoriser les propriétés bioactives des graines de *Salvia hispanica*, nous avons discuté les résultats obtenus concernant le rendement d'extraction, le profil phytochimique de l'extrait (qualitatif et quantitatif), ainsi que ses activités biologiques, notamment anti-inflammatoire et antibactérienne. Ces éléments nous ont permis d'évaluer le potentiel thérapeutique global de l'extrait méthanolique.

VI.1 Rendement d'extraction

L'extraction méthanolique réalisée à partir de 300 g de graines de chia a permis d'obtenir 73,9 g d'extrait brut, soit un rendement global de 24,63 %. Ce rendement, calculé en fonction de la masse totale de l'extrait liquide (méthanol + matière sèche), reflète une efficacité notable de l'opération d'extraction. Parmi les 75 mL d'extrait obtenus, 30,4 g correspondent à la matière sèche extraite, représentant la fraction potentiellement active.

Ce résultat s'inscrit dans la fourchette généralement rapportée dans la littérature pour ce type de matrice végétale et ce solvant. Par exemple, **Hrnčič *et al.* (2020)** ont rapporté un rendement avoisinant les 26 % avec le méthanol, tandis que **Morales-Olán *et al.* (2020)** ont obtenu un rendement de 22,5 % par macération à température ambiante. La proximité de ces chiffres témoigne de la constance des performances de la méthode de macération, qui, bien que traditionnelle, reste un moyen doux, reproductible et efficace pour extraire les composés bioactifs, notamment les polyphénols et flavonoïdes hydrosolubles.

Dans notre étude, le protocole appliqué, basé sur une macération en présence de méthanol, semble avoir favorisé une extraction efficace de la matière active. Sans apporter d'élément fondamentalement nouveau, ce rendement valide néanmoins la pertinence de la méthode employée et son adéquation avec les caractéristiques physico-chimiques de la plante étudiée. Il s'agit d'un point de départ solide pour les étapes analytiques et biologiques qui suivent.

VI.2 Analyse phytochimique

L'analyse phytochimique réalisée sur l'extrait méthanolique des graines de chia a permis de mettre en évidence une composition riche et variée en métabolites secondaires. Les résultats montrent la présence de plusieurs grandes familles de composés bioactifs, notamment les flavonoïdes, les tanins condensés, les saponines, les alcaloïdes ainsi que des terpènes et stéroïdes.

Ces résultats s'alignent parfaitement avec les travaux récents. En effet, **Motyka *et al.* (2023)** ont mis en évidence une concentration élevée de flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Salvia hispanica*, tandis que **Dib *et al.* (2021)** ont confirmé la dominance de ces composés dans le potentiel antioxydant de la plante. D'un point de vue pharmacologique, les flavonoïdes sont largement reconnus pour leurs propriétés anti-

inflammatoires, en inhibant notamment la production de médiateurs comme les prostaglandines ou les cytokines (Aminu *et al.*, 2023).

Les tanins, également bien représentés dans notre extrait, sont connus pour leurs effets astringents, antimicrobiens et antioxydants, contribuant à stabiliser les membranes cellulaires et à limiter l'action des radicaux libres. Les saponines, quant à elles, peuvent moduler la perméabilité cellulaire et jouent un rôle non négligeable dans l'activité immunomodulatrice.

La détection des alcaloïdes et des terpènes/stéroïdes renforce l'intérêt pharmacologique de cet extrait, ces composés étant souvent associés à des activités analgésiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, comme le montre la littérature (Hrnčič *et al.*, 2020 ; Morales-Olán *et al.*, 2020).

Ainsi, bien que notre analyse ne révèle rien de fondamentalement nouveau, elle confirme la richesse phytochimique des graines de chia déjà décrite dans plusieurs études fiables. Ce profil complexe et équilibré justifie leur usage croissant dans la recherche en pharmacologie naturelle, notamment pour le développement de produits à visée anti-inflammatoire ou antimicrobienne.

VI.3 La teneur en composés phénoliques

Ces résultats montrent que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* a permis de quantifier une teneur en polyphénols totaux de **102,59** μg équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (**μg EAG/g MS**), ainsi qu'une teneur en flavonoïdes totaux de **116,1** μg EAG/g MS. Ces valeurs indiquent une concentration relativement élevée en composés phénoliques et flavonoïdiques, témoignant d'un potentiel biologique significatif, notamment en ce qui concerne ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes.

Les résultats obtenus ici sont en accord avec ceux rapportés par Reyes-Caudillo *et al.* (2008), qui ont observé des teneurs en polyphénols totaux allant de **91 à 111** μg EAG/g MS dans les graines de chia, selon les variétés et les conditions d'extraction. De même, Capitani *et al.* (2012) ont souligné que l'extraction au méthanol, en tant que solvant polaire, permettait une récupération efficace des composés phénoliques contenus dans les graines de chia.

Concernant les flavonoïdes, la teneur de **116,1** μg EAG/g MS observée dans cette étude est légèrement supérieure aux valeurs rapportées par Capitani *et al.* (2012), qui ont trouvé des concentrations comprises entre **70 et 110** μg EAG/g MS. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la variété des graines, les conditions environnementales, ainsi que les paramètres d'extraction comme la température, le temps de macération ou la granulométrie de l'échantillon.

la présence importante de flavonoïdes est particulièrement intéressante. Ces composés sont connus pour leur capacité à piéger les radicaux libres, réduire l'inflammation en inhibant certaines enzymes (comme la

COX et la LOX), et perturber les membranes cellulaires bactériennes (Cushnie & Lamb, 2011 ; Daglia, 2012). Leur richesse dans l'extrait de chia renforce donc l'intérêt de cette plante en tant qu'ingrédient phytothérapeutique et fonctionnel.

