

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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 en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Microbiologie Appliquée"

Thème :

Fruits et noyaux de *Phoenix dactylifera L.* : différentes potentialités en médecine traditionnelle (cas infection)

Soutenu le : 12/07/2021

Présenté par :

- DEKDAK Alia
- FARES Ghouziel
- LAKHDARI Sara

Devant le Jury:

Grade

-Président: Mm GOURCHALA F.

MCA Université IBNKHALDOUN-Tiaret

-Promoteur: Mm MIHOUB F.

Pr. Université IBNKHALDOUN-Tiaret

-Examineur: Mme. LAKHDAR-TOUMI S.

MCB Université IBNKHALDOUN-Tiaret

Année universitaire: 2020 – 2021

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 personnels du laboratoire de la faculté SNV en particulier, les ingénieurs du laboratoire qui m'ont beaucoup aidé à réaliser ce travail dans de bonnes conditions.

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

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes parents les plus chers du monde qui ont été les premiers

Pour leur soutien et encouragements dans les moments les plus difficiles.

Je vous dédie ce travail car je sais que vous êtes fiers de moi.

Je remercie du fond du cœur Ma grande mère Alia qui m'a donné l'aide et le courage.

.....A mes chers frères : Mhamed, Abderrahmane, Mohamed, Youcef, Houari

.....A mes chères sœurs : Djamila, Nacira, Fatima

.....A mes très chères: Ahlem, Fatima, Kaltoum, Mokhtaria, Souhir, Soumia

.... A toute ma famille

.....Pour mes proches, sans exception

....A Ghouziel et Sara qui ont participé à la réalisation de ce travail ainsi qu'à leurs familles

..... A toute la promotion de la microbiologie appliquée.



Dekdak Alia

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes parents les plus chers du monde qui ont été les premiers
Pour leur soutien et encouragements dans les moments les plus difficiles.*

Je vous dédie ce travail car je sais que vous êtes fiers de moi.

.....A mes chers frères : Lakhdar, Boudali, Mohammed

.....A mes chères sœurs : Fadhila, Hanane, Mona, Radjaâ

.....A mes chères Hafidha et Dalila

.... A toute ma famille

.....A mon très cher ami Naceur

.....Pour mes proches, sans exception

*....A Alia et Sara qui ont participé à la réalisation de ce travail ainsi qu'à leurs
familles*

..... A toute la promotion de la microbiologie appliquée.



Fares Ghouziel

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mes parents les plus chers du monde qui ont été les premiers
Pour leur soutien et encouragements dans les moments les plus difficiles.*

Je vous dédie ce travail car je sais que vous êtes fiers de moi.

*Je remercie du fond du cœur ma grande mère et Grand père qui m'ont donnés
l'aide et le courage.*

.....A mes chers frères : Boutaiba, Abdelkader

.....A mes chères sœurs : Habiba et Chaimaâ

.....A ma chère amie : Zahia

.... A toute ma famille

.....Pour mes proches, sans exception

*....A Alia et Ghouziel qui ont participé à la réalisation de ce travail ainsi qu'à
leurs familles*

..... A toute la promotion de la microbiologie appliquée.

Lakhdari Sara



Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux.....	iii
Liste des annexes	iv
Introduction.....	1
Partie bibliographique : Généralités sur le fenugrec <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	3
1. Nomenclature et description	3
2. Systématique	3
3. Distribution géographique	4
4. Composition chimique.....	4
5. Effets thérapeutiques	4
chapitre I.Partie expérimentale.....	6
I.1. Objectifs de l'étude	6
I.2. Matériel et Méthodes.....	6
I.2.1. Enquête ethnobotanique	6
I.2.1.1. Régions et période de l'enquête.....	6
I.2.1.2. Questionnaire	6
I.2.1.2.1. Informateur	6
I.2.1.2.2. Matériel végétal.....	6
I.2.2. Analyses phytochimiques et microbiologiques	7
I.2.2.1. Lieu et période du travail.....	7
I.2.2.2. Matériel végétal.....	7
I.2.2.2.1. Fruits de dattes	7
I.2.2.2.2. Graines de Fenugrec	7
I.2.2.3. Matériel biologique	8
I.2.2.4. Matériel de laboratoire et produits utilisés	8

