

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques (D04)

Spécialité : Toxicologie et Sécurité Alimentaire

Présenté par :

ATMANI Fouzia

Thème

**Effet antibactérien du mélange des fruits de
Phoenix dactylifera L. et des graines de *Lepidium sativum***

Soutenu publiquement le 04/07/2019

Jury:

Président: M^{me} GOURCHALA F.

Encadreur: M^{me} MIHOUB F.

Examineur: M^{me} LAKHDAR TOUMI S.

Grade

MCA

MCA

MCB

Année universitaire : 2018-2019

Remerciements

Avant tous, je remercie ALLAH qui m'a éclairé le chemin du savoir et qui m'a donné la volonté d'achever ce travail.

Je tiens à remercier ma promotrice M^{me} MIHOUB F pour m'avoir guidé dans ce travail, ainsi que pour sa patience, sa disponibilité permanente, sa gentillesse et pour ses précieux conseils.

Je remercie vivement les membres du jury : M^{me} GOURCHALA F et M^{me} LAKHDAR TOUMI S. qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer notre travail.

Aux personnel du laboratoire de la faculté SNV en particulier, les ingénieurs du laboratoire Mr SAID K, Mr BENHELIMA A, Mr AOUALI H, Mr REGHIOUI B, M^{elles} ABED S, BENSATAL H, et SOUALMI K, qui m'ont beaucoup aidé à réaliser ce travail dans de bonnes conditions.

Mes remerciements vont spécialement à M^{elle} ABBES S pour son accueil au laboratoire et pour ses précieux conseils, sa disponibilité et sa patience.

Enfin, à tous les enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements pour la qualité de votre enseignement.

Je remercie aussi tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ma formation.

DEDICACE

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...?

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...?

Ainsi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux.

A ma mère AICHA qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau .Ni sacrifices, ni privatisations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ces enfants.

A mon cher père ADDA qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

Que dieu vous procure santé, prospérité et bonheur...

A mes chers frères et sœurs et leurs enfants que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit plein succès.

A tous les membres de ma famille pour leur aide et leur soutien que dieu vous protège et vous préserve.

SOMMAIRE

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des annexes	iii
Liste des abréviations	iv
Introduction	1
I. Généralités sur <i>Lepidium sativum</i>	3
I.1. Description botanique	3
I.2. Noms vernaculaires	4
I.3. Classification botanique	4
I.4. Composition	4
I.5. Effets thérapeutiques	4
II. Matériel et Méthodes	6
II. 1. Objectifs de l'étude	6
II.2. Lieu et période du travail	6
II.3. Matériel	6
II.3.1. Matériel végétal	6
II.3.1.1. Les dattes	6
II.3.1.2. Les graines de <i>L.sativum</i>	7
II.3.2. Matériel biologique	7
II.3.3. Matériel de laboratoire et produits utilisés	7
II.4. Méthodes.....	9
II.4.1. Protocole expérimental	9
II.4.2. Analyses morphométriques des dattes	10
II.4.3. Analyses physicochimiques	10

II.4.3.1. pH.....	10
II.4.3.2. Acidité titrable	10
II-4-3-3- Teneur en eau	11
II-4-3-4- Taux de cendres	12
II.4.4. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	12
II.4.4.1. Choix des variétés de dattes.....	12
II.4.4.2. Préparation des extraits	12
II.4.4.3. Choix des souches.....	13
II.4.4.4. Préparation des souches	13
II.4.4.5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de dattes, graines de <i>L.s</i> et dattes/graines de <i>L.s</i>	16
II.4.4.6. Analyses statistiques	18
III. Résultats et Discussion	19
III.1. Résultats des analyses sur les dattes	19
III.1.1. Analyses morphométriques	19
III.1.1.1. Critères dimensionnels	19
III.1.1.2. Critères pondéraux.....	21
III.1.1.3. Rendement en pulpe	22
III.1.2. Analyses Physicochimiques des dattes.....	23
III.1.2.3. pH et acidité titrable	23
III.1.2.1. Teneur en eau	24
III.1.3. Inventaire	25
III.2. caractérisation physicochimique des graines de <i>L.s</i>	27
III.2.1. Limite de l'étude.....	27
III.2.2. pH	27
III.2.2. Teneur en eau	27
III.2.3. Taux de cendres	27

III.3. Analyses microbiologiques	28
III.3.1. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	28
III.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits	29
III.3.2.1. Témoins négatifs	29
III.3.2.2. Témoins positifs (antibiogramme)	29
III.3.2.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode d'incorporation	30
III.3.2.4. Sensibilité des souches aux extraits méthanolique et aqueux des dattes, de la graine de <i>L.s</i> et des mélanges (technique des puits).....	31
III.3.2.5. Effet de trois variétés, la graine de <i>L.s</i> et de leur mélange sur la croissance des souches	32
III.3.2.6. Analyses statistiques.....	33
III.3.2.7. Comparaison de sensibilité des extraits avec les antibiotiques	33
III.3.2.8. Discussion de l'activité antibactérienne des différents extraits	35
Conclusion.....	37
Références Bibliographiques.....	38
Annexes	45
Résumé	

LISTE DES FIGURES

Figure N° 01: Photo de <i>L.sativum</i>	03
Figure N° 02: Schéma du protocole expérimental.....	09
Figure N° 03: Paramètres dimensionnels des 11 variétés de dattes étudiées.....	20
Figure N° 04: Paramètres pondéraux des 11 variétés de dattes étudiées.....	21
Figure N° 05: Rendement en pulpe des 11 variétés de dattes étudiées.....	22
Figure N° 06: Inventaire des 11 variétés de dattes étudiées.....	25
Figure N° 07: Coloration de Gram chez <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	29
Figure N° 08: Témoins positifs pour <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	29
Figure N° 09: Comparaison des diamètres d'inhibition entre les extraits bruts des dattes de <i>L.s</i> et leurs mélanges et la Cefoxitin vis-à-vis <i>E.coli</i>	33
Figure N° 10: Comparaison des diamètres d'inhibition entre les extraits bruts des dattes de <i>L.S</i> et leurs mélanges et la Cefoxitin vis-à-vis <i>S.aureus</i>	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N° 01 : Différents groupes phytochimiques dans l'extraits aqueux et méthanoliques de graine de <i>L.s</i>	03
Tableau N° 02 : Les variétés de dattes étudiées.....	06
Tableau N° 03 : Appareillage et verreries.....	07
Tableau N° 04 : Réactifs et milieux de culture.....	08
Tableau N° 05 : Les différents antibiotiques utilisés.....	17
Tableau N° 06 : Paramètres morphométriques des variétés de dattes étudiées.....	19
Tableau N° 07 : Paramètres physicochimiques des différentes dattes étudiées.....	23
Tableau N° 08 : Paramètres physicochimiques de <i>L.sativum</i>	27
Tableau N° 09 : Résultats des tests d'identification des souches <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	28
Tableau N° 10 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les deux souches.....	30
Tableau N° 11 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour les deux souches.....	31
Tableau N° 12 : La sensibilité des deux souches vis-à-vis les extraits méthanoliques et aqueux.....	32

LISTE DES ANNEXES

Annexe N° 01 : Composition des milieux de culture.....	45
Annexe N° 02 : Méthode de coloration de Gram.....	47
Annexe N° 03 : Témoins positifs.....	48
Annexe N° 04 : Diamètres d'inhibitions des différents extraits (Méthode des puits)...	49
Annexe N° 05 : Méthode d'incorporation sur gélose.....	51
Annexe N° 06 : Les différentes photos des graines de <i>L.s.</i>	54

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA	Analysis of variance
ATB	Antibiotiques
ATCC	American Type Culture Collection
CASFM	Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration minimale inhibitrice
D	<i>Deglet Nour</i>
E.coli	<i>Escherichia coli</i>
FAO	Food and Agricultural Organization
H	<i>H'mira</i>
L.D	Mélange <i>Deglet Nour/Lepidium sativum</i>
L.H	Mélange <i>H'mira/Lepidium sativum</i>
L.s	<i>Lepidium sativum</i>
L.T	Mélange <i>Tamesrit/Lepidium sativum</i>
MO (%)	Teneur en matière organique
ONPG	Orthonitrophényl- β -galactoside
S.aureus	<i>Staphylococcus aureus</i>
T	<i>Tamesrit</i>
TC (%)	Taux de cendres
TDA	Tryptophane-désaminase
TE (%)	Teneur en eau
TSI	Triple Sugar Iron

Introduction

Introduction

Le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. est un arbre d'un grand intérêt jouant un rôle important dans la vie économique et sociale des populations des zones arides et semi-arides de par le monde (Ghiaba et al., 2012). L'Algérie avec sa richesse en palmiers dattiers, est classée au 3^{ème} rang mondial avec une production annuelle moyenne estimée à 1044077 tonne par an (FAOSTAT, 2019). De plus, elle détient un patrimoine phoenicicole très diversifié avec un nombre de cultivars qui renferme près de 1000 cultivars (Hannachi et al., 1998). Cependant, son exploitation tant sur le plan alimentaire traditionnel et artisanal reste très insuffisante (Mechraoui et Belkhadem, 2009). Dans le domaine pharmacologique, on connaît quelques utilisations des dattes en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies et certaines infections microbiennes (Harrak et Boujnah, 2012; Vayalil, 2012 ; Belguedj, 2015). La datte en plus d'être un excellent aliment de grande valeur nutritive et énergétique (Al-Shahib et Marshall, 2003; Benchelah et Maka, 2008), elle peut avoir plusieurs vertus thérapeutiques (Vayalil, 2012 ; Mansouri et al., 2005).

Lepidium sativum est connu localement sous le nom de «hab el-rachad», appartenant de la famille de *Brassicaceae* (*Cruciferae*) (Manohar et al., 2012; Behrouzian et al., 2014 ; Sharma et Agarwal, 2011). Les plantes et les graines de *L. sativum* sont considérées comme l'une des herbes médicinales populaires utilisées dans les communautés d'Arabie saoudite, du Soudan et de certains autres pays arabes comme l'Algérie en tant que bon médiateur pour la guérison des fractures osseuses du squelette humain (Mahassni et Khudauardi, 2017). Un certain nombre d'études récentes ont mis en évidence les utilisations traditionnelles de l'extrait de graines de *L. sativum* pour le traitement de nombreux problèmes cliniques comme la diarrhée et d'autres maladies (Al-Hamedan, 2010 ; Gilani et al., 2013 ; Rehman et al., 2012).

D'autre part, l'émergence du phénomène d'antibiorésistance constitue un des facteurs de préoccupation majeure de santé publique, ce qui a incité les chercheurs à trouver autres alternatives naturelles qui substituent l'utilisation abusive des antibiotiques (Cushnie et Lamb, 2011 ; Sudano et al., 2004).

Le mélange dattes/graines de *L.s* est connu en médecine traditionnelle en Algérie pour leurs diverses vertus surtout pour soulager la douleur et l'enflure des articulations rhumatismales. A notre connaissance, l'utilisation de cette mixture pour le traitement de certaines infections bactériennes n'a pas fait objet d'études scientifiques.

C'est dans cette optique que nous avons posé la question :

Est-ce que la pulpe de dattes, la graine de *L.sativum* seule et/ou la mixture datte-graines de *L.s* ont des effets antibactériens ?

Pour répondre à cette problématique, nous nous sommes fixé comme objectifs :

-Déterminer l'effet antibactérien de la pulpe de quelques variétés de dattes en mélange avec des graines de *Lepidium sativum* vis-à-vis deux souches bactériennes choisies.

Pour ce faire, nous avons commencé par :

- une détermination de quelques caractéristiques morphométriques et physicochimiques de certaines variétés de dattes algériennes en vue d'établir un inventaire ;
- une caractérisation physicochimique de la graine de *L.sativum*. ;
- une évaluation *in vitro* de l'effet antibactérien des extraits méthanoliques et aqueux de la pulpe des dattes, de la graine de *L.s* et de la mixture pulpe de datte/graines de *L.s* sur la viabilité des deux souches bactériennes choisies.

Chapitre I

Généralités sur *Lepidium sativum*

I. Généralités sur *Lepidium sativum*

I.1. Description botanique

L. sativum, Le cresson alénois, appartenant à la famille des *Brassicaceae*. C'est une plante annuelle de croissance rapide, à saveur âcre, dont la tige haute de 20 à 50 cm est dressée et rameuse. Les feuilles inférieures sont pennées, alors que les feuilles supérieures sont linéaires et entières. Les fleurs sont petites et blanches. Les fruits sont des graines. Elles sont petites et de structure lisse, ovales, pointues et triangulaires à une extrémité, environ 3- 4 mm de longueur, 1-2 mm de largeur allongée de couleur brune rougeâtre. Un sillon présent sur les deux surfaces s'étendant jusqu'aux deux tiers vers le bas, une légère aile semblable à une extension présente sur les deux bords de la graine. En trempant dans l'eau, l'enveloppe de la graine gonfle et se recouvre de mucilage transparent et incolore au goût mucilagineux (Bigoniya et al., 2011 ; Gokavi et al., 2004).

Lepidium sativum (cresson de jardin) est originaire d'Égypte et du sud-ouest de l'Asie, mais elle est maintenant cultivée dans l'ensemble du monde spécialement dans l'Amérique du Nord, Inde et l'Europe (Sharma et Agrawal, 2011). Localement connu sous le nom de " Hab el rashad" ou "Thufa", qui est un herbe comestible avec arôme acidulé (Ahsan et al., 1989 ; Rahman et al., 2004).

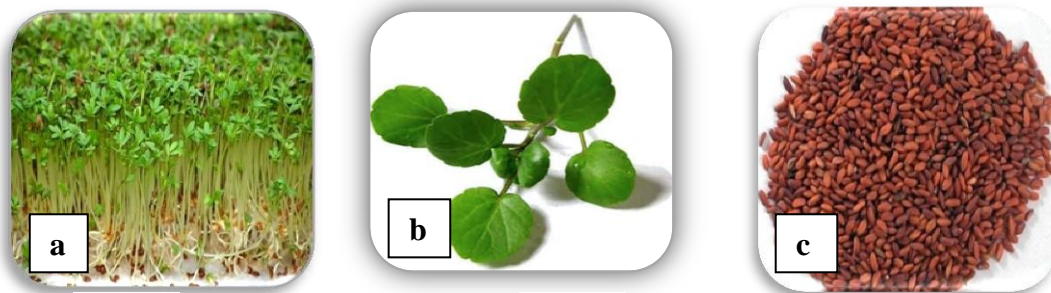


Figure N° 01 : Photo de *L. sativum* (plante(a), feuille (b) et graine (c))

(Source Google, 2019)

I.2. Noms vernaculaires

Noms communs de *Lepidium sativum* (Shail et al., 2016)

Français: Cresson alénois, Passerage cultivée, cresson de jardin et Cressonnette.

Anglais: Garden Cress, land cress, pepper cress et common cress.

Arabe: "Hab el-rashad" ou "Thufa".

I.3. Classification botanique

La classification botanique est donnée par Raval et Pandya, (2016) comme suit :

Règne : Végétale

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Capparales

Famille : Brassicaceae

Genre : *Lepidium*

Espèce : *Lepidium sativum*.

I.4. Composition

Les graines de *L.sativum* constituent une source riche en protéines, fibres alimentaires, vitamine C et des minéraux tels que le potassium, le phosphore, le calcium et le fer.

Tableau N°01 : Différents groupes phytochimiques dans l'extraits aqueux et méthanoliques de graine de *L.s* (Bigoniya et al., 2011)

Groupes chimiques Extraits	Alcaloïdes	Muclage	Tanins	Saponosides	Stéroïdes	Tepenoïdes	Flavonoïdes
	Extrait aqueux	-	+	-	-	-	+
Extrait méthanolique	+	-	+	-	-	+	+

+ : présence ; - : absence

I.5. Effets thérapeutiques

Lepidium sativum est une plante médicinale efficace contre de nombreuses maladies. Les graines de *L.s* sont utilisées dans le domaine pharmaceutique et médicinal pour leurs propriétés antibactériennes, anti-hypertensives, antioxydants, antispasmodiques, antidiarrhiques, anti-asthmatiques et hypoglycémiques (Behrouziane et al., 2014 ; Asad Ullah et al., 2019). Elles ont aussi des propriétés technologiques intéressantes suite à la formation de gel (Behrouziane et al., 2014). Dans la médecine traditionnelle, diverses parties

de cette plante ont été utilisées pour le traitement de la jaunisse, des problèmes de foie, des troubles gastro-intestinaux, des problèmes menstruels, des fractures, de l'arthrite et autres états inflammatoires (Al-Asmari et al., 2014; Al-Marzoqi et al., 2016; Sosa et al., 2016; Kadhim et al., 2016).