Ainsi, les valeurs obtenues dans cette étude confirment que *Salvia hispanica* constitue une **source** naturelle riche en composés phénoliques, capables de conférer des effets bénéfiques pour la santé humaine.

VI.4 Analyse in vitro de l'activité anti-inflammatoire

VI.4.1 Méthode d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* a été étudiée à travers le test d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine. Ce test est basé sur le principe selon lequel la dénaturation des protéines, provoquée par des facteurs physiques comme la chaleur, peut entraîner la formation d'auto-antigènes, susceptibles d'induire une réponse inflammatoire chronique (Karthik et al., 2013). Par conséquent, la capacité d'un extrait à inhiber cette dénaturation constitue un indicateur pertinent de son activité anti-inflammatoire potentielle.

La conformation d'une protéine repose sur l'intégrité de ses structures secondaire et tertiaire, maintenues par divers types de liaisons, notamment les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques, hydrophobes, ainsi que les ponts disulfure. La dénaturation correspond à une altération de ces structures (secondaire, tertiaire et parfois quaternaire), sans rupture de la chaîne peptidique, et peut être induite par différents agents physiques (chaleur, variations de pH) ou chimiques (acides, bases, détergents) (Karthik et al., 2013).

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* exerce une activité anti-inflammatoire notable, avec un pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine de **85,17 %** à la concentration maximale testée (150 mg/mL), comparé à **95,01 %** pour le diclofénac sodique, utilisé comme anti-inflammatoire de référence. Bien que légèrement moins efficace que ce dernier, l'extrait montre une inhibition importante, suggérant la présence de composés bioactifs responsables de cet effet. Cette activité peut être principalement liée à la richesse de l'extrait en substances antioxydantes et anti-inflammatoires, notamment les polyphénols (102,59 µg EAG/g MS) et les flavonoïdes (116,1 µg EQ/g MS).

VI.5 L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica*

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* a permis de dégager plusieurs constats intéressants, tant vis-à-vis des souches pathogènes que des bactéries lactiques bénéfiques.

VI.5.1 Efficacité sur les bactéries pathogènes

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique exerce une activité antibactérienne marquée contre certaines bactéries pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus* (bactérie Gram positif) et *Escherichia coli* (Gram négatif). Pour *S. aureus*, les zones d'inhibition atteignent jusqu'à 27 mm à 100 % de concentration, ce qui dépasse l'efficacité de l'antibiotique de référence testé (zone moyenne de 19,1 mm), plaçant l'extrait dans la catégorie « très fortement inhibitrice ». Des études antérieures ont également rapporté une forte sensibilité de *S. aureus* aux extraits phénoliques d'origine végétale (Burt, 2004 ; Nasri et al., 2020).

Concernant *E. coli*, bien qu'un peu moins sensible, l'effet reste significatif avec des diamètres allant jusqu'à 18,2 mm, traduisant une forte activité inhibitrice. Ce résultat est cohérent avec les données de Gutiérrez et al. (2011), qui ont montré une inhibition similaire avec des extraits riches en acides phénoliques et flavonoïdes.

En revanche, *Pseudomonas aeruginosa*, connue pour sa multi-résistance, n'a montré aucune inhibition, ce qui est attendu, car cette bactérie possède une membrane externe peu perméable et des mécanismes d'efflux efficaces (Poole, 2004). Cela confirme la difficulté de cibler cette souche avec des extraits naturels sans formulation spécifique.

Pour *Candida albicans*, une inhibition modérée a été observée uniquement à forte concentration. Des études telles que celle de Shafaghat et al. (2013) suggèrent que certains composés polyphénoliques peuvent exercer un effet antifongique modéré, notamment en perturbant la membrane cellulaire des levures.

VI.5.2 Impact sur les bactéries lactiques bénéfiques

L'un des objectifs de cette étude était de déterminer si l'extrait pouvait être utilisé en association avec des produits laitiers enrichis sans altérer la flore probiotique. Les résultats montrent une inhibition modérée à légère de certaines bactéries lactiques comme *Lactobacillus fermentum* et *Bifidobacterium breve*, ce qui est préoccupant dans le contexte d'une application probiotique (Ouwehand et al., 2002).

Cependant, plusieurs souches telles que *Bifidobacterium longum* B9 et *Bifidobacterium asteroides* se sont révélées résistantes ou peu affectées, ce qui suggère une certaine sélectivité de l'extrait. Cela peut être avantageux pour une utilisation ciblée, à condition de bien choisir les souches probiotiques compatibles. Ce phénomène de sélectivité a également été observé par **Cueva et al. (2010)**, qui ont montré que certains extraits polyphénoliques peuvent inhiber les pathogènes tout en préservant partiellement les probiotiques.

VI.5.3 Comparaison avec le témoin et l'antibiotique de référence

Le témoin (méthanol pur à 0 %) n'a induit aucune inhibition, ce qui confirme que l'activité antimicrobienne observée est bien liée aux composés bioactifs présents dans l'extrait, et non au solvant. Cette précaution méthodologique est cruciale pour éviter toute surestimation de l'effet (**Ríos & Recio, 2005**).