I.2.2.5. Protocole expérimental.....	11
I.2.2.6. Préparation des extraits.....	12
I.2.2.6.1. Extrait aqueux	12
I.2.2.6.2. Extrait méthanolique	12
I.2.2.6.3. Calcul du rendement.....	12
I.2.2.7. Analyses phytochimiques	12
➤ Expression des résultats.....	12
➤ Tanins.....	12
➤ Saponosides.....	13
➤ Alcaloïdes.....	13
➤ Terpenoides.....	13
➤ Mucilage.....	13
➤ Anthocyanes.....	13
➤ Test des coumarines....	13
➤ Test de stérols	13
➤ Test des carbohydrates « sucres réducteurs »	13
➤ Test des flavonoïdes	14
2.2.7.3. Etude quantitative.....	14
➤ Dosage des polyphénols totaux.....	14
➤ Dosage des flavonoïdes	15
➤ L'activité antioxydant par la méthode de DPPH	15
I.2.2.8. Analyse microbiologique.....	16
I.2.2.8.1. Choix de la souche	16
I.2.2.8.2. Revivification de la souche.....	16
I.2.2.8.3. Ré-identification de la souche.....	16
➤ Examen macroscopique.....	16
➤ Examen microscopique	17

➤ Tests biochimiques	17
I.2.2.8.4. Etude de l'activité antibactérienne des différents extraits	18
I.2.2.8.5. Paramètres de l'activité antibactérienne	20
I.2.2.8.6. Analyses statistiques.....	20
chapitre II. Résultats et Discussion.....	21
II.1. Résultats de l'étude 1 : enquête ethnobotanique	21
II.1.1. Régions de l'étude	21
II.1.2. Caractéristiques générales des informateurs	22
II.1.2.1. Âge	22
II.1.2.2. Sexe.....	23
II.1.2.3. Situation familiale.....	23
II.1.2.4. Niveau social	24
II.1.2.5. Catégorie	24
II.1.2.6. Niveau d'instruction.....	25
II.1.3. Résultats de l'enquête	26
II.2. Résultats de l'étude 2 : phytochimique et microbiologique.....	28
II.2.1. Résultats des analyses phytochimiques.....	29
II.2.1.1. Rendement des deux extraits aqueux et méthanoliques.....	29
II.2.1.2. Screening et quantification des composés phytochimiques	29
II.2.1.2.1. Cas <i>Ghars</i>	29
➤ Etude qualitative	29
➤ Etude quantitative.....	30
➤ Caractérisation phytochimique qualitative et quantitative	31
➤ Analyse quantitative	33
II.2.1.2.4. Effet synergétique de Ghars avec graines de fenugrec	33
II.2.2. Résultats des analyses microbiologiques	34
II.2.2.1. Caractéristiques de la souche bactérienne utilisée.....	34

II.2.2.2. Résultats préliminaires de l'activité antibactérienne	35
II.2.2.2.1. Témoins négatifs.....	35
II.2.2.2.1. Témoins positifs.....	36
II.2.2.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits.....	37
II.2.2.4. Comparaison de sensibilité des extraits avec les antibiotiques	38
II.2.2.5. Discussion de l'activité antibactérienne et l'analyse phytochimique des différents extraits.....	38
Conclusion et perspectives	41
Références bibliographiques.....	43
Résumé	

Liste des abréviations

ANOVA	Analysis of variance
ATB	Antibiotiques
ATCC	American Type Culture Collection
BP	Baird-Parker
CASFM	Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute Concentration minimal inhibitrice
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
DPPH	2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG	Equivalent acide gallique
EQ	Equivalent quercitine
H	Helba
F	Fenugrec
FAO	Food and Agricultural Organization
G	<i>Ghars</i>
G/F	Mélange <i>Ghars</i> /Fenugrec
G/H	Mélange <i>Ghars</i> /Helba
PPT	polyphénols totaux
R	Rendement
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
UV-Vis	Ultra-Violet Visible