-Les feuilles de cette plante sont également utilisées comme diurétique et anti-scorbutique (Patel et al., 2000 ; Eddouks et al., 2002).

-Les graines cuites dans du lait sont utilisées chez les femmes qui allaitent pour augmenter la sécrétion de lait et soulager les flatulences (Yadav et al., 2010). En outre, La pâte graines est appliquée aux articulations rhumatismales pour soulager la douleur et le gonflement (Datta et al., 2011). Les graines moulues et bouillies sont utilisées dans les préparations des boissons avec du miel ajouté (Wadhwa et al., 2012).

Un certain nombre d'études récentes ont mis en évidence les utilisations traditionnelles de l'extrait des graines de *L.sativum* comme laxatif, apéritif, tonique et émulsif (Rehman et al., 2011; Sharma et Agrawal, 2011 ; Doke et Guha, 2014).

Il est essentiel que les graines soient utilisées aux doses thérapeutiques recommandées et pendant une durée appropriée, car elles contiennent des substances toxiques à des doses élevées et connues, bien qu'il n'y ait pas de consensus sur les doses sûres (Al-Yahya et al., 1994 ; Datta et al., 2011).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II. Matériel et Méthodes

II. 1. Objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet antibactérien du mélange des dattes *Phoenix dactylifera L.* et des graines de *Lepidium sativum* vis-à-vis deux souches bactériennes *E.coli* et *S.aureus*. Pour ce faire, nous avons fixés certains objectifs spécifiques :

- Réalisation d'un inventaire de 11 variétés provenant de différentes régions du sud algérien par l'étude de quelques caractéristiques morphométriques et physicochimiques.
- Détermination de quelques caractéristiques physicochimiques de la graine de *L.sativum*.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et aqueux de trois variétés de datte, de la graine de *L.s* et du mélange pulpe/graines de *L.s* sur la viabilité de deux souches bactériennes choisies.

II.2. Lieu et période du travail

Notre travail a été effectué au sein des laboratoires de : Microbiologie, Technologie Alimentaire, Biochimie et Physiologie végétale de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Ibn khaldoun -Tiaret-. Il s'est étalé sur une période de trois mois allant du février jusqu'à mai 2019.

II.3. Matériel

II.3.1. Matériel végétal

II.3.1.1. Les dattes

L'étude a porté sur 11 variétés de dattes provenant de différentes régions du sud algérien (**tableau N° 02**), qui ont été récoltés au stade « *Tmar* » pendant la saison 2018. Les différentes dattes ont été achetées dans le commerce et conservées à 4 °C dans des sacs hermétiques jusqu'à l'analyse.

Tableau N° 02 : Les variétés des dattes étudiées

Variétés	Provenance
<i>H'mira 1- Deglet Nour- Feggous- Blah- Agrab- Halwadji- Brimo- Ajwa 1</i>	Biskra
<i>Tamesrit</i>	Ouargla
<i>H'mira 2</i>	Bechar
<i>Ajwa 2</i>	Ghardaïa

II.3.1.2. Les graines de *L.sativum*

Les graines de *Lepidium sativum* ont été achetées chez un commerçant dans la ville de Tiaret. L'appellation scientifique a été vérifiée par un botaniste M^f Sarmoum enseignant de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie -Tiaret-. Les graines de *L.s* ont été triées puis broyées en poudre et conservées à l'abri de la lumière.

II.3.2. Matériel biologique

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits, deux souches bactériennes de référence : une bactérie Gram - (*E.coli* ATCC 25922) et une bactérie Gram + (*S.aureus* ATCC 25923) fournies par le laboratoire de microbiologie au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie -Tiaret-. Les deux souches ont été conservées par congélation dans le glycérol.

II.3.3. Matériel de laboratoire et produits utilisés

Les différentes verreries, appareillage, réactifs et milieux de culture utilisés dans notre travail sont mentionnés dans le **tableau N° 03** et **04**.

Tableau N°03 : Appareillage et verreries.

Appareillage	Verreries
Agitateur (IKARCT BASIC)	Béchers
Autoclave (WOLF)	Boîtes de Pétri
Bain-marie (MEMMERT)	Creusets
Balance analytique (KERN)	Dessiccateur
Etuve (MEMMERT)	Entonnoirs
Four à moufle (HERAEUS)	Eprouvettes
Four Pasteur (MEMMERT)	Erlenmeyer
Microscope optique (B-350 OPTIKA)	Fiole à vide
pH-mètre (HANNA)	Lames et lamelles
Pied à coulisse (MASTERCRAFT)	Mortier à pilon
Plaque chauffante (STUART)	Pipettes graduées

Tableau N° 04 : Réactifs et milieux de culture

Réactifs	Milieux de culture
Antibiotiques (Voir Tableau N° 05)	Bouillon nutritif
Disques d'ONPG	Gélose Chapman
Disques Oxydase,	Gélose Citrate de Simmons
Eau distillée (H ₂ O)	Gélose Mac Conkey
Eau oxygénée (H ₂ O ₂)	Gélose mannitol-mobilité
Eau physiologique (0,9% NaCl)	Gélose Muller-Hinton
Ethanol à 96%	Gélose TSI
Fuschine (C ₂₀ H ₂₀ CLN ₃)	(Pour la composition des différents milieux voir annexe N° 01).
Huile à immersion	
Hydroxyde de Sodium (NaOH)	
Lugol	
Méthanol (CH ₃ OH) à 96%	
Phénol phtaléine	
Violet de gentiane (C ₂₅ H ₃₀ CLN ₃)	

II.4. Méthodes

II.4.1. Protocole expérimental

Les différentes étapes de cette étude sont résumées dans la **Figure N° 02** :

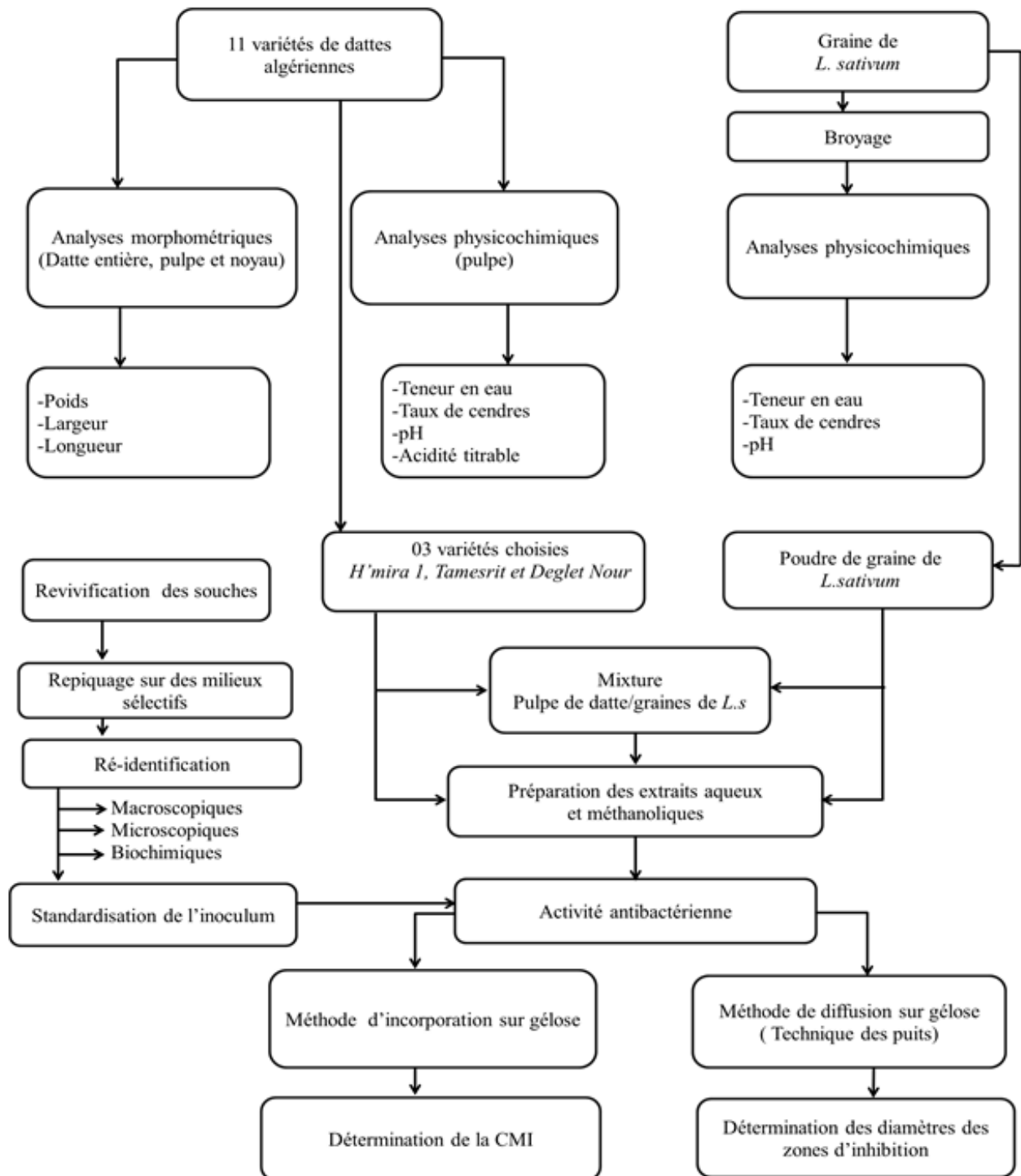


Figure N°02 : Schéma du protocole expérimental

II.4.2. Analyses morphométriques des dattes

Pour chaque variété, les analyses morphométriques sont réalisées sur 20 fruits prélevés au hasard sur lesquels ont été déterminées:

- La longueur et la largeur de datte entière à l'aide d'un pied à coulisse;
- Le poids de la datte entière, de sa pulpe et de son noyau à l'aide d'une balance analytique à une précision $\pm 0.01\text{g}$.

II.4.3. Analyses physicochimiques

Pour chaque paramètre, les essais ont été réalisés en triplicata. La valeur est exprimée en moyenne \pm S.D (écart type).

Les analyses physicochimiques ont concernés la pulpe de datte et la graine de *L.sativum*.

II.4.3.1. pH

a. Principe

Le pH est mesuré par un pH-mètre dont sa valeur est en fonction de la concentration des ions hydronium présents dans la solution (AOAC, 2002)

b. Mode opératoire

Etalonner l'appareil avec des solutions tampons (pH de 7 et 4). Peser dans un bécher, environ 10 g d'échantillon (pulpe de datte écrasée ou graines de *L.s* moulues), ajouter 100 ml d'eau distillée, garder une agitation mécanique pendant 5 minutes pour homogénéiser le mélange. Plonger les électrodes du pH-mètre dans le bécher et faire la lecture lorsque l'afficheur est stable (AOAC, 2002).

c. Expression des résultats

Pour déterminer la valeur du pH, on réalise une lecture directe sur l'appareil.

II.4.3.2. Acidité titrable

a. Principe

L'acidité titrable est déterminée par neutralisation de l'acide présent dans une quantité connue (poids ou volume) d'échantillon en utilisant une base (NaOH). L'évaluation se fait par titrage en utilisant un indicateur de couleur ; phénol phtaléine (Nielsen, 2010).

b. Mode opératoire

L'acidité titrable a été mesurée par neutralisation de l'acidité totale libre contenue dans 25 ml de jus obtenu à partir de la solution préalablement préparée pour le dosage du pH (pulpe de datte écrasée) avec une solution de NaOH (0.1 N) jusqu'à atteindre un pH de 8.1 en présence de phénol phtaléine comme indicateur de couleur (AOAC, 2002).

c. Expression des résultats

L'acidité titrable exprimée par rapport à la teneur en acide malique, il est calculée par la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable (\%)} = [V * N * 10 * F / P] * 100$$

Dont :

V : Volume d'hydroxyde de sodium utilisé dans l'évaluation (ml) ;

N : Normalité de l'hydroxyde de sodium (0.1 N) ;

F : Facteur de conversion de l'acide malique qui égal à 0.067 ;

P : Poids du fruit (g).

II-4-3-3- Teneur en eau**a. Principe**

La teneur en eau est mesurée en déterminant la perte de poids de l'échantillon après séchage dans l'étuve (AOAC, 2000).

b. Mode opératoire

Dans des creusets séchés, 2g du broyat sont placés dans l'étuve à 105 °C pendant 3 heures. Après séchage, les creusets ont été retirés, placés dans un dessiccateur jusqu'à refroidissement puis pesés. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn) (AOAC, 2000).

c. Expression des résultats

La teneur en eau est calculée par la formule donnée par AOAC, (2000) :

$$\text{TE (\%)} = [P_1 - P_2 / P_0] * 100$$

Dont :

TE : Teneur en eau (%) ;

P₀ : Poids de la prise d'essai (g) ;

P₁ : Poids du creuset + échantillon avant étuvage (g) ;

P₂ : Poids du creuset + échantillon après étuvage (g).

II-4-3-4- Taux de cendres

a. Principe

L'échantillon est incinéré dans un four à moufle à haute température (600 °C) jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtre à poids constant (Nielsen, 2010).

b. Mode opératoire

Dans des capsules en porcelaine, 2g du broyat sont placées dans un four à moufle à 600 °C pendant 5 heures. Les capsules ont été placées dans un dessiccateur puis pesées (AOAC, 2000).

c. Expression des résultats

Le taux de cendre est calculé par la différence de poids avant et après incinération par la formule suivante :

$$\text{MO (\%)} = [(P_1 - P_2) / P_0] * 100$$

Dont :

MO (%) : Teneur en matière organique

P₀ : Poids de la prise d'essai (g) ;

P₁ : Poids des creusets + échantillon avant incinération (g) ;

P₂ : Poids des creusets + échantillon après incinération (g).

La teneur en cendres est calculée selon la relation :

$$\text{TC(\%)} = 100 - \text{MO(\%)}$$

Où :

TC : Taux de cendres (%).

II.4.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

II.4.4.1. Choix des variétés de dattes

Sur les 11 variétés, trois variétés selon la disponibilité (*H'miral* de Biskra, *Deglet Nour* et *Tamesrit*) ont été retenues pour les analyses microbiologiques.

II.4.4.2. Préparation des extraits

Les extraits ont été réalisés sur la pulpe de datte, la graine de *L.sativum* et le mélange pulpe/graines de *L.s.*

- Extrait aqueux : 10g du broyat de chaque échantillon ont été ajoutés à 100 ml d'eau distillée puis placés sous agitation. Le résidu est extrait dans les mêmes conditions deux autres fois après filtration. Les extraits des graines de *L.sativum* ont subi une

filtration sous vide. Les différents filtrats sont mélangés pour l'obtention d'un extrait brut.

- **Extrait méthanolique** : 10g du broyat de chaque échantillon ont été ajoutés à 50 ml de méthanol puis placés sous agitation pendant 2 h en répétant l'extraction deux autres fois successives après filtration sur papier filtre. les trois filtrats sont mélangés pour l'obtention d'un extrait brut.

Tous les extraits bruts ont été concentrés sous vide en éliminant les solvants par évaporateur rotatif et conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

Remarque : le mélange datte/graines de *L.s* a été préparé en remplaçant le noyau de datte par la graine de *L.sativum* (poids de noyau = poids de *L.sativum*).

Afin de reconstituer les différents extraits, nous avons retenus comme diluant ; l'eau distillée stérile pour les extraits aqueux et le méthanol pour les extraits méthanoliques. Pour l'évaluation de l'effet antibactérien des différents extraits de dattes, de la graine de *L.s* et du mélange datte/graines de *L.s* ; deux concentrations sont testés (extrait pure et sa dilution 1/2).

II.4.4.3. Choix des souches

Le choix a porté sur deux souches fréquentes en pathologie humaine, une bactérie à Gram+ : *Staphylococcus aureus* et une bactérie à Gram- : *Escherichia coli*. Elles sont souvent responsables de toxi-infections alimentaires constituant ainsi un problème majeur de santé publique par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens (Delarras, 2007).