La comparaison avec un antibiotique de référence (disque standard contre *S. aureus*) a permis de situer l'efficacité relative de l'extrait. Le fait que l'extrait à 100 % affiche un diamètre d'inhibition supérieur suggère une activité antimicrobienne prometteuse, comparable, voire supérieure, à celle de certains antibiotiques de première ligne dans des conditions contrôlées (**Cowan, 1999**). Cela ouvre la voie à des applications potentielles dans la formulation de produits naturels à visée thérapeutique ou préventive.

VI.5.4 Implications pratiques et perspectives

Les résultats démontrent que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* possède un potentiel antimicrobien significatif, en particulier contre les souches pathogènes *S. aureus* et *E. coli*. Cependant, son impact partiel sur certaines souches lactiques invite à la prudence dans les formulations incluant des probiotiques.

Il serait utile de poursuivre cette étude par une caractérisation chimique approfondie des composés actifs (via HPLC-MS ou GC-MS) et par des tests de cytotoxicité sur des cellules humaines pour évaluer son innocuité. En outre, des tests *in vivo* seraient nécessaires pour valider l'efficacité dans des conditions physiologiques complexes (**Daglia, 2012**).

Conclusion

Au terme de ce travail, nous avons pu mettre en évidence le potentiel bioactif de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica*, plante connue pour ses vertus nutritionnelles et médicinales. L'extraction méthanolique a permis d'obtenir un rendement satisfaisant, témoignant d'une bonne solubilité des composés phénoliques dans ce solvant. L'analyse phytochimique a révélé une richesse qualitative et quantitative en flavonoïdes et polyphénols, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et thérapeutiques.

Les tests biologiques effectués ont confirmé cette richesse fonctionnelle. D'une part, l'activité anti-inflammatoire évaluée en comparaison avec le diclofénac a montré un effet inhibiteur significatif, suggérant une action intéressante de l'extrait dans la modulation de la réponse inflammatoire. D'autre part, l'étude de l'activité antibactérienne a permis de démontrer une efficacité marquée contre certaines souches pathogènes, notamment *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, tout en observant une action modérée, voire absente, sur plusieurs bactéries lactiques bénéfiques. Ces résultats soulignent la sélectivité potentielle de l'extrait, un critère précieux pour une éventuelle utilisation en milieu agroalimentaire ou médical.

En conclusion, notre étude met en lumière l'intérêt pharmacologique et fonctionnel de l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica*, tout en ouvrant la voie à des investigations complémentaires, notamment pour l'identification structurale précise des composés actifs, l'étude de leur mécanisme d'action et leur évaluation *in vivo*. Ces perspectives permettront de mieux comprendre et exploiter les propriétés de cette plante dans le développement de formulations naturelles à visée thérapeutique.

Références bibliographiques

A

ABDELHALIM. ABEER. et JANE, H. (2021). Biologically Active Compounds from Lamiaceae Family: Central Nervous System Effects. In *Studies in Natural Products Chemistry*, 68, 255-315. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819485-0.00017-7>.

AKINFENWA, A., CHEIKHYOUSSEF, A., CHEIKHYOUSSEF, N., et HUSSEIN, A. A. (2020). Cold Pressed Chia (*Salvia Hispanica L.*) Seed Oil. In *Cold Pressed Oils*, 181-190. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818188-1.00015-3>.

ALIOUA, M. (2015). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de Doctorat. Université Badjit Mokhtar – Annaba. Faculté des Sciences. Département de biochimie, Algérie. 228 p.

ANOFEL. (2014). Association Française des Enseignants de Parasitologie et mycologie. 15 p.

ARIL, J. L., DABERNAT, H., DENIS, F., et MONTEIL, H. (1987). La bactériologie clinique. 2ème édition, section IV.

AVRIL, J. L., DENIS, F., DABERNAT, H., et MONTEIL, H. (2000). Bactériologie clinique. 2ème édition, Marketing, Paris. Pages 148-280.

AYERZA, R., & COATES, W. (2011). *Chia: The complete guide to the ultimate superfood*. New York: Sterling Publishing Co.

AKINFENWA. AKEEM, O., CHEIKHYOUSSEF, A., NATASCHA, C., et AHMED A., HUSSEIN. (2020). Cold Pressed Chia (*Salvia Hispanica L.*) Seed Oil. In *Cold Pressed Oils*, 181-190. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818188-1.00015-3>.

AYERZA, R., et COATES, W. (2004). Composition of Chia (*Salvia Hispanica*) Grown in Six Tropical and Subtropical Ecosystems of South America. *Tropical Science*, 44(3), 131-135. <https://doi.org/10.1002/ts.154>.

AYERZA, H., RICARDO, et WAYNE, C. (2011). Protein Content, Oil Content and Fatty Acid Profiles as Potential Criteria to Determine the Origin of Commercially Grown Chia (*Salvia Hispanica L.*). *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1366-1371. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.007>.