Liste des figures

Figure 1. Photo de plante et graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	3
Figure 2. Variété de la datté Ghars (Source : photo prise lors de l'expérimentation).....	7
Figure 3. Les graines de fenugrec <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	8
Figure 4. Schéma du protocole expérimental de la 2 ^{ème} expérience.....	11
Figure 5: Régions citées lors de l'enquête.....	21
Figure 6. Tranches d'âge des informateurs.....	23
Figure 7: Sexe des enquêtes.....	23
Figure 8: Situation familiale des informateurs.....	24
Figure 9: Revenu des personnes informateurs.	24
Figure 10. Catégories des informateurs.	25
Figure 11: Niveau académique des enquêtés	25
Figure 12. Rendement des deux extraits aqueux et méthanoliques.....	29
Figure 13: Coloration de Gram de la souche <i>S.aureus</i> (G×100).....	35
Figure 14. Témoin négatif vis-à-vis <i>S. aureus</i>	35
Figure 15 : Sensibilité de <i>S.aureus</i> aux différents antibiotiques testés.....	36
Figure 16. Comparaison des diamètres d'inhibition entre les extraits méthanoliques, de Ghars, fenugrec et leurs mélange et la Gentamicine vis-à-vis <i>S.aureus</i>	39

Liste des tableaux

Tableau I. Appareillage et verreries	08
Tableau II. Réactifs et milieux de culture.....	09
Tableau III. Les différents antibiotiques utilisés.....	18
Tableau IV: Les différentes concentrations utilisées pour les trois extraits de l'étude.....	19
Tableau V. Coordonnées géographiques et superficies des palmiers dattier des zones citées lors de l'enquête.....	22
Tableau VI. Résultats de l'enquête relatifs à l'usage thérapeutique de <i>Phoenix dactylifera</i> L.....	26
Tableau VII. Résultats des tests qualitatifs.....	30
Tableau VIII Etude quantitative Teneur en polyphénols et flavonoïdes.....	31
Tableau IX. Effet synergétique de <i>Ghars</i> avec graines de fenugrec.....	34
Tableau X: Résultats des tests d'identification de la souche <i>S.aureus</i>	34
Tableau XI. Diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les antibiotiques vis-à-vis <i>S.aureus</i>	36
Tableau XII. Diamètres et pourcentages d'inhibition des extraits méthanoliques et aqueux vis-à-vis <i>S. aureu</i>	37
Tableau XIII. Effet des extraits de dattes seuls, de fenugrec seul et du mélange G/F vis -à-vis <i>S.aureus</i>	38

Liste des annexes

Annexe 01: Composition des milieux de culture.....	49
Annexe 02 : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	50
Annexe 03 : Préparation de la gamme d'étalonnage.....	51
Annexe 04: Méthode de coloration de Gram.....	52
Annexe 05: Résultats des analyses phytochimique.....	53
Annexe 06: Aspect macroscopiques dans le milieu Baird-Parker	54
Annexe 07: Diamètres d'inhibitions des différents extraits (Méthode des puits).....	55

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 4ème rang mondial avec une production annuelle moyenne estimée à 1136025 tonne par an (FAOSTAT, 2021). De plus, elle détient un patrimoine phoenicicole très diversifié avec un nombre de cultivars qui renferme près de 1000 cultivars (Hannachi et al. 1998). 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**).

Par ailleurs, les dattes, seules ou en combinaison avec d'autres composants, ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter certaines infections microbiennes (**Harrak et Boujne, 2012; Vayalil, 2012**). Parmi ces composants, on retrouve *Trigonella foenum graecum* L. qui est une plante annuelle largement cultivée dans le bassin méditerranéen et dans les pays du Moyen-Orient et connue en Algérie sous le nom d'Al helba. Elle est employée dans le monde entier comme épice culinaire et comme une herbe médicinale. En plus de ses utilisations diététiques, elle est réputée, depuis des siècles, pour ses effets thérapeutiques en médecine traditionnelle (**Rouibi et al. 2018**), ses propriétés antidiabétiques et amélioratrices de la lactation (**Hamza et al. 2012**), ses effets bénéfiques contre les troubles digestifs et les infections intestinales (**Atheer K. 2009 ; Jasim, 2014**).

En Algérie, les études ethnobotaniques sur l'utilisation de la datte dans l'usage thérapeutique restent très insuffisants et peu de travaux lui ont été accordés (**Tirichine 2010 ; Selmani 2017**) ; ce qui justifie notre choix de thème et nous a mené à poser notre question de recherche:

Quelles sont les différentes potentialités des fruits et noyaux de dattes *Phoenix dactylifera* L. en médecine traditionnelle particulièrement dans les cas des traitements des infections ?

Notre étude a été réalisée en deux grandes expérimentations :

Une enquête ethnobotanique sur l'utilisation du palmier dattier en médecin traditionnel algérienne ;

- Analyse phytochimique et microbiologique pour déterminer l'efficacité dans le traitement des infections par les dattes utilisés seuls et en mélange, suite à l'enquête, les graines de fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L. ont été retenues pour le mélange.