II.4.4.4. Préparation des souches

a. Revivification des souches

Les deux souches congelées dans du glycérol ont été revivifiées à température du laboratoire environ 2 h dans un bouillon nutritif et incubées à 37 °C pendant 18 heures. Ensuite, elles ont été repiquées dans leurs milieux sélectifs par la méthode des stries (Chapman pour *S. aureus* et Mac Conkey pour *E. coli*). Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies caractéristiques (Guiraud, 1998).

b. Ré-identification des souches

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques des deux souches.

❖ Examen morphologique✓ Examen macroscopique

Il permet d'observer à l'œil nu les caractères culturels des colonies obtenues sur un milieu solide (taille, forme, élévation, transparence, surface, consistance et pigmentation)(Delarras, 2007).

✓ Examen microscopique• **Examen à l'état frais**

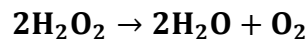
Il permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mobilité (Delarras, 2007).

• **Coloration de Gram**

C'est la coloration de base en bactériologie, elle permet de distinguer les bactéries Gram positif et Gram négatif, cette distinction est fondamentale pour leur identification bactérienne (Delarras, 2007) (Voir Annexe N° 02).

❖ Tests biochimiques✓ **Test catalase**Principe

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en H₂O et en oxygène qui se manifeste par un dégagement de gaz (Delarras, 2007).

Technique

Déposer une goutte d'eau oxygénée Sur une lame propre et séchée, puis à l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter l'inoculum bactérien. Observer immédiatement.

Lecture

- Catalase + : apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène.
- Catalase - : pas de bulles.

✓ **Test oxydase**Principe

L'oxydase ou Cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes (Delarras, 2007).

Technique

À partir d'un milieu solide, prélever une quantité suffisante de culture à l'aide d'une pipette Pasteur et la déposer sur le disque d'oxydase placé sur une lame propre.

Lecture

- Oxydase + : une coloration "violette foncée" apparaît immédiatement sur le disque en quelques secondes puis vire au noir.

- Oxydase - : absence de coloration.

✓ Test ONPGPrincipe

Le test ONPG permet de mettre en évidence la β -galactosidase qui dégrade l'ONPG en produit coloré (l'orthonitrophénol: ONP) (**Marchal et al., 1982**).

Technique

Prélever une petite quantité de la suspension bactérienne et faire une suspension dense dans 0.5ml d'eau distillée stérile, puis déposer un disque ONPG à l'aide d'une pince stérile et incubé 30 min et atteindre jusqu'à 24h à 37°C (**Delarras, 2007**).

Lecture

-ONPG + : apparition d'une coloration jaune.

-ONPG - : absence de coloration.

✓ Test mannitol-mobilitéPrincipe

Le milieu « Mannitol-Mobilité» est utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries basée sur la fermentation du mannitol, sur la mobilité et sur la réduction des nitrates en nitrites (**Delarras, 2007**).

Technique

Ensemencer une suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur, par piqûre centrale, jusqu'au fond du tube de gélose. Incuber 18 à 24 heures à 37°C.

Lecture

- La fermentation du mannitol provoque un virage au jaune du milieu.

- Les bactéries mobiles envahissent tout le milieu à partir de la piqûre centrale.

Ensuite, on effectue une lecture au spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625 nm pour standardiser à 0,5 Mac Farland, on admet une densité optique comprise entre 0,08 et 0,13 correspondant à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml. L'inoculum a été, par la suite, dilué au $1/100^{\text{ème}}$ pour *E.coli* et au $1/10^{\text{ème}}$ pour *S.aureus* (Andrews, 2008).

b. Tests de témoins positifs et négatifs

Deux témoins de sensibilité pour les 2 souches bactériennes (*E.coli* et *S.aureus*) sont réalisés.

-Témoins négatifs : l'eau distillée et le méthanol.

-Témoins positifs : des antibiotiques de référence sont utilisés (Tableau N° 05)

Tableau N° 05 : Les différents antibiotiques utilisés

ATB	Charge (µg)	ATB	Charge (µg)
Ceftazidime (CA)	30	Gentamicin (GEN)	10
Cephalothin (CEP)	30	Amoxicillin (AMX)	25
Colistin (CL)	10	Cefoxitin (FOX)	30
Cephazolin (CZ)	30	Co-trimoxazole (COT)	25
Fostomycin (FO)	200	Erythromycin (E)	15
Metronidazole (MTZ)	5	Ciprofloxacine (CIP)	5
Nalidixic Acid (NA)	30	Tétracycline (TE)	30
Oxacillin (OX)	1		

c. Méthode d'incorporation sur gélose

Elle repose sur l'homogénéisation du milieu de culture avec l'extrait testé pour la détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI).

1.5 ml d'extrait à tester est introduit dans 13.5 ml de gélose Muller Hinton liquéfiée, bien homogénéisé le mélange au vortex pendant quelques secondes, ensuite couler dans des boîtes de Pétri stériles. Après la solidification du milieu, l'ensemencement des souches est réalisé en surface (100µl) à l'aide d'une pipette Pasteur en râteau. Enfin les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

On note la plus petite concentration de l'extrait testée qui inhibe la croissance du germe étudié ; c'est la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) (Taudou, 1990).

d. Méthode de diffusion en milieu gélosé (Technique de puits)

Elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition (Sacchetti et al., 2005).

Dans des boîtes de Pétri, un volume de 20 ml du milieu gélosé Mueller Hinton en surfusion a été déposé jusqu'à solidification complète du milieu. 0.1 ml de l'inoculum

standardisé est inoculé en surface sur la gélose à l'aide d'une micropipette et ensemencé par râteau. Toutes les boîtes ont été séchées pendant quelques minutes à température ambiante. Des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Ces puits ont été remplis avec 50 µl de nos extraits (méthanolique et aqueux) à l'aide d'une micropipette. Les boîtes de Pétri ont été maintenues 15 minutes à une température de 25°C puis incubées à 37°C/ 24 heures. Chaque essai a été répété deux fois.

L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure, à l'aide d'un pied à coulisse, des diamètres des zones claires (en millimètres) qui se forment autour des puits (**Rios et al., 1988**).

e. Paramètres de l'activité antibactérienne

❖ Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI d'un antibiotique correspond à sa plus faible concentration qui inhibe la Croissance visible d'une souche bactérienne (**Delarras, 2007**).

❖ Pourcentage d'inhibition (I%)

Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule donnée par **Pibiri, (2006)** :

$$I\% = d / D \times 100$$

Où :

D: le diamètre de la boîte de Pétri (cm) ;

d: le diamètre d'inhibition mesurable au pied à coulisse (le diamètre des puits est inclus).

II.4.4.6. Analyses statistiques

Les résultats des analyses effectuées sont exprimés à l'aide du logiciel « Excel 2007 » en moyenne ± S.D (l'écart type). La variabilité, entre les extraits de dattes selon les différents paramètres étudiés, est déterminée par le test ANOVA suivie du test de Duncan pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification :

- Si $P > 0,05$, on parle d'une différence non significative.
- Si $P \leq 0,05$, on parle d'une différence significative.
- Si $P \leq 0,01$, on parle d'une très significative.
- Si $P \leq 0,001$, on parle d'une différence hautement significative.

Ces analyses statistiques ont été réalisées par le biais d'un logiciel STATISTICA (Version 8).

Chapitre III

Résultats et Discussion

III. Résultats et Discussion

III.1. Résultats des analyses sur les dattes

III.1.1. Analyses morphométriques

Les résultats des analyses morphométriques des 11 variétés de dattes étudiées (diamètre, longueur et poids de la datte entière, poids de la pulpe et du noyau) sont représentés dans le **tableau N° 06**.

Tableau N°06 : Paramètres morphométriques des variétés de dattes étudiées

Paramètre Variété	Diamètre (cm)	Longueur (cm)	Poids Datte entière (g)	Poids Pulpe (g)	Poids Noyau (g)	Rendement en pulpe (%)
<i>Tamesrit</i>	2.11 ±0.20	3.43±0.20	7.64±0.88	6.79±0.90	0.87±0.12	88.92
<i>Feggous</i>	2.33±0.13	4.55±0.31	22.66±4.09	21.76±3.99	0.84±0.17	96.02
<i>Blah</i>	1.80±0.10	4.21±0.12	12.77±1.52	11.48±1.51	0.94±0.22	89.94
<i>Agrab</i>	1.95±0.03	4.31±0.12	13.06±1.41	12.05±1.33	0.93±0.13	92.22
<i>Deglet Nour</i>	1.91±0.23	3.79±0.29	10.34±1.26	9.44±1.18	0.87±0.10	91.23
<i>Halwadji</i>	1.39±0.04	2.59±0.09	3.35±0.23	2.44±0.18	0.84±0.20	72.84
<i>Brimo</i>	1.60±0.20	3.46±0.09	7.80±0.66	6.84±0.67	0.80±0.12	87.73
<i>Ajwa 1</i>	2.36±0.24	2.60±0.14	9.36±1.05	8.16±1.00	1.12±0.29	87.22
<i>H'mira 1</i>	1.84±0.21	3.86±0.38	8.64±2.20	7.73±2.07	0.87±0.20	89.49
<i>Ajwa 2</i>	1.90±0.11	3.36±0.16	6.33±1.19	5.16±1.16	1.08±0.13	81.60
<i>H'mira 2</i>	1.57±0.09	3.46±0.14	7.70±1.77	6.84±1.71	0.87±0.15	88.81
P value	0.00***	0.00***	0.00***	0.00***	0.000000***	

***: hautement significatif ($P \leq 0.001$)

III.1.1.1. Critères dimensionnels

D'après le **Tableau N°06**, les résultats obtenus montrent que la longueur et le diamètre des 11 variétés de dattes varient de manière hautement significative ($P \leq 0.001$).

La longueur moyenne des variétés varie entre 2.59 à 4.55 cm avec une moyenne de 3.6 cm. On remarque que les variétés *Feggous*, *Blah* et *Agrab* présentent les dattes les plus longues par rapport aux autres variétés avec des valeurs moyennes de 4.55, 4.31 et 4.21 cm respectivement. La variété qui présente la longueur la plus petite est celle de *Halwadji* soit

2.59 cm. Nos résultats sont proches de ceux donnés par **Bettahar et Bettayeb (2017)** (2.6 à 4.6 cm) pour autres variétés des dattes algériennes et de ceux de **Markhand et al. (2010)** (2 à 6 cm) pour des dattes pakistanaises.

Concernant le diamètre, il varie entre 1.39 cm pour *Halwadji* et 2.36 cm pour *Ajwa Iqui* provient de Biskra avec une moyenne de 1.89 cm (**Figure N° 03**). Nos résultats se trouvent dans la gamme donnée par **Acourene et al. (2014)** soient (1.22 et 2.65 cm). D'autres travaux réalisés sur des dattes iraniennes ont montré des résultats supérieurs aux nôtres concernant le diamètre, soient 2.35 à 3.14 cm (**Jahromi et al., 2008**). Alors que **Sulieman et ses collaborateurs (2012)** ont trouvés des valeurs légèrement inférieures aux nôtres pour des cultivars soudanaises (1.38 à 1.82 cm).

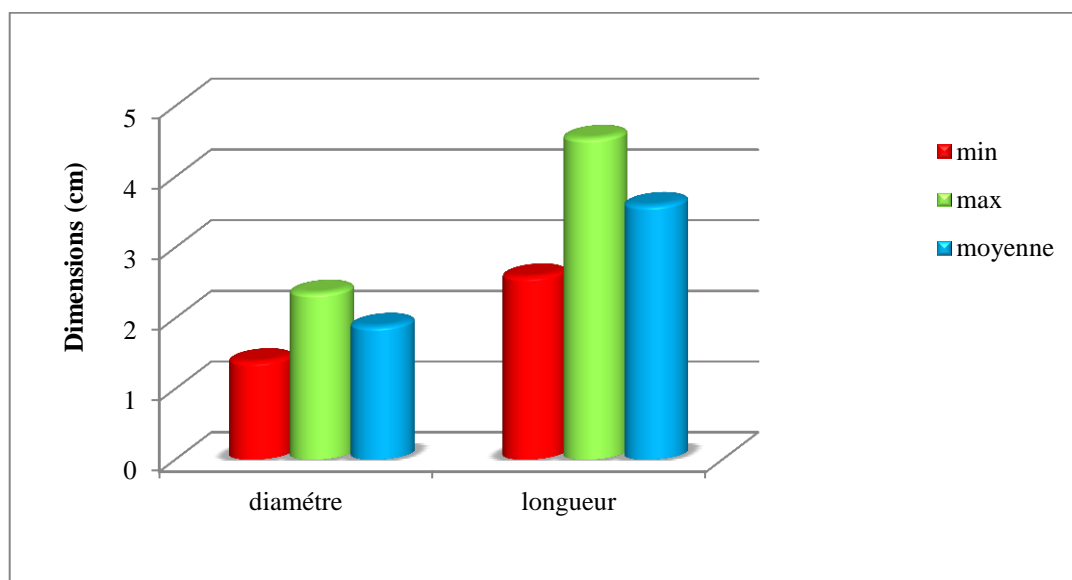


Figure N°03 : Paramètres dimensionnels des 11 variétés de dattes étudiées

III.1.1.2. Critères pondéraux

Les résultats obtenus pour les poids de la datte, de la pulpe et du noyau montrent des différences hautement significatives ($P=0.0000$), ils varient de 3.35 à 22.66 g avec une moyenne de 9.97 g pour le poids de la datte entière, de 2.44 à 21.76 g avec une moyenne de 8.97 g pour le poids de la pulpe et de 0.80 à 1.12g avec une moyenne de 0.91 g pour le poids du noyau. La variété *Halwadji* présente les poids de la pulpe (2.44 g) et de la datte entière (3.35) les plus faibles, alors que le cultivar *Feggous* a donné des poids élevés soient 22.66 et 21.76 g. Concernant le poids moyen du noyau le plus faible a été pour la variété *Brimo* de 0.80 g.

Nos valeurs se situent dans les gammes données par certains auteurs concernant le poids de la datte qui varie de 2 à 6 g (**Harrak et Boujnah, 2012**), le poids de la pulpe 4.73 et 22.52 g (**Bettahar et Bettayeb, 2017**) et le poids du noyau 0.45 à 1.61g (**Acourene et al., 2014**).

La variabilité des différents paramètres morphométriques (dimensionnels et pondéraux) pourrait être expliquée par certains paramètres les facteurs édaphiques, climatiques et génétiques (**Munier, 1973**).

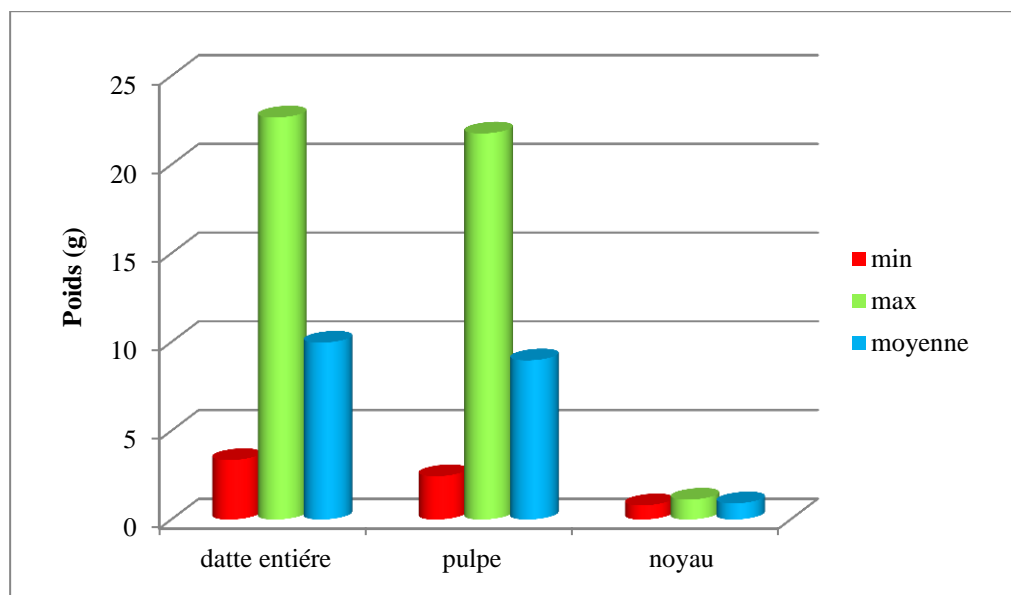


Figure N°04 : Paramètres pondéraux des 11 variétés de dattes étudiées

III.1.1.3. Rendement en pulpe

La **figure N°05** montre que le rendement en pulpe varie de 72.84 à 96.02 % avec une moyenne de 87.82 %. Ces valeurs sont proches de celles données **Boumediene et al. (2018)** (80 à 93 %) pour autres variétés algériennes. Les variétés les plus charnues *Feggous* (96.02 %), *Agrab* (92.22 %) et *Deglet Nour* (91.23 %) sont très intéressantes du point de vue qualitatif du fait qu'elles présentent des rendements supérieurs à 90 % (**Munier, 1973**).