ABDULLAH, M. N. (2025). Antimicrobial activity of chia seeds (*Salvia hispanica L.*) extract on microorganisms isolated from urinary tract infection. *International Journal of Bioscience and Biochemistry*, 7(1), 1–5. <https://www.biosciencejournal.net/archives/2025.v7.i1.A.91/>

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*, 2016, Article ID 5276130. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>

ALVAREZ-JUBETE, L., ARENDT, E. K., & GALLAGHER, E. (2023). Chia seed supplementation and inflammatory biomarkers: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Nutritional Science*, 12, e14.

AMINU A., IDRIS H.Y., MUHAMMAD A.A., et al. (2023). Phytochemical, Proximate and Elemental Analysis of Chia Seed (*Salvia hispanica L.*). *Biological and Environmental Sciences Journal for the Tropics*, 20(3).

B

BALOUIRI, M., SADIKI, M., & IBNSOUDA, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.

BOUDOUDA, R. (2015). Caractérisations biochimique, microbiologique et mutagenèse de *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de master : Génétique Moléculaire, Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine.

BENHAMDI, H. (2023). Analyse phytochimique et évaluation des propriétés pharmacologiques de plantes sahariennes. Mémoire de Master, Université de Ouargla.

BOTTAZZI, V. (1988). An introduction to rod-shaped lactic bacteria. *Biochimie*, 70, 303-315.

BURT, S. (2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.

- BRUNETON, J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Lavoisier-Tec & Doc.
- BOSE, P. K., & SARMA, P. S.** (1975). A study on the foaming capacity of saponins. *Indian Journal of Pharmacy*, **37**, 149–151.
- BOCHICCHIO., ROCCO., TIM D., PHILIPS., STELLA, L., ROSANNA, L., FERNANDA, G., ANTONIO, D., MICHELE, P., et MARIANA, A.** (2015). Innovative Crop Productions for Healthy Food: The Case of Chia (*Salvia Hispanica* L.). In *The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin*, édité par Antonella Vastola, 29-45. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16357-4_3.
- BÁNKI, O., ROSKOV, Y., DÖRING, M., OWER, G., HERNÁNDEZ ROBLES, D. R., PLATA CORREDOR, C. A., STJERNEGAARD JEPPESEN, T., ÖRN, A., PAPE, T., HOBERN, D., GARNETT, S., LITTLE, H., DEWALT, R. E., MA, K., MILLER, J., ORRELL, T., AALBU, R., ABBOTT, J., ADLARD, R., et al.** (2025). *Salvia hispanica* L., Catalogue of Life (Version 2025-04-10). Catalogue of Life, Amsterdam, Netherlands. <https://doi.org/10.48580/dgplc>
- BOTANIK, S.** (s.d.). *Planter et récolter soi-même du chia mexicain*. Consulté le 16 mai 2025, à l'adresse <https://www.saemereien.ch/blog-jardin/chia-mexicainGarten Shop+2>
- BREIDENSTEIN, E. B. M., De la FUENTE-NÚÑEZ, C., & HANCOCK, R. E. W.** (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in Microbiology*, **19**(8), 419–426. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>
- BOUDOUDA, R.** (2015). « Caractérisations biochimique, microbiologique et mutagenèse de *Pseudomonas aeruginosa* ». Mémoire de master : Génétique Moléculaire, Constantine: Université des Frères Mentouri Constantine.
- BARIR, O., et GHILANI, M.** (2011). « Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière ». Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire, Biskra: Université Mohamed khider-Biskra.
- BENMANSOUR, M.** (2012) Les Candidoses vulvo-vaginales à *Candida albicans*: Facteurs de risques, diagnostic mycologique et prévalence spécifique, pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID FAULTE DE MEDECINE, Tlemcen .

BOTTAZZI, V., (1988). An introduction to rod-shaped lactic bacteria, *Biochimie*,70:303- 315.

BELABBES, S.(2009). Antagonisme entre les bactéries mésophiles et les bactéries lactiques du genre *Lactococcus* isolées du lait de jument et recherche des bactériocines. These de Master ,spécialité:Microbiologie. Université Abou bakr Belkaid.43p

C

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. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.010>.

CHIRA, K., SUH, J. H., SAUCIER, C., & TEISSÉDRE, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, 75–82.

ĆUJIĆ, N., ŠAVIKIN, K., JANKOVIĆ, T., PLJEVLJAKUŠIĆ, D., ZDUNIĆ, G., & IBRIĆ, S. (2016). Optimisation de l'extraction des polyphénols à partir d'aronia séché. *Chimie alimentaire*, 194, 135-145.

COWAN, M. (1999). *Plant products as antimicrobial agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.

CUEVA, C., et al. (2010). *Antimicrobial effects of wine polyphenols against human intestinal bacteria*. *Food Chemistry*, 119(2), 820–825.

CHEN, L., DENG, H., CUI, H., FANG, J., ZUO, Z., DENG, J., LI, Y., WANG, X., & ZHAO, L. (2020). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>

CHICCO, A. G., D'ALESSANDRO, M. E., HEIN, G. J., OLIVA, M. E., & LOMBARDO, Y. B. (2009). Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in α -linolenic acid improves adiposity and normalizes hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *British Journal of Nutrition*, 101(1), 41–50. <https://doi.org/10.1017/S000711450899053X>

COATES, W. (2011). Whole and Ground Chia (*Salvia Hispanica L.*) Seeds, Chia Oil – Effects on Plasma Lipids and Fatty Acids. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 309-315. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10037-4>.

CHAKER H. (2012) « Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane ». Thèse de doctorat : Grenoble: Université de Grenoble : Science agricole.