Partie Bibliographique

Partie bibliographique : Généralités sur le fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L.

1. Nomenclature et description

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.), en anglais : fenugreek, en français : fenugrec et en arabe : *Al helba*, est une plante herbacée annuelle de la famille des *Fabaceae* (légumineuses) qui peut atteindre 50 cm de haut, à tige dressée, rameuse, feuilles pétiolées, alternées, composées de trois folioles ovales dentées. Les fleurs sont axillaires, solitaires ou groupées par deux, de type papilionacé, jaune pâle à violet clair de forme triangulaire (d'où le nom de trigonelle). Le fruit est une gousse allongée, arquée, pouvant atteindre 20 cm de long et renfermant de nombreuses graines (10 à 20), très dures, aplaties, mesurant 3 à 5 mm de long et 2 à 3 mm de large, de couleur brun clair à brun rougeâtre, marquées par un sillon qui délimite les deux parties inégales (**Mabrouk *et al.*, 2017 ; Ghedira *et al.*, 2010**)(Figure 1)



Figure 1. Photo de plante et graines de *Trigonella foenum-graecum* L.

(Source Google, 2021)

2. Systématique

Cette plante présente la systématique suivante (**Ghedira *et al.* 2010**) :

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous-règne :	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement :	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement :	<i>Magnoliophytina</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>

Sous-classe :	<i>Rosidae</i>
Ordre :	<i>Fabales</i>
Famille :	<i>Fabaceae</i>
Genre :	<i>Trigonella</i> L.
Espèce :	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.

3. Distribution géographique

Le fenugrec est répandu autour du bassin méditerranéen et sur la côte Ouest de la mer Noire. Il est cultivé en Afrique du Nord (Tunisie), en Ukraine, en Inde et en Chine (**Ghedira et al. 2010**).

4. Composition chimique

C'est une plante d'intérêt pharmaceutique parce qu'elle contient divers composés polyphénoliques (stéroïdes, flavonoïdes et alcaloïdes) (**Marzougui et al. 2010**). La graine de fenugrec est riche en protéine (20 à 30%), en acides aminés tels que la 4-hydroxyisoleucine (0,1 à 0,3% du poids de la drogue sèche), en glucides (20 à 45%) principalement des fibres mucilagineuses, en lipides (7 à 10%). Elle renferme des stérols (cholestérol, sitostérol, etc.), les sapogénines (0,1-2,2%), la trigonelline (méthylbétaine, 0,37%), du phosphore, du calcium, du fer, du β -carotène et une huile essentielle (environ 0,015%) mais aussi à des constituants volatils (sesquiterpènes, lactones, etc.) (**Ghédira et Oueslati, 2015**).

5. Effets thérapeutiques

Le fenugrec compte parmi les plus anciennes plantes médicinales et culinaires. Ses graines, grâce à leurs composés chimiques, se révèlent être d'une grande valeur alimentaire et présentent de multiples vertus phytothérapeutiques (**Harchane et al. 2012**). Il est utilisé pour Traiter l'asthénie, l'œdème des jambes, les problèmes rénaux, les brûlures et les enflures, la bronchite, la fièvre, déséquilibres hormonaux ; soigner les furoncles, l'urticaire et l'eczéma, augmente la lactation, stopper la diarrhée et l'anémie; stimuler la prise de poids (**Ghédira et Oueslati, 2015**).

Ces graines sont aussi employées comme épice et sa matière fraîche est employée comme fourrage (**Marzougui et al. 2010**). Les feuilles et les graines de Fenugrec sont utilisées comme antioxydant, antidiabétiques, antimicrobien, anti-inflammatoire et autres (**Mabrouk et al. 2017**).

Chapitre – I–

Partie expérimentale

Partie expérimentale

I.1. Objectifs de l'étude

Notre travail avait pour objectifs d'étudier les différentes potentialités du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. en médecine traditionnelle algérienne entre autre dans le traitement thérapeutique des infections. Il a fait objet de deux expérimentations :

- Expérience 1 : une enquête ethnobotanique
- Expérience 2 : une étude cas au laboratoire, phytochimique et microbiologique portant sur l'effet thérapeutique d'une recette à base de dattes.