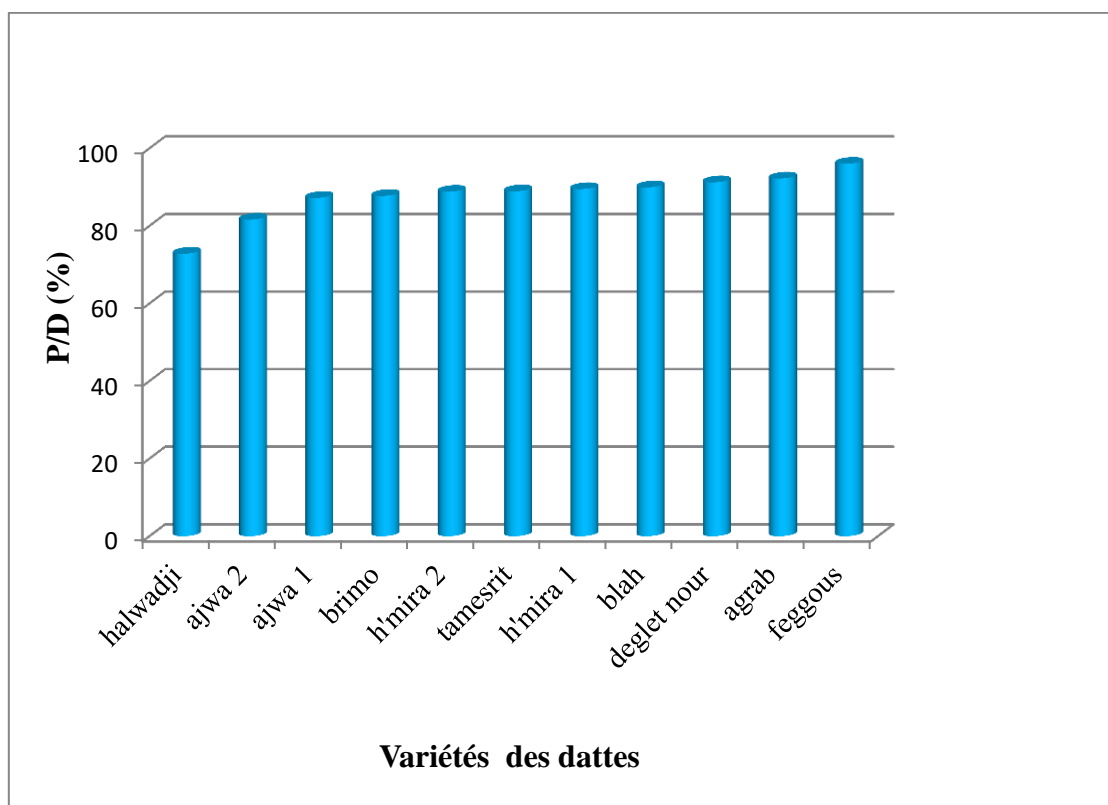


Figure N° 05 : Rendement en pulpe des 11 variétés de dattes étudiées

III.1.2. Analyses Physicochimiques des dattes

Les différents paramètres physicochimiques : teneur en eau, taux de cendres, pH et acidité titrable sont mentionnés dans le **tableau N°07**.

Tableau N°07 : Paramètres physicochimiques des différentes dattes étudiées

Paramètre Variété	Teneur en eau (%)	Taux de cendres (%)	pH	Acidité titrable (%)
<i>Tamesrit</i>	15.46±0.54	1.75±0.14	5.80±0.01	0.67±0.07
<i>Feggous</i>	17.89±0.80	2.83±0.50	5.08±0.01	0.40±0.00
<i>Blah</i>	18.86±0.87	1.56±0.21	6.06±0.01	0.36±0.04
<i>Agrab</i>	16.51±0.91	1.70±0.06	6.57±0.01	0.34±0.00
<i>Deglet Nour</i>	25.94±1.45	1.59 ±0.05	5.76±0.01	0.63±0.04
<i>Halwadji</i>	8.72±0.53	2.63±0.09	5.70±0.01	0.51±0.04
<i>Brimo</i>	13.10±1.58	1.61±0.09	6.31±0.01	0.27±0.00
<i>Ajwa 1</i>	14.63±2.75	2.00±0.07	5.34±0.02	0.25±0.31
<i>H'mira 1</i>	12.07±1.92	1.75±0.13	6.37±0.23	0.40±0.00
<i>Ajwa 2</i>	14.26±1.19	2.27±0.39	4.85±0.01	1.05±0.08
<i>H'mira 2</i>	14.04±0.75	1.82±0.36	5.60±0.01	0.40±0.00
P value	0.000000***	0.000007***	0.00***	0.000000***

***: hautement significatif ($P \leq 0.001$)

Les valeurs des différents paramètres montrent des variations hautement significatives ($P \leq 0,001$) pour les 11 variétés de dattes étudiées (**Tableau N°07**).

III.1.2.3. pH et acidité titrable

Les pH obtenus pour les différentes variétés s'étendent sur un intervalle allant de 4.85 pour *Ajwa 2* à 6.57 pour *Agrab* avec une moyenne de 5.76. Nos valeurs se situent dans la gamme de pH allant de 4.78 à 6.72 obtenue pour d'autres variétés algériennes (**Bettahar et Bettayeb, 2017**) et proches de celles des dattes marocaines (**Bellaouchi et al., 2017**) qui varient entre 4.8 à 6.4.

En ce qui concerne l'acidité titrable; les valeurs sont comprises entre 0.25 à 1.05% pour *Ajwa 1* et *Ajwa 2* respectivement avec une moyenne de 0.48 %. Nos résultats sont largement inférieurs à ceux rapportés par **Al-Farsi et al. (2005)** qui a trouvé des valeurs s'étendent de 1.9 à 2.7 %.

L'acidité titrable et le pH renseignent sur l'état physique du fruit. Une forte acidité est souvent associée à une mauvaise qualité de dattes, ce qui traduit par une difficulté à la conservation (**Booij et al., 1992**).

III.1.2.1. Teneur en eau

Les valeurs trouvées oscillent entre 8.72 % pour *Halwadji* à 25.94 % pour *Deglet Nour* avec une moyenne de 15.58 %. Ces valeurs sont proches de celles trouvées par **Boukhed et Bouda (2018)** ; 7.97 à 25.20 % pour des dattes algériennes et de celles de **Chaira et al., (2009)** pour la variété tunisienne de *Deglet Nour* 26.68 % .

Le teneur en eau peut varier pour la même variété selon les conditions climatiques telles que la température, l'humidité relative de l'air ainsi que les techniques culturales telles que l'irrigation (**Hussein et Hussein, 1983**) et les conditions de l'environnement de chaque cultivar (**Acourene et al., 2001 ; Babahani et Eddoud, 2012**) . Ce paramètre est très important pour la qualité des dattes puisqu'il détermine les conditions de leur conservation (**Noui, 2007**).

III.1.2.2. Taux de cendres

Les variétés des dattes présentent des teneurs en cendres allant de 1.56 % pour *Blah* à 2.83 % pour *Feggous* respectivement avec une moyenne de 1.95 %. Ces teneurs sont similaires à celles rapportés par **Gourchala et al. (2015)** soient de 1.59 à 2.87 % pour des cultivars algériens.

La teneur en cendres dépend de la nature du sol, de leur amendement, de sa composition minérale et des techniques de culture (**Acourene et al., 2014**).

III.1.3. Inventaire

Suite à l'étude morphométriques et physicochimiques réalisés, un inventaire a été établi et présenté dans la **figure N°06**.

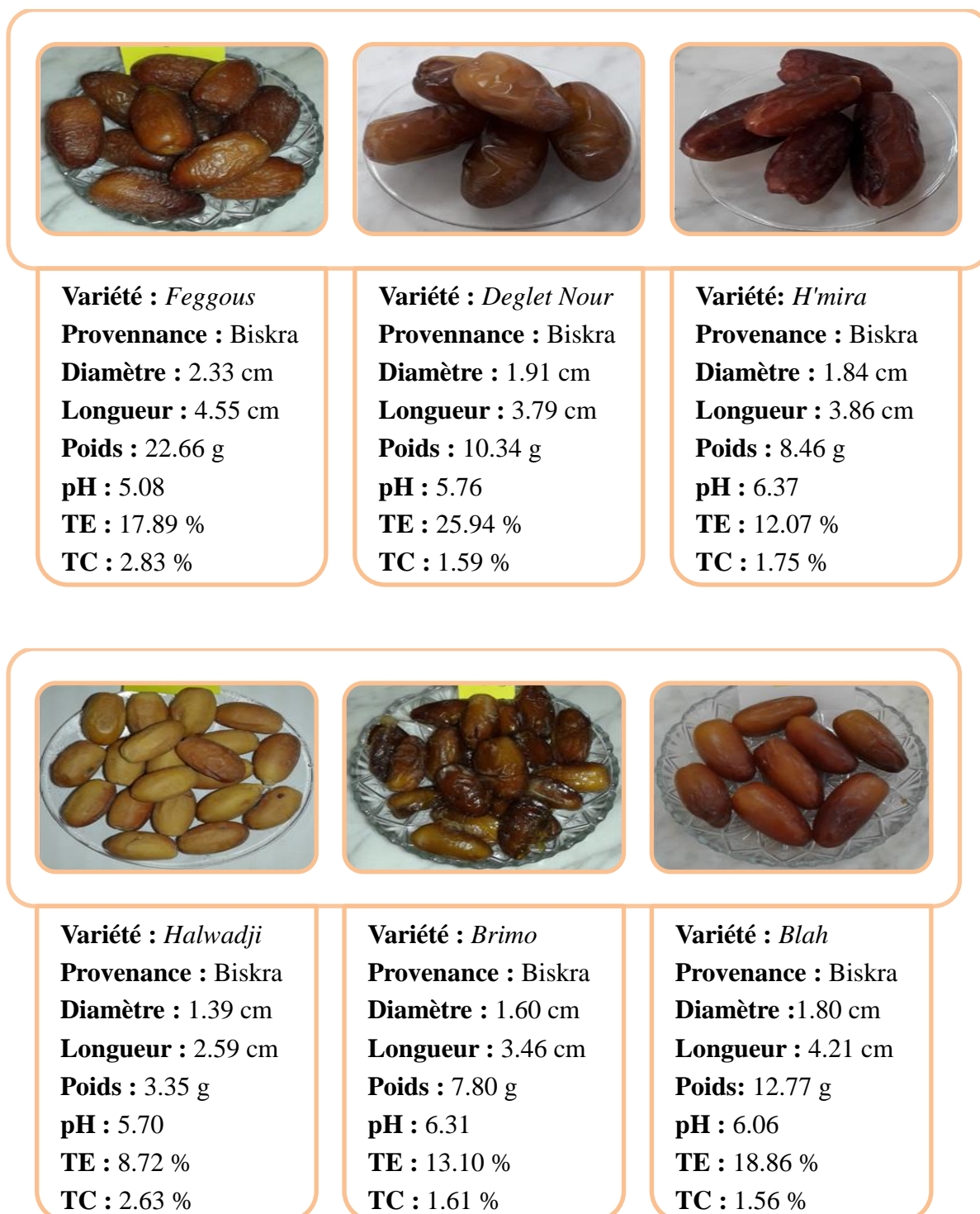


Figure N° 06 : Inventaire des 11 variétés des dattes étudiées

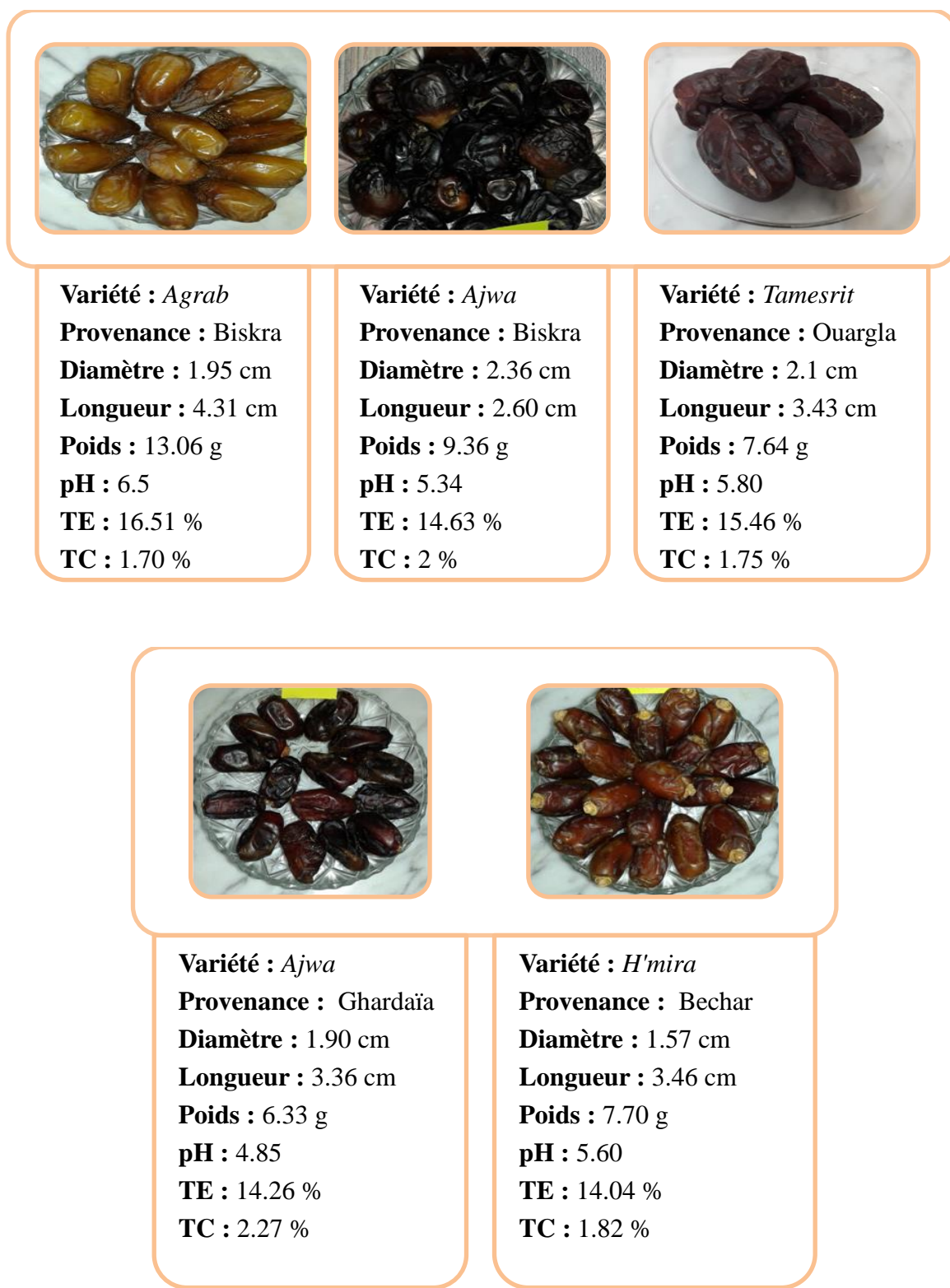


Figure N° 06 (suite) : Inventaire des 11 variétés des dattes étudiées

III.2. caractérisation physicochimique des graines de *L.s*

III.2.1. Limite de l'étude

Suite aux difficultés rencontrées lors de l'expérimentation avec les graines de *L.sativum*, les méthodes utilisées lors des différentes analyses physicochimiques de la pulpe de datte ont été adaptés à la graine.