CUSHNIE, T. P. T., & LAMB, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>

CHAUSSEAU, N. (2020). *Différence entre le chia noir et le chia blanc*. Retrieved from <https://nathaliechauseau.com/sante/difference-chia-noir-et-blanc/>

D

DAGLIA, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>.

DE ARAÚJO, F. F., DE PAULO FARIAS, D., NERI-NUMA, I. A., & PASTORE, G. M. (2021). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry*, 338, 127535.

DE VOS P., GARRITY G.M., JONES, D., KRIEG N.R, LUDWING, W.,RAINEY,F,A., SCLEIFER, K. H., WHITMAN, W.B. (2009) . *Bergey's manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: The Firmicutes*. Springer Dordrecht Heidelberg, USA.2ndEd.3:1450p.

DIB H., SELADJI M., BENCHEIKH F.Z., et al. (2021). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Salvia hispanica*. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(41 A), 167–174.

DIVYAPRIYA, G. K., VEERESH, D., & YAVAGAL, P. C. (2016). Evaluation of antibacterial efficacy of chia (*Salvia hispanica*) seed extract against *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter*

actinomycetemcomitans – An in-vitro study. International Journal of Ayurveda and Pharma Research, 4(4).

<https://ijapr.in/index.php/ijapr/article/view/325>

DI SAPIO, B. O., BUSILACCHI, M. H., QUIROGA, M., SEVERIN, C. (2012). Caracterización morfoanatómica de hoja, tallo, fruto y semilla de *Salvia hispanica* L. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 11(3), 249-268.

DENIS, F., POLY, M.C., MARTIN, C., BINGEN, E. et QUENTIN, R. (2007) Bactériologie médicale, technique usuelles. Masson, Cedex.; 333-335.

DELARRAS, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc Lavoisier ; 476.

DE ARAÚJO, F. F., DE PAULO FARIAS, D., NERI-NUMA, I. A., & PASTORE, G. M. (2021). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. Food Chemistry, 338, 127535.

E

EL ABED, D. (2007). Principes actifs des apiaceae. *Phyto Chem et Bio Sub journal*, Vol. 1, 1-6.

EYQUE, M. A., ALOUF, J., & MONTAGNIER, L. (1998). Traité de Microbiologie Clinique, Nevine EL SOLH, PICCIN NUOVA, Italie. P. 567-591.

ELHOMRI, N. (2022). *Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de quelques plantes médicinales du Maroc*. Thèse de doctorat, Université Mohammed V – Rabat.

ENGRAINETOI. (s.d.). *Graines Chia (Salvia hispanica)*. Consulté le 16 mai 2025, à l'adresse <https://www.engrainetoi.com/jardin-de-plantes-aux-vertues-medicinales/815-graines-chia-salvia-hispanica-seeds.htm>

ESSOY C.Y. (2013). « Étude épidémiologique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables d'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique. » Thèse de doctorat : Science agricole, Paris-sud: Université Paris-Sud.

EUZEBY, J. (1994) –mycologie médicale comparée. Les mycoses des animaux et leurs relations avec les mycoses de l'homme. Edition Fondation Marcel Mérieux, tome 2, Lyon, France, 251p.

F

FETNI, S., & BERTELLA, N. (2020). Étude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina*. *Nutr. Santé*, Vol. 09, N°02, 117-125.

FLANDROIS J.P. (1997). Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon, Foulongne.; 207.

G

GIADA, R., de L. M. (2013). Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases*. <http://dx.doi.org/10.5772/51687>.

GIÃO, M. S., GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L., RIVERO-PÉREZ, M. D., PEREIRA, C. I., PINTADO, M. E., & MALCATA, F. X. (2007). Infusions de plantes médicinales portugaises. *Journal des sciences de l'alimentation et de l'agriculture*, 105(07), 3519-3524.

GELLATLY, S. L., & HANCOCK, R. E. W. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and Disease*, **67**(3), 159–173. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12033>

GOMES, A. M. P., & MALCATA, F. X. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, **10**(4–5), 139–157. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00033-3)

GURUNG, N., RAY, S., BOSE, S., & RAI, V. (2013). A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. *BioMed Research International*, 2013, Article ID 329121. <https://doi.org/10.1155/2013/329121>

GHASEMIAN, M., OWLIA, S., & OWLIA, M. (2016). Review of anti-inflammatory herbal medicines. *Immunopathologia Persa*, 2(2), e05. <https://doi.org/10.15171/ipp.2016.05>

H

HAMIA, C., et al. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. *Annales des sciences et technologie*, Vol. 6, N° 1.

HENNEKINNE, J. A. (2009). Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à staphylocoques. Thèse, Université Agro Paris Tech.

HENNEBELLE T., SAHPAZ S., BAILLEUL F., (2004). Polyphénols végétaux, source, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, Vol. 1 : 3-6.

HAFIANE A. ET RAVAOARINORO M. (2008). « Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose ». *elsevier masson, Medecine et maladies infectieuses*.2008 ; 38 : 238 47.

HUGHES, R. L., & HILL, C. (2018). The human gut microbiome in health and disease. *British Medical Bulletin*, 126(1), 1–24. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldy015>

HERNÁNDEZ., (2012). Mucilage from chia seeds (*salvia hispanica*): microstructure, physicochemical characterization and applications in food industry.