I.2. Matériel et Méthodes

I.2.1. Enquête ethnobotanique

I.2.1.1. Régions et période de l'enquête

Notre enquête a été réalisée dans la wilaya de Tiaret auprès des informateurs provenant de différentes régions du sud algérien : Ghardaïa, Bechar, Ouargla, Tamanrasset, Adrar, Biskra, Tindouf et Illizi. Elle s'est déroulée durant la période qui s'étend du début du mois de mars à la fin de Mai 2021.

I.2.1.2. Questionnaire

Un questionnaire a été établi afin de collecter des données sur les utilisations traditionnelles des différentes parties de dattes seules ou en associations avec d'autres produits. Ce questionnaire a comporté deux parties essentielles :

I.2.1.2.1. Informateur

L'enquête a été réalisée auprès des marchands de dattes, des herboristes, des tradipraticiens, des pharmaciens, des femmes oasiennes et des phoeniculteurs. Des fiches codées contenant des informations sur la localité, le sexe, l'âge, la situation socioéconomique et le niveau académique de l'informateur, ont été remplies par les interviewers.

Les informations ont été recueillies sur le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. concernant :

I.2.1.2.2. Matériel végétal

- Les différentes variétés utilisées au stade « *Tmar* » ;
- Seules ou en mélange avec autres produits ;
- La (les) partie (s) utilisée (s) ;
- Mode et modalités d'utilisation ;
- Usage thérapeutique

I.2.2. Analyses phytochimiques et microbiologiques

I.2.2.1. Lieu et période du travail

Notre travail a été effectué au sein des laboratoires de Microbiologie, de Technologie Alimentaire et de Biochimie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Ibn Khaldoun -Tiaret-. Il s'est étalé sur une période allant du 25avril jusqu'à la fin mai 2021.

I.2.2.2. Matériel végétal

La deuxième partie de notre travail consistait en des analyses phytochimiques et microbiologiques. Le choix d'une recette traditionnelle employée dans le traitement d'une infection a été fait suite aux réponses établies par l'enquête. Cette recette est à base des fruits du palmier dattier et des graines de Fenugrec.

I.2.2.2.1. Fruits de dattes

L'étude a porté sur les fruits de la variété de datte *Ghars* récoltée au stade « *Tmar* » durant la saison 2020 provenant de la région de Biskra. Trois (3) Kg de dattes ont achetées dans un commerce dans la ville de Tiaret et conservées à 4 °C dans des sacs hermétiques jusqu'à l'analyse (**Figure 2**). Le choix de la variété *Ghars* a été fait selon le critère de sa fréquence d'utilisation dans le traitement des infections d'après les enquêtés et aussi à cause de sa disponibilité et son faible coût.



Figure 2. Variété de la datte *Ghars* (Source : photo prise lors de l'expérimentation)

I.2.2.2.2. Graines de Fenugrec

Cinq cents grammes (500g) de graines de fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L. ont été achetées dans un commerce dans la ville de Tiaret. L'identification de l'espèce a été effectuée au niveau du département de botanique de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Ibn Khaldoun –Tiaret- Elles ont été triées, broyées en poudre à l'aide

d'un mortier, tamisés à porosité de 0,1 mm et conservées à l'abri de la lumière dans sacs hermétiques (**Figure 3**).



Figure 3. Les graines de fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L.
(Source : photo prise lors de l'expérimentation)

I.2.2.3. Matériel biologique

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits de l'étude, une souche bactérienne de référence *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a été utilisée. Cette souche conservée par congélation dans le glycérol, a été fournie par le laboratoire de microbiologie au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie -Tiaret-.

I.2.2.4. Matériel de laboratoire et produits utilisés

Les différentes verreries, appareillage, réactifs et milieux de culture utilisés dans notre travail sont mentionnés dans les **tableaux I et II**

Tableau I. 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
Micropipette	Lames et lamelles
pH-mètre (HANNA)	Mortier à pilon
Pied à coulisse (MASTERCRAFT)	Pipettes graduées
Plaque chauffante (STUART)	Spatule
Rota-vapeur	Tubes à essais
Spectrophotomètre	Verre de montre