Les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques de la poudre des graines de *L.sativum* sont regroupés dans le **tableau N° 08**.

Tableau N° 08 : Paramètres physicochimiques des graines *L.sativum*

Teneur en eau (%)	Taux de cendres (%)	pH
5.50±0.06	4.62±0.06	5.97± 0.02

III.2.2. pH

D'après le **tableau N° 08**, pH des graines de *L.s* est de 5.97. Cette valeur est proche de celle enregistrée par **Behrouzian et al. (2014)** qui est de 6.2.

III.2.2. Teneur en eau

La teneur en eau moyenne est de 5.5 %. Elle est légèrement différente comparativement à celle obtenue par **Ghedeir et al. (2017)** et celle de **Zia-Ul-Haq et al. (2012)** de 4.89 et 6.73 % respectivement. Alors que **Karazhian et al. (2011)** et **Halaby et al. (2015)** ont trouvés des taux d'humidités supérieures aux nôtres (7.17 et 6.73 %) respectivement. La composition d'humidité varie selon la variété de la plante, pratiques agricoles, le stade de récolte de la graine et les conditions climatiques et géologiques (**Zia-Ul-Haq et al., 2011**).

III.2.3. Taux de cendres

La valeur moyenne obtenue est de 4.62 %. Elle est très proche de celle trouvée par **Zia-Ul-Haq et al. (2012)**(4.25 %) mais elle est légèrement inférieure au résultat trouvé par **Ghedeir et al. (2017)** qui est de 5.83 % et largement inférieure à celle de **Karazhian et al. (2011)** (11.5 %).

La teneur en cendres indique que les graines de *L.s* sont une source appréciable de minéraux (**Halaby et al., 2015**).

III.3. Analyses microbiologiques

III.3.1. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Les résultats de confirmation des deux souches bactériennes utilisées sont résumés dans le **tableau N° 09** pour *E.coli* et *S.aureus* respectivement.

Tableau N° 09 : Résultats des tests d'identification des souches *E.coli* et *S.aureus*

Souche \ Caractéristiques		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
Morphologiques	Aspect macroscopiques des colonies	Colonies rondes, roses (Mac Conkey), lisses et bombée ; à bord irrégulier	Colonies rondes, jaunes ou dorés (Chapman), lisses et bombée ; à bord régulier.
	Aspect microscopiques des colonies	Coccobacilles, Gram-, mobiles.	Coques en amas sous forme de grappe de raisin, Gram+, immobile
Biochimiques	Catalase	+	+
	Oxydase	-	-
	ONPG	+	-
	Citrate de Simmons	-	-
	Mannitol mobilité	Mannitol+, Mobilité +	Mannitol+ Mobilité -
	TSI	Glucose + Lactose/Saccharose + H ₂ S – et Gaz +	Glucose + Lactose/Saccharose - Gaz -

+ : présence ; - : absence

Les résultats de l'identification morphologique et biochimique classique de la souche *E.coli* (**Tableau N° 09**) montre qu'elle a la forme d'un coccobacille à Gram négatif (**Figure N° 07**), oxydase négative, catalase positive, citrate de Simmons négatif et ONPG positive. Elle fermente le glucose, le mannitol avec réduction de nitrate en nitrite et une production de gaz. Ces résultats répondent à ceux donnés par **Hart et Shears (1997)**.

Les résultats de l'identification microscopique et biochimique de *S.aureus* cités dans le **Tableau N° 09** correspondent à ceux mentionnés par **Hart et Shears (1997)**. Ce sont des coques à Gram+, disposés en grappe de raisin (**Figure N° 07**), immobiles et catalase +. Il fermente le mannitol et le glucose sans production de gaz.

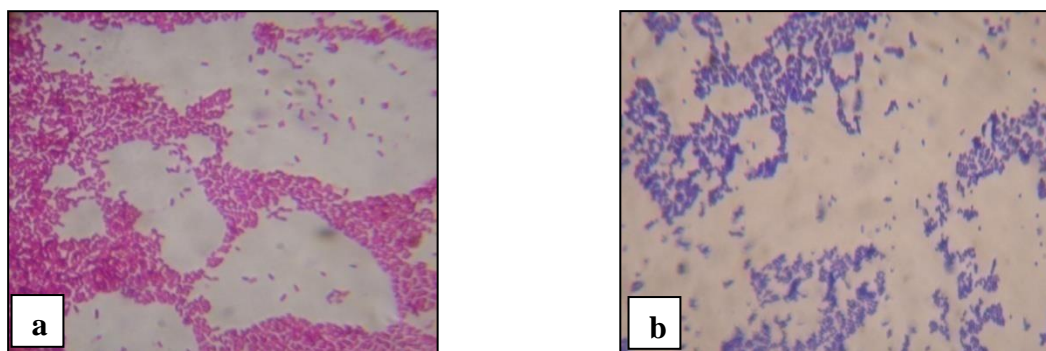


Figure N° 07 : Coloration de Gram chez *E. coli* (a) et *S.aureus* (b) (G×100)
(Source : photo prise lors de l'expérimentation)

III.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits

Pour étudier l'effet antibactérien, trois variétés parmi les 11 ont été choisies (*H'miral* de Biskra, *Tamesrit* et *Deglet Nour*), la graine *L.sativum* ainsi que le mélange datte/graines de *L.s* ont été également retenues. Des extraits aqueux et méthanoliques ont été préparés pour évaluer l'activité antibactérienne par la méthode d'incorporation et la méthode de diffusion sur gélose (technique des puits).

III.3.2.1. Témoins négatifs

Des témoins négatifs ont été effectués pour confirmer l'absence de l'effet antibactérien dans l'eau distillée et le méthanol.

III.3.2.2. Témoins positifs (antibiogramme)

Pour s'assurer de l'activité des deux souches, des témoins positifs ont été réalisés en utilisant des antibiotiques classiques (**Figure N° 08**). Le **tableau N° 10** montre les diamètres des zones d'inhibition des souches obtenus avec les différents antibiotiques.

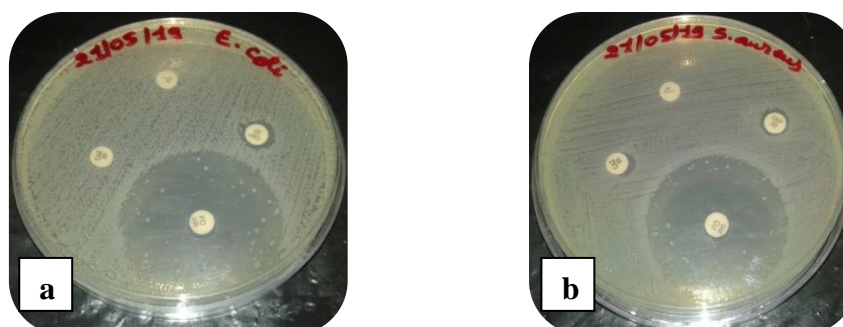


Figure N° 08 : Témoins positifs pour *E.coli* (a) et *S.aureus* (b)

Tableau N°10 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les deux souches

ATB \ Souche	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>	
	Diamètre	I (%)	Diamètre	I (%)
Ceftazidime (CA)	13±0.00	14.44	14.5±0.07	16.11
Cephalothin (CEP)	9.5±0.07	10.55	7.5±0.07	8.33
Colistin (CL)	17.5±0.07	19.44	18±0.00	20
Cephazolin (CZ)	13.5±0.07	15	15.5±0.07	17.22
Fostomycin (FO)	39.5±0.07	43.88	36±0.14	40
Metronidazole (MTZ)	0	0	0	0
Nalidixic Acid (NA)	36.5±0.21	40.55	32.5±0.07	36.11
Oxacillin (OX)	0	0	0	0
Gentamicin (GEN)	30.5±0.07	33.88	32.5±0.07	36.11
Amoxycillin (AMX)	0	0	0	0
Cefoxitin (FOX)	24.5±0.07	27.22	26.5±0.07	29.44
Co-trimaxazole (COT)	42±0.28	46.66	33±0.14	36.66
Erythromycin (E)	11±0.00	12.22	11.5±0.07	12.77
Ciprofloxin (CIP)	49±0.14	54.44	47.5±0.21	52.77
Tetracycline (TE)	19±0.14	21.11	18±0.14	20
P value	0.000000***	/	0.000000***	/

*** : hautement significatif ($P \leq 0.001$) ; I % : pourcentage d'inhibition de la souche ; ATB : antibiotique

Selon l'ANOVA, les différents antibiotiques exercent des effets hautement significatifs pour les deux souches. D'après le **tableau N° 10**, on note que les deux souches *E.coli* et *S.aureus* ont très sensibles aux : Ciprofloxacine, Co-trimoxazole, Fostomycin, Nalidixic Acid, Gentamicin et Cefoxitin, résistante aux Oxacillin, Amoxycillin, Ceftazidime, Cephazolin et Cephalothin et présente une sensibilité intermédiaire à Tetracycline et Colistin.

Les seuils de sensibilité (S) et de résistance plus (R) ou moins (I) importants qui ont été relevés par les antibiotiques testés dans notre travail s'avèrent comparable à la même gamme donnée par le comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie CASFM, (2019) et CLSI, (2013).

III.3.2.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode d'incorporation

Le **tableau N° 11** résume les concentrations minimales inhibitrices des extraits testés (CMI) par la méthode d'incorporation, différents selon la variété et la souche dans les dattes, les graines de *L.s* et leurs mélanges et varient très peu selon la nature de l'extrait testé (méthanolique ou aqueux).

Tableau N° 11 Concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les deux souches

Extrait	Souche	Concentration (mg/ml)	Datte			Graine <i>L.s</i>	Mélange		
			<i>H</i>	<i>T</i>	<i>D</i>		<i>H/L.s</i>	<i>T/L.s</i>	<i>D/L.s</i>
Méthanolique	<i>E.coli</i>	Témoin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.4	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
		0.8	++	++	++	++	+	+	++
	<i>S.aureus</i>	Témoin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.4	++	+++	++	++	++	++	++
		0.8	+	++	+	+	+	+	+
Aqueux	<i>E.coli</i>	Témoin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.4	+++	+++	++	+++	++	++	++
		0.8	++	++	+	++	+	+	+
	<i>S.aureus</i>	Témoin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		0.4	++	+++	++	++	++	++	++
		0.8	+	++	+	+	+	+	+

+++ : croissance importante ; ++ : croissance moyenne ; + : croissance faible ; - : pas de croissance

H : *H'mira* ; *T* : *Tamesrit* ; *D* : *Deglet Nour* ; *L.s* : *Lepidium sativum*

Selon le **tableau N° 11**, on constate que les CMI des extraits méthanoliques et aqueux de la pulpe de la datte et de la graine de *L.s* se rapprochent et sont généralement dans l'intervalle de 0.4 à 0.8 mg/ml vis-à-vis *S.aureus* et de 0.8 mg/ml vis-à-vis *E.coli*. Ces valeurs de CMI ont tendance à diminuer dans les mélanges concernant les deux souches.

III.3.2.4. Sensibilité des souches aux extraits méthanolique et aqueux des dattes, de la graine de *L.s* et des mélanges (technique des puits)

Dans le **tableau N° 12** est présentée la sensibilité des souches aux différents extraits testés. Les paramètres retenus pour la comparaison sont les diamètres des zones d'inhibition (Z) et le pourcentage d'inhibition (I %).

Tableau N° 12 : La sensibilité des deux souches vis-à-vis les extraits méthanoliques et aqueux

	Variété	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>		P
		Z (mm)	I (%)	Z (mm)	I (%)	
Méthanolique	<i>H</i>	18±14.1	20	28±2.8	31.1	N.S
	<i>T</i>	22.5±3.5	25	28±2.8	31.1	
	<i>D</i>	11.5±2.1	12.77	24±1.4	26.6	
	<i>L.H</i>	24±1.4	26.66	29.5±0.7	32.7	N.S
	<i>L.T</i>	25±0.0	27.77	29±1.4	32.2	
	<i>L.D</i>	16.5±0.7	18.33	25±0.0	27.7	/
	<i>L.s</i>	15±0.0	16.66	26.5±0.7	29.4	
P	0.0000***	/	0.0000***	/	/	
Aqueux	<i>H</i>	8.5±0.7	9.44	9±0.0	10	0.003138
	<i>T</i>	7±0.0	7.77	8±0.0	8.8	
	<i>D</i>	9±0.0	10	9.5±0.5	10.5	
	<i>L.H</i>	9±0.0	10	9±0.0	10	N.S
	<i>L.T</i>	10±0.0	11.11	7.5±0.0	8.3	
	<i>L.D</i>	9.5±0.0	10.55	9.5±0.5	10.5	/
	<i>L.s</i>	7±0.0	7.77	8.5±0.0	9.4	
	P	0.0000***	/	0.046120	/	

Z : diamètre des zones d'inhibition ; **I :** pourcentage d'inhibition ; **N.S :** non significatif

III.3.2.5. Effet de trois variétés, la graine de *L.s* et de leur mélange sur la croissance des souches

L'extrait méthanolique de *Deglet Nour* seul s'est avéré le moins actif de tous les extraits testés pour *E.coli*. Les graines de *L.s*, *H'mira 1* et le mélange *D/L.s* ont exercés des effets similaires (même groupe homogène donné par l'ANOVA) et significativement plus importants que des *Deglet Nour* seul ($P \leq 0.001$). Pour *Tamesrit*, les mélanges *T/L.s* et *H/L.s* ont donnés les diamètres les plus élevés de 22 à 25 mm.

Les effets des extraits aqueux de la graine de *L.s* se rapprochent de ceux des trois pulpes (7 à 9 mm) vis-à-vis *E.coli*. Toute fois une augmentation légère mais significative est notée lorsque la graine de *L.s* est ajoutée (9 à 10 mm).

Concernant la souche *S.aureus*, l'extrait méthanolique présente un effet inhibiteur meilleur qu'*E.coli* allant de 24 à 29.5 mm pour tous les extraits (à la limite de signification). Pour l'extrait aqueux, les diamètres sont de 7.5 à 9.5 mm.

III.3.2.6. Analyses statistiques

- **Effet extrait**

L'extrait méthanolique donne un effet significativement important (diamètre varie de 10 à 30 mm) que l'extrait aqueux quelque soit la souche utilisée et le composant considéré (diamètre varie 7 à 10 mm).

- **Effet souche**

L'ANOVA a montré que *S.aureus* est plus sensible qu'*E.coli* contre tous les extraits testés.

- **Effet variété**

Même si l'effet de la variété n'est pas significative différent que ce soit pour la pulpe ou le mélange pulpe/graines de *L.s*, toute fois on note dans ce dernier que *H'mira 1* et *Tamesrit* se trouvent le même groupe homogène avec un diamètre moyen de 26 à 27mm alors plus important que *Deglet Nour*.

III.3.2.7. Comparaison de sensibilité des extraits avec les antibiotiques

D'après les résultats de l'antibiogramme, les deux souches étudiées se sont avérées sensibles à la Cefoxitin (FOX) qui est choisie pour faire une comparaison avec nos différents extraits (**Figure N° 09** et **10**).