HERNÁNDEZ-MORALES, L., ESPINOZA-GÓMEZ, H., FLORES-LÓPEZ, L. Z., et al. (2019). Study of the green synthesis of silver nanoparticles using a natural extract of dark or white *Salvia hispanica* L. seeds and their antibacterial application. *Applied Surface Science*, 489, 952–961. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.06.031>

HARBORNE, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Springer.

HRNČIČ, M. K., IVANOVSKI, M., ČÖR, D., & KNEZ, Ž. (2020). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview—Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules*, 25(1), 11.

HRNČIČ M.K., IVANOVSKI M., ČÖR D., KNEZ Ž. (2020). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview—Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules*, 25(1), 11.

I

IXTAINA, V. Y., NOLASCO, S. M., & TOMÁS, M. C. (2008). *Physical properties of chia (Salvia hispanica L.) seeds*. *Industrial Crops and Products*, 28(3), 286–293. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.03.009>

J

JIN, F., NIEMAN, D. C., SHANELY, R. A., KNAB, A. M., & AUSTIN, M. D. (2012). The effect of *Salvia hispanica* L. (chia seed) supplementation on inflammation and disease risk factors in overweight women. *Nutrition Research*, 32(6), 479–485. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.06.004>

JAMES, B. KAPER, NATARO, J. P., & MOBLEY, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, Pages 123-140.

JEAN-LOUIS, F., & JEAN-LOUP, A. (2002). *Bactériologie générale et médicale*. Ed. Ellipses Edition Marketing. Paris. P. 214-217.

JAQUES, A. (2009). *Nouvelles Approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à Staphylocoque à coagulase positive* Ed : F-94700 Maison Alfort

K

KARTHIK, K., et al. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*.

KEDI, P. B. E., et al. (2018). Eco-friendly synthesis and anti-inflammatory activity of silver nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 13, 8537.

KUMARA, N., & GOEL, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules. *Biotechnology Reports*, e00370.

KUMAR, RAJBHAR K., DAWDA H, & MUKUNDAN U. (2015). Polyphenols: methods of extractions. *Scientific Reviews and Chemical Communication*, 5(1), 1-6.

KNEZ HRNČIČ, M., IVANOVSKI, M., CÖR, D., & KNEZ, Ž. (2019). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): an overview—phytochemical profile, isolation methods, and application. *Molecules*, 25(1), 11.

L

LAURENT, S. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Polytechnica Paris. 307 p.

LUQUE DE CASTRO, M. D., & GARCÍA-AYUSO, L. E. (1998). Extraction Soxhlet. *Analytical Chemistry*, 369(1-2), 1-10.

LYCZAK, J. B., CANNON, C. L., & PIER, G. B. (2000). Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*, 2(9), 1051–1060. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01259-4](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01259-4)

LUGLI, G. A., MILANI, C., TURRONI, F., DURANTI, S., MANCABELLI, L., MANGIFESTA, M., ... & VENTURA, M. (2017). Comparative genomic and phylogenomic analyses of the Bifidobacteriaceae family. *BMC Genomics*, 18, 568. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3935-4>

LÓPEZ, ANDRÉS, X, ANDRÉS, G, et OROZCO, R. (2017). Chía (Salvia hispanica L.) situación actual y tendencias futuras* Chia (Salvia hispanica L.) current situation and future trends , 14.

M

MEGHIDAS I., MONZER H., DABBOUSSI F., BAIDA N., DANIEL I. (2003). « Taxonomie du genre Pseudomonas aeruginosa : Retrospective et actualité », Lebanese Science Journal. ; 5(1) : 115 -27.

MAHMOUDI, S., KHALI, M., & MAHMOUDI, N. (2013). Étude de l'extraction des composés phénoliques de la fleur d'artichaut. *Nature and Technologie*, 09, 35-40.

MARI, B. (2011). Recherche des effets antibactériens des bactéries lactiques sur SARM. Thèse de Master. Université du Québec à Montréal. 38 p.

MAXICOURS. (s.d.). Les différentes techniques d'extraction. <https://www.maxicours.com/se/cours/les-differentes-techniques-d-extraction/>

MENAT. (2006). Les polyphénols de thé, du vin et du cacao. *Phytothérapie*, Vol. 1, 40-45.

MUNGKALASIRI, J. (2009). Élaboration de dépôts nano composites TiO₂-M. Doctorat, Université de Toulouse. p. 14.

MUELLER-HARVEY, I., et al. (2018). Benefits of condensed tannins in forage legumes. *Crop Science*, 59, 861-885. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.06.0369>.

MOUATASSEM, B. (2018). Identification des Staphylococcus aureus Porteur du gène pvl. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. 32 p.

MOTYKA S., KUSZNIEREWICZ B., EKIERT H., et al. (2023). Comparative Analysis of Metabolic Variations, Antioxidant Profiles and Antimicrobial Activity of *Salvia hispanica* Extracts. *Molecules*, 28(6), 2728.