Tableau II. Réactifs et milieux de culture

Paramètres	Produits chimiques	Formule chimique
1-Analyse phytochimique		
a-Analyses qualitatives		
Test des tanins	Chlorure de ferreux (1% préparé au méthanol)	FeCl ₃
Test des Saponosides	/	/
Test des alcaloïdes	Acide chlorhydrique (à 2%) Réactif de Wagner	HCl
Test des terpenoïdes	Chloroforme Acide sulfurique	CHCl ₃ H ₂ SO ₄
Test des mucilages	Ethanol absolu	C ₂ H ₅ OH
Test des anthocyanes	Acide sulfurique (à 10%) Ammoniaque (à 10%)	H ₂ SO ₄ NH ₄ OH
Test des coumarines	Hydroxyde de sodium à 10%	NaOH
Test de stérols	Anhydride acétique	C ₄ H ₆ O ₃
Test de carbohydrates	Liquor de Fehling solution A et B	
Test des flavonoïdes	Acide chlorhydrique à 2% Chlorure de ferreux	HCl FeCl ₃
b-Analyses quantitatives		
La teneur en polyphénols totaux	Réactif de Folin –Ciocalte Carbonate de sodium (20%) Méthanol absolue Acide gallique	(H ₃ PMO ₁₂ O ₄₀)+(H ₃ PW ₁₂₄₀) (NaCO ₃) (CH ₃ OH) (C ₆ H ₂ (OH) ₃ COOH)
La teneur en flavonoïdes	Chlorure de ferreux 2%	Fe Cl ₃
L'activité antioxydant	DPPH Méthanol absolu	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆ CH ₃ OH
2-Analyse microbiologique		
Examen microscopiques	Bouillon nutritif, Gélose Chapman (Annexe 01) Eau distillée Huile à immersion Fuschine Lugol Violet de gentiane	(H ₂ O) (C ₂₀ H ₂₀ CLN ₃) (C ₂₅ H ₃₀ CLN ₃)

Tests biochimiques	Disques Oxydase Eau oxygénée Eau distillée Gélose Baird-Parker	(H ₂ O ₂) (H ₂ O)
Antibiogramme	Gélose Muller-Hinton Méthanol à 96% Antibiotiques (C 30, CT10, MTZ 5, P10, S10 et GEN 10 Tableau IV)	(CH ₃ OH)
Méthode de diffusion en milieu gélosé (Technique de puits)	Eau physiologique (0,9%) Gélose Muller-Hinton	NaCl

I.2.2.5. Protocole expérimental

Les différentes étapes de l'étude phytochimique et microbiologique sont résumées dans la **figure 4**.