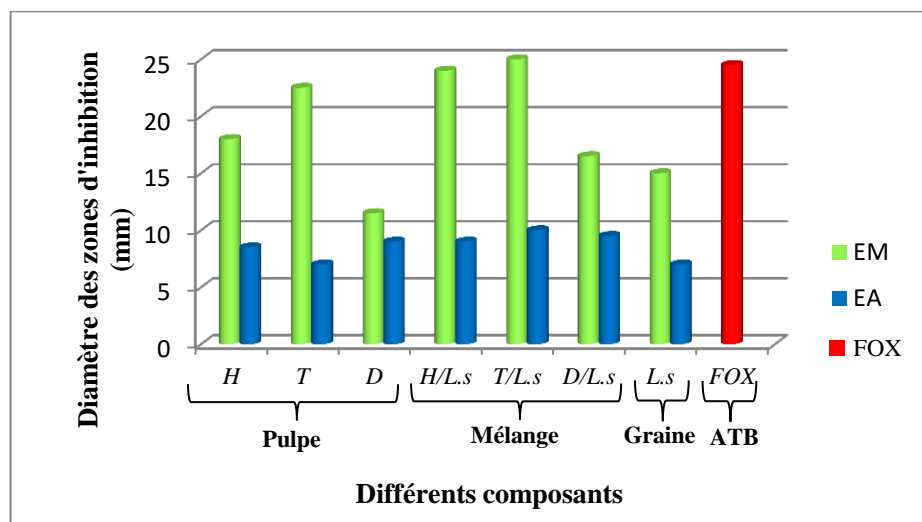


Figure N° 09 : Comparaison des diamètres d'inhibition entre les extraits bruts des dattes, de *L.s* et leurs mélanges et la Cefoxitin vis-à-vis *E. coli*

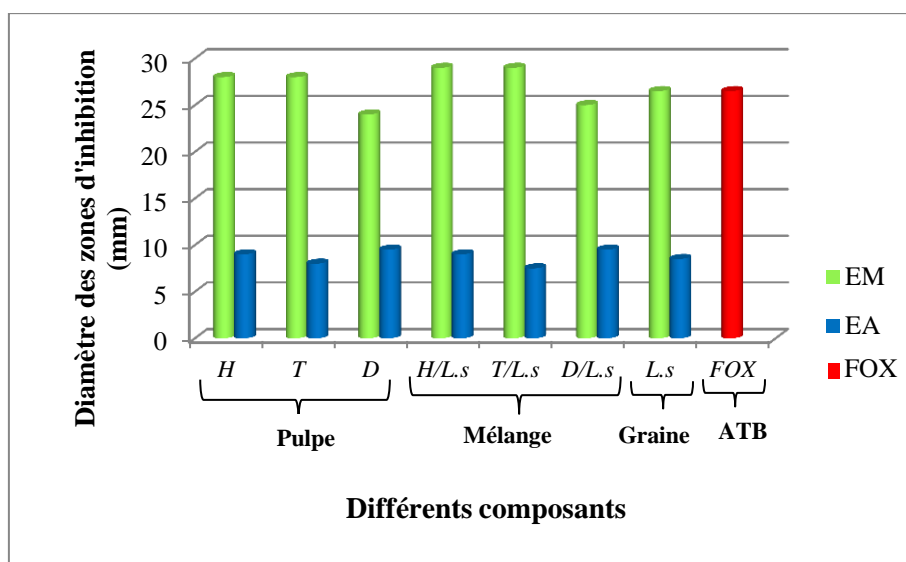


Figure N° 10 : Comparaison des diamètres d'inhibition entre les extraits bruts des dattes, de *L.s* et leurs mélanges et la Cefoxitin vis-à-vis *S.aureus*

D'après les **Figure N° 09** et **10**, on note que l'extrait méthanolique présente toujours un effet inhibiteur meilleur que la Cefoxitin vis-à-vis *S.aureus* (à l'exception de l'extrait de *Deglet Nour* seul et en mélange). Tandis que les extraits de *Tamesrit* seul et des mélanges de la graine avec les trois variétés ont exercé un effet inhibiteur comparable à la Cefoxitin contre *E.coli*.

Concernant l'extrait aqueux, les diamètres sont faibles par rapport à la Cefoxitin vis-à-vis les deux souches.

III.3.2.8. Discussion de l'activité antibactérienne des différents extraits

D'après les résultats obtenus de l'évaluation de l'effet antibactérien des trois variétés de dattes, de la graine de *L.s* et du mélange pulpe de datte/graines de *L.s* sur les deux souches bactériennes, les principaux points soulevés sont :

-Les extraits aqueux et méthanoliques ont exercés des effets antibactériens significativement différents avec des zones d'inhibition plus importantes dans l'extrait méthanolique soient de 10 à 30 mm vs 7 à 10 mm. **Malhi et al., (2014)** ont fait les mêmes constatations et ont expliqués cela par la capacité du méthanol à extraire une large gamme des constituants par rapport à l'eau, par conséquent l'extrait méthanolique concentrerait mieux les principes actifs contenus dans les dattes. Alors que, des études faites sur des extraits de pulpe de dattes algériennes ont montrés que seul l'extrait méthanolique avait un effet inhibiteur contre *S.aureus* et *E.coli* et aucun effet n'a été observé pour l'extrait aqueux (**Boucenna et al., 2016** et **Boukirat et al., 2017**).

-Les deux souches bactériennes ont exprimées des différences de sensibilité pour les extraits testés où des diamètres de zones d'inhibition allant de 11.5 à 22.5 mm pour *E.coli* et de 24 à 28 mm pour *S.aureus* ont été enregistrées et ce quelque soit la variété de datte et le composant considéré. Ces résultats restent dans les gammes données par **Boucenna et al., (2016)** (10 à 27 mm contre *E.coli* et 15 à 43 mm contre *S.aureus*) et **Boukirat et al., (2017)** (4 à 27 mm contre *E.coli* et 15 à 43 mm contre *S.aureus*). Cependant, ils sont supérieurs à ceux rapportés par **Daas et al., 2014** (7.4 à 8.6 mm contre *E.coli* et 7.5 à 17 mm contre *S.aureus*) pour des variétés algériennes ; par **Al-seeni, (2012)** et **Al-daihan et Bhat, (2012)** (11 mm contre *E.coli* et 12 à 13 mm contre *S.aureus*) pour des variétés saoudiennes. Toutefois, on note une sensibilité plus importante vis-à-vis *S.aureus* ; ceci pourrait être expliqué par la sélectivité de la membrane des Gram- qui empêchent la diffusion des molécules hydrophobes comme les porines et bloquent le passage des agents antimicrobiens (**Malheiro et al., 2012**).

-Les deux extraits méthanoliques et aqueux des graines de *L.s* ont révélés une sensibilité significativement plus importante vis-à-vis *S.aureus* (8 à 27 mm) vs. *E.coli* (7 à 15 mm). D'autres travaux réalisés sur les graines *L.s* d'origine soudanaise (**Adam et al., 2011**) et celles d'origine éthiopienne, où elles sont connues pour leur utilisation en médecine traditionnelle contre les coliques, la dysenterie et les infections cutanées, les extraits méthanoliques et aqueux ont montré un effet antibactérien avec des diamètres inférieurs aux nôtres contre les deux souches (**Berehe et Boru, 2014 ; Zemene et Berhane, 2016 ; Besufeked et al., 2018**). Une étude algérienne menée par **Ait Yahya et al. (2018)** sur

l'extrait butanolique de la graine de *L.s* a donné des CMI de 5 et 4 mg/ml contre *E.coli* et *S.aureus* respectivement, valeurs largement supérieures aux valeurs trouvées dans le présent travail (0.8 mg/ml contre *E.coli* vs 0.4 à 0.8 mg/ml contre *S.aureus*).

- L'extrait méthanolique de la mixture *H'mira/L.s* vis-à-vis *S.aureus* a donné le diamètre d'inhibition le plus élevé (29.5 mm) comparativement à *H'mira* seule (25 mm) et la graine de *L.s* seule (26.5 mm). Cette interaction synergique pourrait s'expliquer par le passage facilité de l'une des substances bioactives à effet antibactérien présentes dans la datte ou dans la graine de *L.s*. A notre connaissance, aucun travail n'a été réalisé auparavant sur la bioactivité du mélange *L.s*/dattes ce qui a constitué une limite lors de l'interprétation des résultats dans la présente étude.

Les pulpes de dattes, les graines de *L.s* et leur association ont donné un effet antibactérien intéressant contre les bactéries à Gram+, ce qui constituerait une source naturelle prometteuse des composés antibactériens.

Conclusion

Conclusion

La caractérisation des graines de *Lepidium sativum* a montré une richesse en matières minérales (4.62 %), un caractère légèrement acide (5.97) et une teneur en eau faible (5.50 %).

Les onze (11) variétés de dattes algériennes étudiées ont présenté une variabilité significative ($P \leq 0.001$) sur le plan morphométrique (poids, longueur et diamètre) et physicochimique (pH, acidité titrable, teneur en eau et taux de cendres) ce qui a permis de dresser un inventaire.

L'évaluation de l'effet antibactérien des extraits méthanoliques et aqueux des trois variétés de dattes *H'mira 1*, *Tamesrit* et *Deglet Nour*, de la graine de *L.s*, seuls et en association vis-à-vis *E. coli* et *S. aureus* a permis de dégager les points suivants :

- Tous les extraits ont exprimé des CMI allant de 0.4 à 0.8 mg/ml vis-à-vis *S. aureus* et de 0.8 mg/ml vis-à-vis *E. coli* avec un pourcentage d'inhibition important de 32.7% pour la combinaison *H'mira 1/L.s*.

- *S. aureus* est plus sensible qu'*E. coli* contre tous les extraits testés avec un effet antibactérien plus accentué pour les extraits méthanoliques.

- Les extraits méthanoliques de *Deglet Nour* s'avèrent moins actifs que ceux de la graine de *L.s* et de *Tamesrit* contre *S. aureus* avec des diamètres de 24 ; 26.5 et 28 mm respectivement.

- La meilleure combinaison a été enregistrée chez les extraits méthanoliques du couple *H'mira/L.s* contre *S. aureus*.

Les fruits de la *Phoenix dactylifera* et la graine de *L.s* constituent une source potentielle de substances bioactives et pourraient être utilisés dans la formulation d'agents antibactériens pour le traitement de diverses maladies infectieuses. Ces résultats pourraient justifier l'utilisation des graines *L.s* associées aux dattes dans la culture algérienne et donner une valeur ajoutée à cette combinaison.

Cette étude doit être complétée par autres travaux biochimiques, pharmacologiques, toxicologiques et cliniques pour valider les effets antibactériens du mélange.

Références

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ✎ **Acourene S, Belguedj M, Tama M, Taleb B, (2001)** *Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Ziban*, Revue Recherche Agronomique. Algérie : INRAA.
- ✎ **Acourene S, Djafri K, Benchabane A, Tama M, Taleb B,(2014)** Dates Quality Assessment of the Main Date Palm Cultivars Grown in Algeria, *Annual Research & Review in Biology*, 487- 499.
- ✎ **Adam S.I.Y, Salih S.A.M, Abdelgadir W.S, (2011)** In vitro antimicrobial assessment of *Lepidium sativum L.* seeds extracts, *Asian Journal of Medical Sciences*, 261–266.
- ✎ **Ahsan S, Tariq M, Ageel M, Al-yahya M, Shah AH, (1989)** Studies on some herbal drugs used in fracture healing, *International Journal Crude Drug Research*, 235–239.
- ✎ **Ait -yahia O, Perrot F , Bouzroua S.A, Benmalek Y, Dob T, Belkebir A, (2018)** Chemical composition and biological activities of n-butanol extract of *Lepidium sativum L(Brassicaceae)* seed, *Tropical journal of pharmaceutical*, 891-896.
- ✎ **Al-Asmari AK, Al-Elaiwi AM, Athar MT, Tariq M, Al Eid A, Al-Asmary SM, (2014)** A review of hepatoprotective plants used in saudi traditional medicine, Evidence-Based Complementary and Alternative medicine, 22 pages..
- ✎ **Al-daihan S, Bhat S.R, (2012)** Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed and bark of *Phoenix dactylifera*, *African Journal of Biotechnology*, 10021-10025.
- ✎ **Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M, Shahidi F, (2005)** Comparison of antioxidant activity, antho-cyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sundried date (*Phoenix dactylifera L.*) varieties grown in oman, *Journal of agriculture and food chemistry*, 7592-7599.
- ✎ **Al-Hamedan W, (2010)** Protective effect of *Lepidium sativum L.* seeds powder and extract on hypercholesterolemic rats, *Journal of American Science*, 873- 879.
- ✎ **Al-Marzoqi A.H, Hadi M.Y, Hameed I.H, (2016)** Determination of metabolites products by *Cassia angustifolia* and evaluate antimicrobial activity, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 25-48.
- ✎ **Al-seeni M.N, (2012)** Minerals content and antimicrobial efficacy of date extracts against some pathogenic bacteria, *Life Science Journal*, 504-508.
- ✎ **Al-Shahib W, Marshall R.J, (2003)** The fruit of the date palm: it's possible use as the best food for the future, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 247-259.

- ✕ **Al-Yahya M.A, Mossa J.S, Ageel A.M, Rafatullah S, (1994)** Pharmacological and safety evaluation studies on *Lepidium sativum L.*, Seeds, *Phytomedicine*, 155-159.
- ✕ **Andrews J.M, (2008)** standardized disc susceptibility testing method, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 256-278.
- ✕ **AOAC, (2000)** The Association of Official Analytical Chemists. 17th Ed. Maryland U.S.A.
- ✕ **AOAC, (2002)** The Association of Official Analytical Chemists. Maryland U.S.A.
- ✕ **Asad Ullah M, Tungmunnithum D, Garros L, Drouet S, Hano C, Abbasi B.H, (2019)** Effect of Ultraviolet-C Radiation and Melatonin Stress on Biosynthesis of Antioxidant and Antidiabetic Metabolites Produced in In Vitro Callus Cultures of *Lepidium sativum L.*, *International Journal of Molecular Sciences*, 1-19.
- ✕ **Babahani S, Eddoud A, (2012)** Effet de la température sur l'évolution des fruits chez quelques variétés du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), *Algerian journal of arid environment*, 36-41.
- ✕ **Behrouzian F, Razavi S, Phillips G, (2014)** Cress seed (*Lepidium sativum*) mucilage, an overview, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 17-28.
- ✕ **Belguedj, N. (2015)** Réparations alimentaires à base de dattes en Algérie : Description et diagrammes de fabrication. Mémoire de Magister. Université de Constantine: Algérie.
- ✕ **Bellaouchi R, Ghomari I, Hasnaoui A, Hakkou A, Bechchari A, Chihib N.E, Asehraou A, (2017)** Physicochemical and microbial properties of undervalued dates and processed dates by product in Morocco, *International Food Research Journal*, 963 – 969.
- ✕ **Benchelah A.C, Maka M, (2008)** Les Dattes: intérêt et nutrition, *Phytothérapie ethnobotanique alimentation et culture*, 117-121.
- ✕ **Berehe S.G, Boru A.D, (2014)** Phytochemical screening and antimicrobial activities of crude extract of *Lepidium sativum* seeds grown in Ethiopia, *International Journal of pharmaceutical sciences and research*, 4182-4187.
- ✕ **Besufekad Y, Beri S, Adugnaw T, Beyene K, (2018)** Antibacterial activity of Ethiopian *Lepidium sativum L.* against pathogenic bacteria, *Journal of Medicinal Plants Research*, 64-68.
- ✕ **Bettahar H, Bettayeb H, (2017)** Etudes des propriétés organoleptiques, physicochimiques et phytochimiques des dattes. Mémoire de Master académique. Université Ibn Khaldoun : Tiaret.

- ✎ **Bigoniya P, Singh C.S, Shukla A, (2011)** Pharmacognostical and physicochemical standardization of ethnopharmacologically important seeds of *Lepidium sativum* Linn., *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 464-471.
- ✎ **Booij I, Piombo G, Risterucci A.M, Coupe M, Thomas D, Ferry M, (1992)** Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Fruits*. 667-678.
- ✎ **Boucenna K, Chair K, Neguaz A, (2016)** *Effet antibactérien de quelques variétés de dattes algériennes*. Mémoire de Master académique. Université Ibn Khaldoun : Tiaret.
- ✎ **Boukhed F, Bouda S, (2018)** *Bioactivité du sirop de dattes: étude phytochimique*. Mémoire de Master académique. Université Ibn Khaldoun : Tiaret.
- ✎ **Boukirat S, Negaz S, Temer S, (2017)** *Etude in vitro de l'effet antibactérien des dattes*. Mémoire de Master académique. Université Ibn Khaldoun : Tiaret.
- ✎ **Boumediene F, Hacı F, Ghali K, (2018)** *Bioactivité du Sirop des dattes : étude antibactérienne*. Mémoire de Master académique. Université Ibn Khaldoun : Tiaret.
- ✎ **CASFM (2019)** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Institut Pasteur Paris.
- ✎ **Chaira N, Mrabet A, Ferchichi A, (2009)** Evaluation of antioxidant activity, phenolics, sugar and mineral content in date palm fruits, *Journal of Food Biochemistry*, 390-403.
- ✎ **CLSI (2013)** Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. U.S.A.
- ✎ **Cushnie TPT, Lamb AJ, (2011)** Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids, *International journal of antimicrobial agents*, 99-107.
- ✎ **Daas A.S, Alloui-Lombarkia O, Bouhdjila F, Ayachi A, Hambaba L, (2014)** Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne, *Phytothérapie Pharmacognosie*, 135-142.
- ✎ **Datta PK, Diwakar BK, Viswanatha S, Murthy KN, Naidu KA, (2011)** Safety evaluation studies on Garden cress (*Lepidium sativum* L.) seeds in Wistar rats, *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 37-42.
- ✎ **Delarras, C. (2007)** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Paris : Lavoisier : Tec et Doc..
- ✎ **Doke S, Guha M, (2014)** Garden cress (*Lepidium sativum* L.) Seed - An Important Medicinal Source: A Review, *Scholars Research Library*, 69-80.