- MORALES-OLÁN G., ROJAS-LÓPEZ M., DÍAZ-REYES J., et al. (2020).** Effect of Ethanol and Methanol on the Total Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Chia Seeds. *Sains Malaysiana*, 49(6), 1283–1292.
- MI, J., LIU, Y., LI, Q., XU, Z., WANG, Y., LI, Y., & WANG, P. (2017).** Marine-derived actinomycetes: diversity, bioactive natural products and biological activities. *Marine Drugs*, 15(10), 315. <https://doi.org/10.3390/md15100315>
- MACIEL, M. A. M., PINTO, A. C., VEIGA JR, V. F., GRYNBERG, N. F., & ECHEVARRIA, A. (2002).** Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, 25(3), 429–438. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300026>
- MUÑOZ. LORETO A., ANGEL C., OLGA D., et JOSÉ M. (2013).** Chia Seed (*Salvia Hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Reviews International*, 29 (4), 394-408. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.818014>.
- MD Luque de Castro., LE GARCÍA-AYUSO. (1998).** Extraction Soxhlet de matériaux solides : une technique dépassée avec un avenir innovant prometteur. *Actes de chimie analytique*, 369(1-2), 1-10.
- MARIA, S., MARIA, L., MARIA, D., CLÁUDIA, I., MANUELA, E., XAVIER, F. (2007).** Infusions de plantes médicinales portugaises : dépendance de la capacité antioxydante finale et de la teneur en phénol sur les caractéristiques d'extraction. *Journal des sciences de l'alimentation et de l'agriculture*, 105(07), 3519-3524.
- 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, 171956.
- MIZUSHIMA, Y., & KOBAYASHI, M. (1968).** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 20(3), 169-173.
- N**
- NACZK, M., & SHAHIDI, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523–1542.

NICOLAS, C. (2016). Épidémiologie des candidoses profondes. Thèse de pharmacie, Université de Rouen. 200 p.

NOVEL, G. (1993). Les bactéries lactiques. In *Microbiologie industrielle*. Lavoisier. pp. 170-374.

NADA ČUJIĆ , K., ŠAVIKIN , T., JANKOVIĆ, D., ZDUNIĆ, G., IBRIĆ, S. (2016). Optimisation de l'extraction des polyphénols à partir d'aronia séché en utilisant la macération comme technique traditionnelle. *Chimie alimentaire*, 194 , 135-145.

NIEMAN, D. C., GILLITT, N. D., JIN, F., HENSON, D. A., KENNERLY, K., SHANELY, R. A., & CIALDELLA-KAM, L. (2012). Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. *Nutrition Research*, 32(6), 473–481. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.05.003>

NUEVA F. (1874). *Pharmacopée mexicaine adoptant le système métrique décimal*. Imprimerie du Gouvernement, Palais National, Mexique.

O

OROIAN, M., & ESCRICHE, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.

P

PANCHE, A. N., DIWAN, A. D., & CHANDRA, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.

PASCALE, P. (2013). Typage de *Staphylococcus aureus* par MLVA. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine. 121 p.

POPA, V. I., AGACHE, C., BELECA, C., & POPA, M. (2002). Polyphenols from spruce bark. *Crop Research*, 24, 398–406.

- POPA, V. I., DUMITRU, M., VOLF, I., & ANGHEL, N.** (2008). Lignin and polyphenols. *Industrial Crops and Products*, 27, 144–149.
- PONCE, A. G., FRITZ, R., DEL VALLE, C., & ROURA, S. I.** (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00061-6](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00061-6)
- POUDYAL, H., PANCHAL, S. K., WAANDERS, J., WARD, L. C., & BROWN, L.** (2012). Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(2), 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.10.008>
- POKUSAEVA, K., FITZGERALD, G. F., & VAN SINDEREN, D.** (2011). Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes & Nutrition*, 6(3), 285–306. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0206-6>
- POUNEH K.** (2009). « Formation de Biofilm à Pseudomonas aeruginosa: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing ». Thèse de doctorat : Microbiologie: Université de Toulouse.
- R**
- RAUTER, A. P., et al.** (2012). Natural products as leads for anti-inflammatory drugs. *Phytochemistry Reviews*, 11(2–3), 261–275.
- REBIAHI, S. A.** (2012). Caractérisation de Staphylococcus aureus antibiorésistants. Thèse, Université de Tlemcen, Algérie. 118 p.
- REYES-CAUDILLO, E., TECANTE, A., & VALDIVIA-LÓPEZ, M. Á.** (2008). Chia seeds and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 107(2), 656–663. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.074>.
- RIHANE, K., & BENLAHARCHE, R.** (2013). Activité antibactérienne des polyphénols. Mémoire de Master, Université Mentouri Constantine.
- RIBEREAU-GAYON, P.** (1968). Les composés phénoliques des végétaux. DUNOD, Paris, 254 p.

RUPASINGHE, H. V., NAIR, S. V., & ROBINSON, R. A. (2014). Chemopreventive properties of fruit phenolics. *Studies in Natural Products Chemistry*, 42, 229-266.

RAJBHAR K., DAWDA H., MUKUNDAN U., (2015). polyphenols: methods of extractions. *Scientific Reviews and Chemical Communication*. 5(1):1-6.

RUPASINGHE, H. V., NAIR, S. V., & ROBINSON, R. A. (2014). Chemopreventive properties of fruit phenolic compounds and their possible mode of actions. *Studies in natural products chemistry*, 42, 229-266

S

SIMOPOULOS, A. P. (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(6), 495–505. <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719248>

SANGEETHA, G., & VIDHYA, R. (2016). In vitro anti-inflammatory activity of *Pedaliium murex*. *Inflammation*, 4(3), 31-36.

SARGI, S. C., et al. (2013). Antioxidant capacity and composition in omega-3 seeds. *Food Science and Technology*, 33(3), 541-548.

SANTI, M. M., et al. (2010). Phenolic acids in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling & Behavior*, 5(4), 359-368.

SEGAL, E. (2005). Candida: where are we going? *Mycoses*, 48 Suppl1, 3-11.

SUDBERY, P., GOW, N., & BERMAN, J. (2004). Morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 12(7), 317-324.

SEGURA-CAMPOS, M. R., CIAU-SOLÍS, N., ROSADO-RUBIO, G., CHEL-GUERRERO, L., & BETANCUR-ANCONA, D. (2014). Chemical and functional properties of chia seed (*Salvia hispanica* L.) gum. *International Journal of Food Science*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/241053>

SOSA, A., RUIZ, G., RANA, J., GORDILLO, G., WEST, H., SHARMA, M., & TORRE, R. R. (2016). Chia crop (*Salvia hispanica* L.): its history and importance as a source of polyunsaturated fatty acids omega-3 around the world: a review. *J Crop Res Fert*, 1, 1-9.

STEFFOLANI, EUGENIA., ESTHER H., GABRIELA P., et MANUEL G. (2014). Effect of Chia (*Salvia Hispanica L*) Addition on the Quality of Gluten-Free Bread: Effect of Chia on Gluten-Free Bread Quality. *Journal of Food Quality*, 37 (5), 309-317. <https://doi.org/10.1111/jfq.12098>

Science Source. « Find art america [en ligne] ». Find art america. 2016. Disponible sur: <https://fineartamerica.com/featured/1-mdr-pathogen-pseudomonas-aeruginosa-sciencesource.html>. 2016.

T

TSIMOGIANNIS, D., & OREOPOULOU, V. (2019). Classification of Phenolic Compounds. *Polyphenols in Plants*, 263-284.

TOUATIA, R. (2016). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. Thèse de Doctorat. Université Badjit Mokhtar – Annaba. 105 p.

TEOH, S. L. (2016). Current trends in the usage of traditional herbs for diabetes mellitus. *Medicinal & Aromatic Plants*, 5(5), 1–5. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000251>

Triple Performance. (s.d.). *Chia*. Consulté le 16 mai 2025, à l'adresse <https://wiki.tripleperformance.fr/wiki/Chia>

U

ULLAH, R., NADEEM, M., KHALIQUE, A., IMRAN, M., MEHMOOD, S., JAVID, A., & HUSSAIN, J. (2016). Perspectives nutritionnelles et thérapeutiques de la chia (*Salvia hispanica L.*) : une revue. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1750–1758. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1967-0>

V

VINDEROLA, G., GUEIMONDE, M., GOMEZ-GALLEGO, C., DELFEDERICO, L., & SALMINEN, S. (2017). Correlation between in vitro and in vivo assays in selection of probiotics from traditional species of lactic acid bacteria. *Frontiers in Microbiology*, **8**, 531. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00531>

VALDIVIA-LÓPEZ, MA. ÁNGELES., & ALBERTO T. (2015). Chia (*Salvia Hispanica*) . In *Advances in Food and Nutrition Research*, **75**, 53-75. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.06.002>.

VAUZOUR, D., VAFEIADOU, K., RODRIGUEZ-MATEOS, A., RENDEIRO, C., & SPENCER, J. P. E. (2010). The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. *Genes & Nutrition*, **3**(3-4), 115–126. <https://doi.org/10.1007/s12263-008-0091-4>

VT.ENSEIGNE.AC-LYON.FR. (2008, 6 juin). *Méthode de l'immunodiffusion ou test d'Ouchterlony*. <https://vt.enseigne.ac-lyon.fr/spip/?Methode-de-l-immunodiffusion-ou-test-d-Ouchterlony>

VIJAYAKUMAR, R., DEVI, V., & SATHYA, M. (2016). Recent advances in natural product discovery from marine microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, **7**, 1450. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01450>

VUKSAN, V., WHITHAM, D., SIEVENPIPER, J. L., JENKINS, A. L., ROGOVIK, A. L., BAZINET, R. P., VIDGEN, E., & HANNA, A. (2007). Supplementation of conventional therapy with the novel grain *Salvia hispanica* (chia) reduces cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*, **30**(11), 2804–2810. <https://doi.org/10.2337/dc07-1144>

W

WALID ZEGHBIB, F., BOUDJOUAN, M., & BACHIR-BEY. (2022). Optimisation des composés phénoliques d'*Opuntia ficus indica*. *Journal de mesure et de caractérisation des aliments*, **16**, 1354-1366.

WALKER, J. B., SYTSMA, K. J., TREUTLEIN, J., & WINK, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, **91**(7), 1115-1125p.

Y

YOUCEF –ALI M. (2014). Etude de l'activité anti-Candida albicans des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse pour le diplôme de doctorat en troisième cycle en Biotechnologies, Biologie et Environnement, Université Constantine 1, 131p.

Z

ZHENG, X., ZHANG, C., CHEN, H., & LI, J. (2021). Recent progress on the pharmacological potential of secondary metabolites from microorganisms. *Journal of Fungi*, 7(2), 108. <https://doi.org/10.3390/jof7020108>

ZAIKA, L. L. (1988). *Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. Journal of Food Safety*, 9(2), 97–118. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.1988.tb00511.x>