- ✎ **Eddouks M, Maghrani M, Lemhadri A, Ouahidi M.L, Jouad H, (2002)** Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the South-East region of Morocco (Tafilalet), *Journal Ethnopharmacol*, 97-103.
- ✎ **FAO (2019)** FAOSTAT Food and Agricultural Organization of United Nation. Disponible sur: <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC/visualize>. [Consulté le 08/05/2019].
- ✎ **Ghedeir M A, Al- Yahya M, Ahmed S.B, (2017)** Nutritive value of elrashad (*Lepidium sativum L.*) seeds grown in saudi arabia, *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 8155-8159.
- ✎ **Ghiaba Z, Boukouada M, Saidi M, Yousfi M, Ghiaba N, Kendour Z, (2012)** Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three varieties of algerian dates, *Algerian Journal of Arid and Environment*, 42-48.
- ✎ **Gilani A.H, Rehman N.U, Mehmood M.H, AlKharfy K.M, (2013)** Species differences in the antidiarrheal and antispasmodic activities of *Lepidium sativum L.* and insight into underlying mechanisms, *Phytotherapy Research*, 1086–1094.
- ✎ **Gokavi S.S, Malleshi N.G, Guo M, (2004)** Chemical composition of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds and its fractions and use of bran as a functional ingredient, *Plant Foods for Human Nutrition*, 105–111.
- ✎ **Gourchala F, Ouazouaz M, Mihoub F, Henchiri C, (2015)** Compositional analysis and sensory profile of five date varieties grown in south Algeria, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 511-518.
- ✎ **Guiraud J. P, (1998)** *Microbiologie alimentaire*. Paris : DUNOD.
- ✎ **Halaby M.S, Farag M.H, Mahmoud S A.A, (2015)** Protective and Curative Effect of Garden Cress Seeds on Acute Renal Failure in Male Albino Rats, *Middle East Journal of Applied Sciences*, 573-586.
- ✎ **Hannachi S, Benkhalifa A, Khitri D, Brac de la Perrière R.A, (1998)** *Inventaire variétal de la Palmeraie Algérienne*. Algérie: C.DA.R.S et U.R.Z.A.
- ✎ **Harrak H, Boujnah M, (2012)** *Valorisation technologique des dattes au Maroc*. Maroc: INRA.
- ✎ **Hart T, Shears P, (1997)** *Atlas de poche de microbiologie*. Paris : Médecine-Sciences Flammarion.

- ✕ **Hussein F, Hussein M.A, (1983)** Effect of Irrigation on Growth, Yield and Fruit Quality of Dry dates Grown at Asswan. Actes du Colloque "The First Symposium on The Date Palm", King Faisal University, Al-Hassa Kingdom of Saudi Arabia 168- 173.
- ✕ **Jahromi M.K, Mohtasebi S.S, Jafari A, Mirasheh R, Rafiee S, (2008)** Determination of some physical properties of date fruit (cv. Mazafati), *Journal of Agricultural Technology*, 1-9.
- ✕ **Kadhim M.J, Mohammed G.J, Hameed I.H, (2016)** In vitro antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of methanolic fruit extract of *Cassia fistula*, *Oriental Journal of Chemistry*, 10-30.
- ✕ **Karazhiyan H, Razavi S.M.A, Phillips G.O, Fang Y, Al-Assaf S, Nishinari K, (2011)** physicochemical aspects of hydrocolloid extract from the seeds of *Lepidium sativum*, *International Journal of Food Science and Technology*, 1066-1072.
- ✕ **Mahassni S.H, Khudauardi E.R, (2017)** A pilot study: The Effects of an aqueous extract of *Lepidium sativum* seeds on levels of Immune cells and body and organ weight in mice, *Journal of ayurvedic and Herbal medicine*, 27-32.
- ✕ **Malheiro R, Sá O, Pereira E, Aguiar C, Baptista P, Pereira J.A, (2012)** *Arbutus unedo* L. leaves as source of phytochemicals with bioactive properties, *Industrial Crops and Products*, 473-478.
- ✕ **Mallhi T.H, Qadir M.I, Ali M , Ahmad B, Khan Y.H, Atta-Ur-Rehman (2014)** Ajwa Date (*Phoenix dactylifera*): An Emerging Plant in Pharmacological Research, *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 607-616.
- ✕ **Manohar D, Viswanatha G.L, Nagesh S, Jain V, Shivaprasad H.N, (2012)** Ethnopharmacology of *Lepidium sativum* Linn(*Brassicaceae*) : A Review, *International Journal of Phytotherapy*, 1-7.
- ✕ **Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E, Kefalas P, (2005)** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*), *Food Chemistry*, 411- 420.
- ✕ **Marchal L, Bourdon J.L, Richard C, (1982)** *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries*. Paris : Doin.
- ✕ **Markhand G.S, Abul Soad A.A, Mirbahar A.A, Nisar A, (2010)** Characterization of pakistani date, *Pakistan Journal of Botany*, 3715-3722.
- ✕ **Mechraoui N, Belkhadem S, (2009)** *Essai d'incorporation de la farine de dattes Variétés « Mech-Degla » en biscuiterie*. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Biologie.

- ✎ **Munier, P. (1973)** *Le palmier dattier*. Paris: Maisonneuve.
- ✎ **Nielsen, S.S. (2010)** "Food Analysis" Compositional analysis of food. 4th Ed. U.S.A : Springer.
- ✎ **Noui, Y. (2007)** *Caractérisation physico-chimiques comparatives de deux principaux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla*. Mémoire de magister en technologie alimentaire. Université de Boumerdes : Algérie.
- ✎ **Patel U, Kulkarni M, Undale V, Bhosale A, (2000)** Evaluation of diuretic activity of aqueous and methanol extracts of *Lepidium sativum* (Cruciferae) in rats, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 215-219.
- ✎ **Pibiri, M.C. (2006)** *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de Ventilation au moyen d'huiles essentielles*. Thèse de doctorat. Ecole polytechnique Fédérale de Lausanne : France.
- ✎ **Rahman M.A, Mossa J.S, Al-Said M.S, Al-Yahya M.A, (2004)** Medicinal plant diversity in the flora of Saudi Arabia 1: a report on seven plant families, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 149-161.
- ✎ **Raval N.D, Pandya T.N, (2016)** Clinical trial of *Lepidium sativum* Linn, (Chandrachura) in the management of sandhivata (osteoarthritis), *An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda*, 153-157.
- ✎ **Rehman N, Mehmood M.H, Alkharfy K.M, Gilani A.H, (2011)** Prokinetic and laxative activities of *Lepidium sativum* seed extract with species and tissue selective gut stimulatory actions, *Journal of Ethnopharmacology*, 878-883.
- ✎ **Rehman N.U, Mehmood M.H, Alkharfy K.M, Gilani A.H, (2012)** Studies on Antidiarrheal and Antispasmodic Activities of *Lepidium sativum* Crude Extract in Rats, *Phytotherapy Research*, 136-141.
- ✎ **Rios J.L, Recios M.C, Villar A, (1988)** Screening method for natural products with antimicrobial activity: A review of literature, *Journal Ethnopharmacol*, 127-149.
- ✎ **Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M, Bruni R, (2005)** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods, *Food Chemistry*, 621- 632.
- ✎ **Shail, Manjari D, Neeraj K, Gupta L.N, (2016)** Nutritional importance of *Lepidium sativum* L. (Garden cress/ Chandrashoor): A Review, *International Journal of Pharmacy and Analytical Research*, 152-160.

- ✎ **Sharma S, Agrawal N, (2011)** Nourishing and healing prowess of garden cress (*Lepidium sativum* Linn.)- A review, *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 292-297.
- ✎ **Sosa A.A, Bagi S.H, Hameed I.H, (2016)** Analysis of bioactive chemical compounds of *Euphorbia lathyris* using gas chromatography-mass spectrometry and fourier-transform infrared spectroscopy, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 109-126.
- ✎ **Sudano Roccaro A, Rita Blanco A, Giuliano F, Rusciano D et Enea V., (2004).** Epigallocatechin-Gallate enhances the activity of Tetracycline in *Staphylococci* by inhibiting its efflux from bacterial cells, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 1968–1973
- ✎ **Suliman A.E, Abdelhafise I.A, Abdelrahim A.M, (2012)** Comparative study on five Sudanese date (*Phoenix dactylifera* L.) fruit cultivars, *Food and Nutrition Sciences*, 1245-1251.
- ✎ **Taudou, A. (1990)** *Activité antifongique des Labiatae: Données bibliographiques ; Etudes in vitro de treize huiles essentielles (Intérêt de la micro émulsion)*. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier: Toulouse.
- ✎ **Vayalil, P. K. (2012)** Date Fruits (*Phoenix dactylifera* Linn): An emerging medicinal food, *Critical reviews in food science and nutrition*, 249-271.
- ✎ **Wadhwa S, Panwar M.S, Agrawal A, Saini N, Patidar L.N, (2012)** A review on pharmacognostical study of *Lepidium sativum*, *Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals*, 316-323.
- ✎ **Yadav Y.C, Srivastav D.N, Seth A.K, Saini V, Balaraman R, Ghelani T.K, (2010)** In vivo antioxidant potential of *Lepidium sativum* seeds in albino rats using cisplatin induced nephrotoxicity, *International Journal Phytoterapy medecine*, 292-298.
- ✎ **Zemene A, Berhane N, (2017)** Synergistic antibacterial effect of *Lepidium sativum* and *Coriandrum sativum* against standard and drug resistant clinically isolated pathogenic bacteria, *African Journal of Biotechnology*, 1743-1757.
- ✎ **Zia-Ul-Haq M, Ahmad S, Calani L, Mazzeo T, Del Rio D, Pellegrini N, De Feo V, (2012)** Compositional Study and Antioxidant Potential of *Ipomoea hederacea* Jacq and *Lepidium sativum* L. Seeds, *Molecules*, 10306-10321.
- ✎ **Zia-Ul-Haq M, Ahmad S, Shad M.A, Iqbal S, Qayum M, Ahmad A, Luthria D.L, Amarowicz R (2011)** Compositional studies of some of lentil cultivars commonly consumed in Pakistan, *Pakistan Journal of Botany*, 1563–1567.

Annexes

Annexe N° 01 : Composition des milieux de culture (Guiraud, 1998)

Milieu	Composition (g/l)
Bouillon nutritif	Peptone.....10g Extrait de viande.....5g Chlorure de sodium.....5g pH =7.2
Chapman	Peptone.....10g Extrait de viande.....6g Protéose peptone.....10g Chlorure de sodium.....150g Lactose.....15g Gélose.....1g pH=7.4
Citrate de Simmons	Citrate de sodium.....1g Chlorure de sodium.....5g Sulfate de magnésium.....200mg Dihydrogénophosphate d'ammonium.....1g Monohydrogénophosphate de potassium.....1g Bleu de bromothymol.....80mg Agar.....13g pH = 6.8
Mac Conkey	Peptone.....20g Lactose.....10g Sels biliaires n°3.....1.5g Chlorure de sodium.....5g Rouge neutre.....0.05g Cristal violet.....0.001g Agar.....15g pH = 7.1

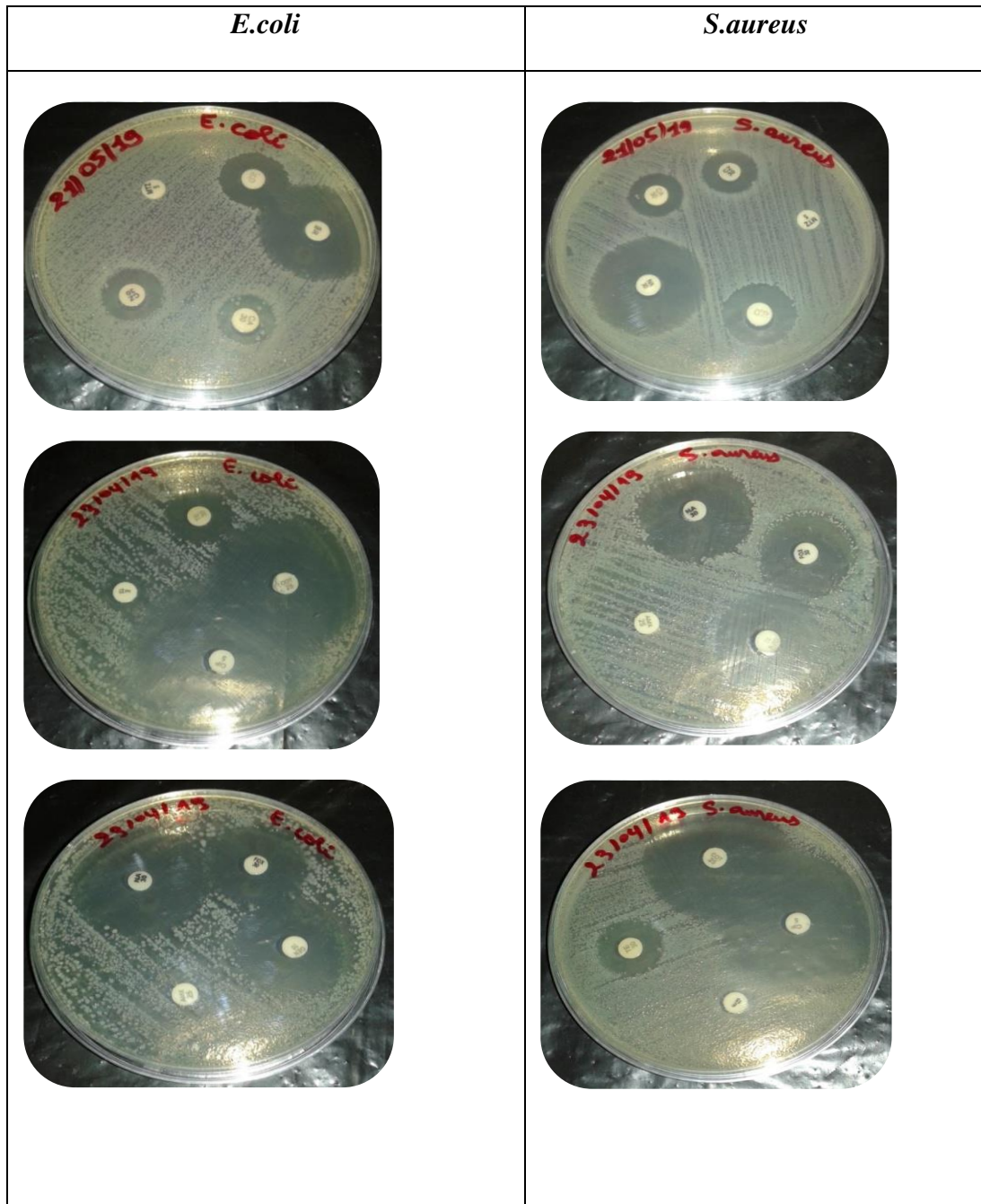
Mannitol-Mobilité	Peptone.....20g Nitrate de potassium.....1g Mannitol.....2g Rouge de phénol.....0.04g Agar.....4g pH = 8.1
Mueller-Hinton	Extrait de viande.....2g Hydrolysate acide de caséine.....17.5g Amidon.....1.5g Gélose.....10g pH = 7.4
TSI	Peptone.....20g Extrait de viande.....3g Extrait de levure.....3g Chlorure de sodium.....5g Glucose.....1g Lactose.....10g Saccharose.....10g Citrate de fer.....0.5g Hyposulfite de sodium.....0.5g Rouge de phénol.....25mg Gélose.....12g pH=7.4

Annexe N° 02 : Méthode de coloration de Gram (Delarras, 2007)

La coloration de Gram se déroule en plusieurs étapes :

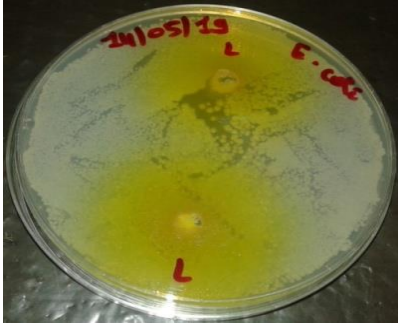



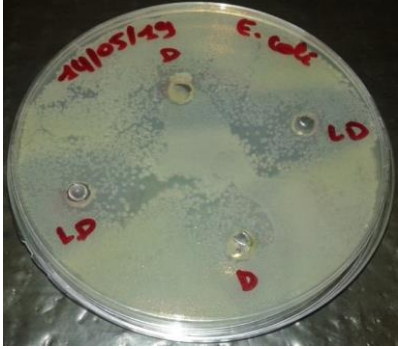


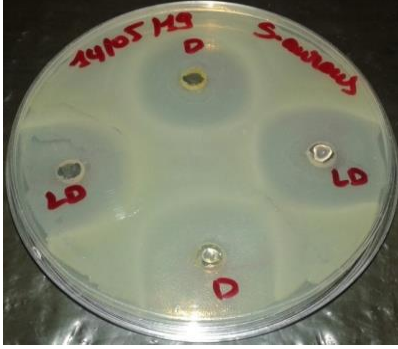
- Fixation du frottis de la souche testée à la chaleur ;
- Coloration au Violet de Gentiane pendant une minute puis rinçage à l'eau distillée ;
- Traitement pendant une minute par la solution de Lugol, rinçage à l'eau distillée ;
- Décoloration à l'alcool à 95% pendant 30 secondes, rinçage à l'eau distillée ;
- Contre coloration à la Fuschine pendant 30 secondes, rinçage à l'eau distillée ;
- Séchage au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ;
- Observation au microscope optique à l'objectif $\times 100$ à l'immersion.
- Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif (Gram +) et celles colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif (Gram -).

Annexe N° 03 : Témoins positifs




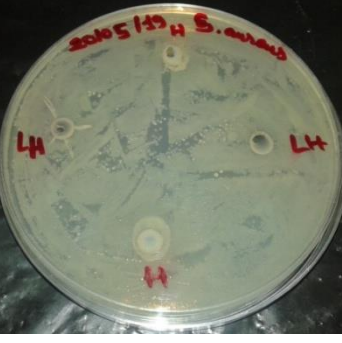





Annexe N° 04 : Diamètres d'inhibitions des différents extraits (Méthode des puits).

1. Extraits méthanoliques

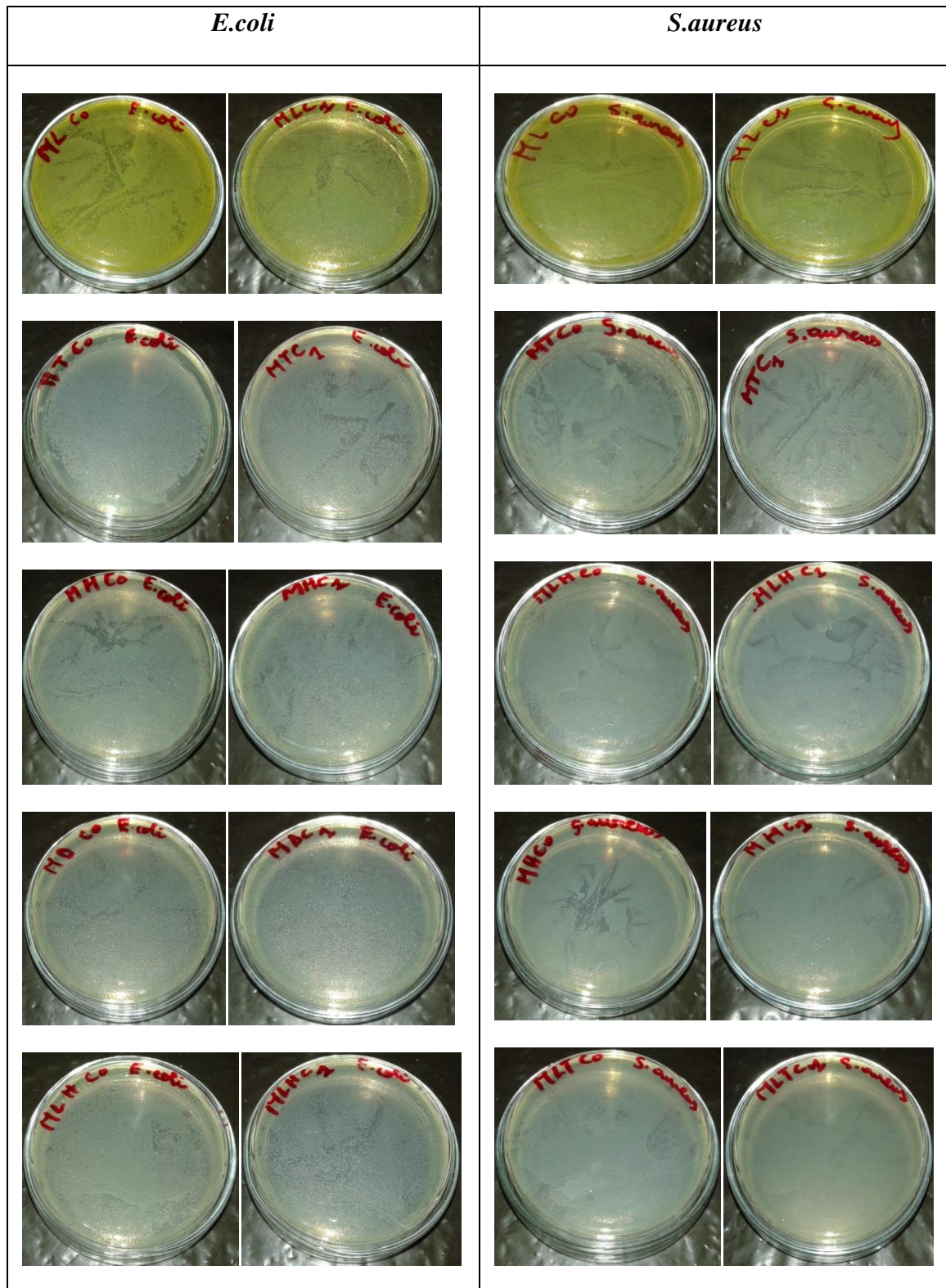
<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
	
	
	
	

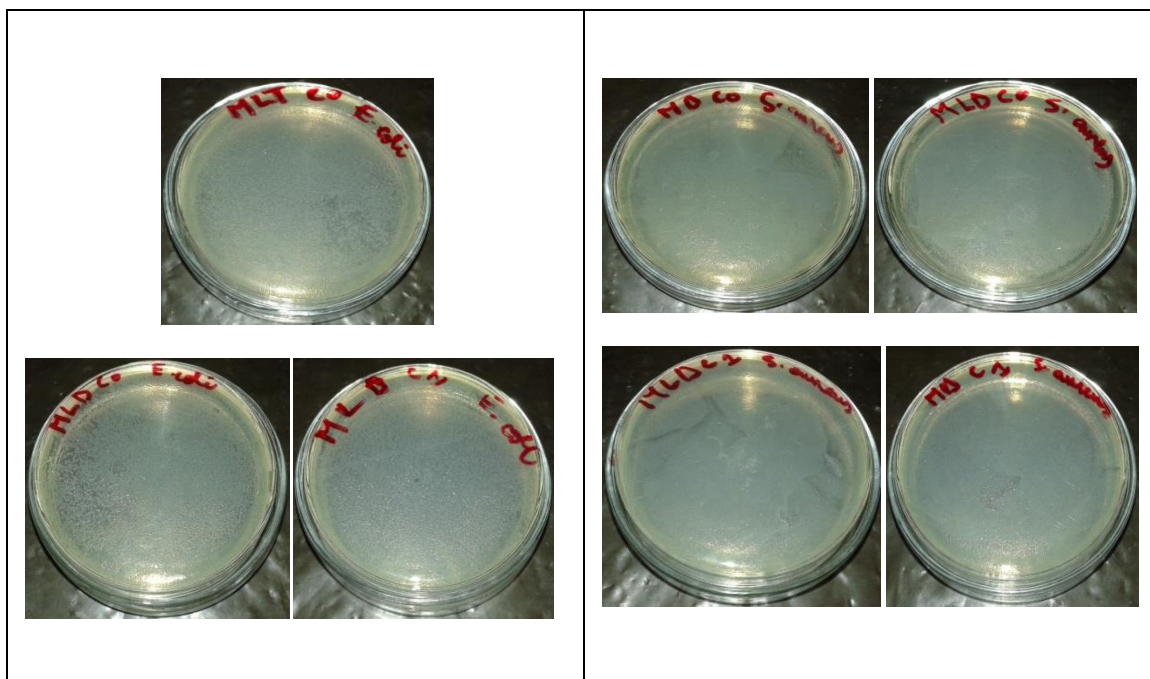
2. Extraits aqueux

<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
	
	
	
	

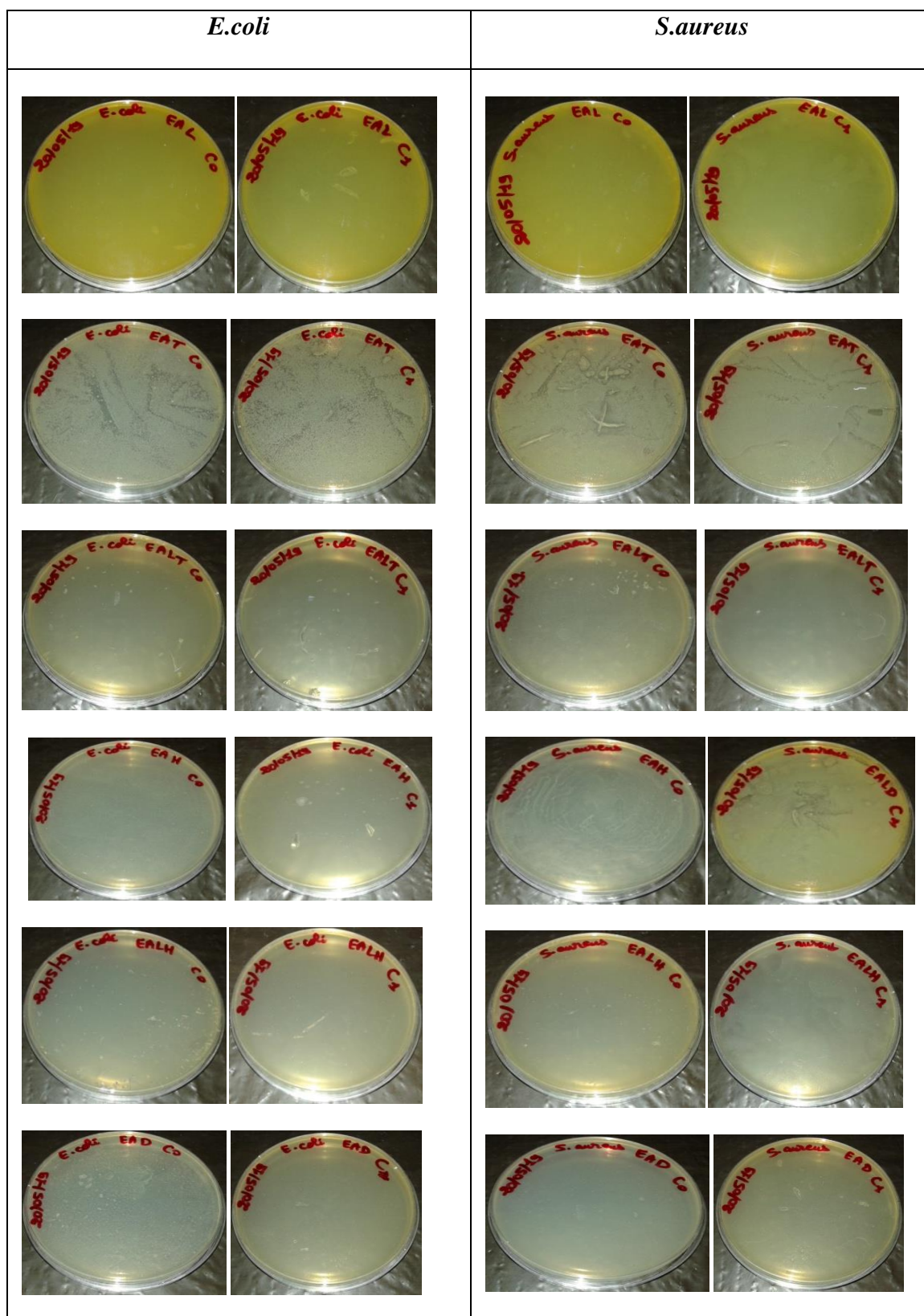
Annexe N° 05 : Méthode d'incorporation sur gélose

1. Extraits méthanoliques





2. Extraits aqueux



Annexe N° 06 : Les différentes photos des graines de *L.s*

- Les graines de *Lepidium sativum*



- Les graines de *L.s* en poudre



- Le mélange datte/ graine de *L.s*



Résumé

Contexte et objectifs : La combinaison de *Tmar/Hab el-rashad* est une recette algérienne utilisée traditionnellement dans le traitement de certaines maladies. L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'effet antibactérien de trois variétés de dattes seules et en association avec les graines de *L. sativum* sur la viabilité des deux souches bactériennes : *E.coli* et *S.aureus*.

Matériels et méthodes : Dans un premier temps, des caractérisations morphométriques et physicochimiques de 11 cultivars algériens de dattes ainsi qu'une analyse physicochimique de la graine de *L.sativum* ont été réalisées. Par la suite, les extraits méthanoliques et aqueux des variétés *H'mira*, *Tamesrit* et *Deglet Nour* ainsi que ceux de la graine seuls et en combinaison ont servi pour évaluer l'activité antibactérienne vis-à-vis les deux souches par la méthode de diffusion en puits.

Résultats : Une variabilité inter-variétale hautement significative ($p \leq 0.001$) a été notée sur le plan morphométrique et physicochimique. L'activité antibactérienne contre *S.aureus* des extraits méthanoliques s'avère la plus intéressante et la combinaison *H'mira/L.s* donne le diamètre d'inhibition le plus élevé soit 29.5 mm contre la même souche.

Conclusion : Ces résultats pourraient justifier l'utilisation des dattes et/ou les graines de *L.sativum* comme alternative naturelle en pharmacologie.

Mots clés : *Phoenix dactylifera L.* ; *Lepidium sativum* ; combinaison ; effet antibactérien ; *E.coli* ; *S.aureus*.

الملخص

المحتوى والأهداف: مزيج التمر مع حب الرشاد هو وصفة جزائرية تقليدية تستخدم في علاج بعض الأمراض. الهدف من دراستنا هذه هو تقييم التأثير المضاد للبكتيريا لثلاثة أصناف من التمور كل على حدى و بالمزج مع بذور حب الرشاد على نمو سلالتين من البكتيريا : بكتيريا القولون والبكتيريا العنقودية.

المواد والطرق : في البداية تم إجراء تقييم الخصائص المورفومترية و الفيزيوكيميائية ل 11 صنف من التمور الجزائرية ، بالإضافة إلى تحليل فيزيوكيميائي لبذور حب الرشاد . بعد ذلك قمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الميثانولية والمائية للأصناف حميرة ، تمسريت ودقلة نور وكذلك البذور كل على حدى ومع المزيج .

النتائج : لوحظ تباين كبير بين الأصناف من الجانب المورفومتري و الفيزيوكيميائي . يعتبر النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الميثانولية ضد البكتيريا العنقودية الأكثر فعالية ويمنح المزيج حميرة مع حب الرشاد أعلى قطر تثبيط هو 29.5 ضد نفس السلالة بطريقة الانتشار.

الخاتمة: يمكن تبرير هذه النتائج باستخدام التمر مع/ أو بذور حب الرشاد كبديل طبيعي في علم الصيدلة.

الكلمات الدالة: *Phoenix dactylifera L.* , *Lepidium sativum* , مزيج, التأثير المضاد للبكتيري, بكتيريا القولون, البكتيريا العنقودية .