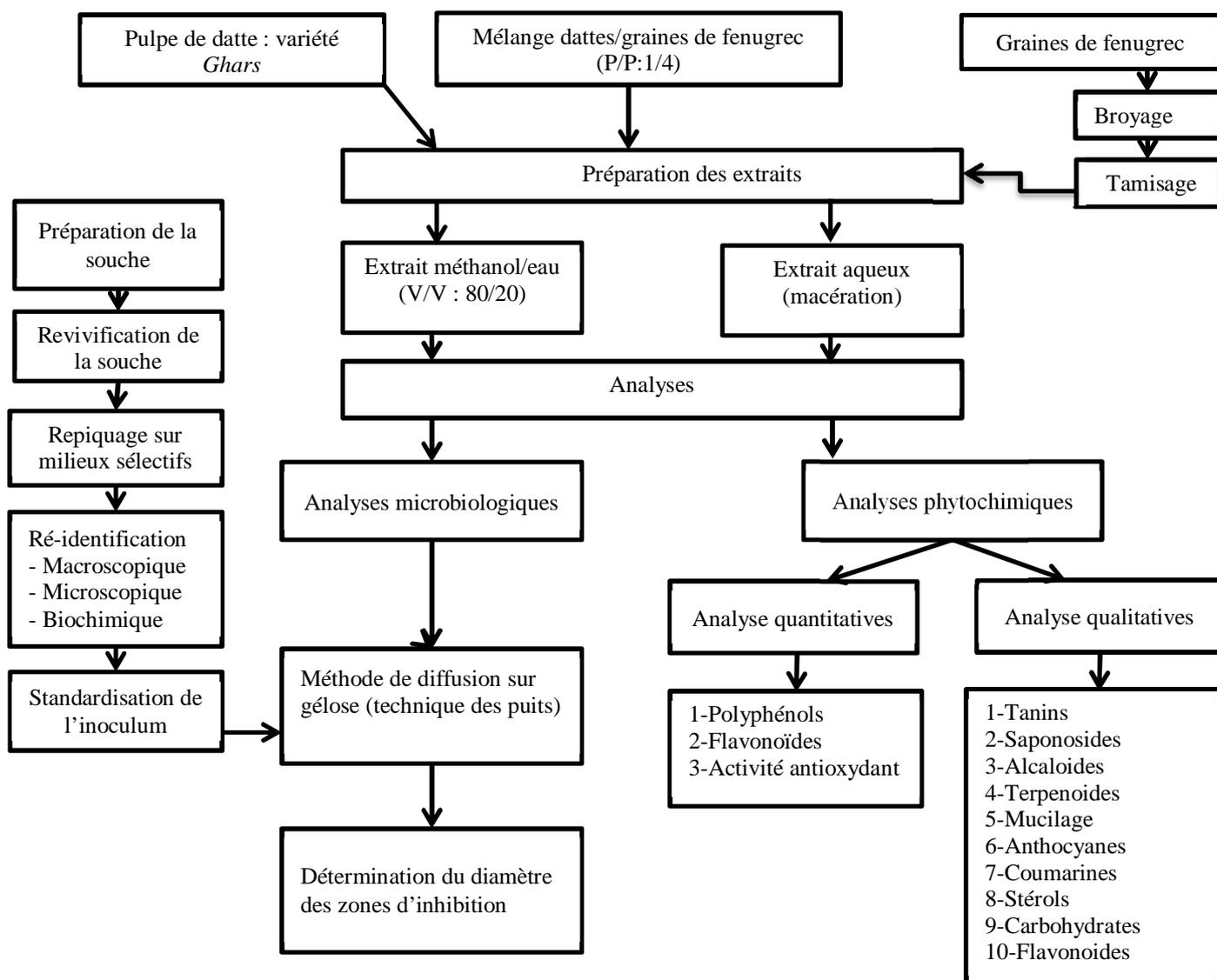


Figure 4. Schéma du protocole expérimental de la 2^{ème} expérience

I.2.2.6. Préparation des extraits

Des extraits aqueux et méthanoliques ont été préparés à partir de la pulpe de la variété *Ghars*, des graines de fenugrec et du mélange pulpe de dattes/graines de fenugrec (P/P : ¼).

I.2.2.6.1. Extrait aqueux

Trois extraits macérés aqueux ont été préparés en plaçant : (i) 10g de la pulpe de dattes, (ii) 2,5g de poudre de fenugrec ou (iii) 10g de pulpe de datte mélangés avec 2,5g de poudre de fenugrec ; dans 100ml d'eau distillée. Chaque extrait a été placé sous agitation pendant 24h et l'extraction a été répétée deux fois successifs après filtration. Les extraits aqueux obtenus ont été concentrés à l'étuve à 70°C pendant 24h.

I.2.2.6.2. Extrait méthanolique

Trois extraits méthanoliques ont été préparés en plaçant : i) 10g de la pulpe de dattes, (ii) 2,5g de poudre de fenugrec ou (iii) 10g de pulpe de datte mélangés avec 2,5g de poudre de fenugrec ; dans 50ml de méthanol/eau distillée (V/V : 80-20). Chaque extrait a été placé sous agitation pendant 2h et l'extraction a été répétée deux fois successifs après filtration. Les extraits méthanoliques obtenus ont été concentrés sous vide par rota-vapeur pendant 10 min à 80°C pour éliminer le solvant.

I.2.2.6.3. Calcul du rendement

Le rendement (R%) de chaque extrait a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{Masse initiale} - \text{Masse finale}}{\text{Masse initiale}} \times 100$$

I.2.2.7. Analyses phytochimiques

I.2.2.7.1. Réactions en tubes

La recherche des groupes chimiques par détection a été réalisée par des réactions en tubes sur des extraits se traduisant par l'apparition de couleur.

➤ Expression des résultats

Réaction +++ : Franchement positive

Réaction ++ : Positive

Réaction + : Moyennement positive

Réaction - : Négative

I.2.2.7.2. Etude qualitative

➤ Tanins

Quelques gouttes de FeCl₃ (1 % préparé au méthanol) sont ajoutées à 1 ml de chaque extrait. Le mélange est agité, l'apparition d'une couleur bleu noir ou brun verdâtre indique la présence de tanins galliques ou de tanins catéchiques respectivement. (Diallo, 2005)

➤ Saponosides

Dans une série de 3 tubes à essai sont introduit un volume de 5 ml de chaque extrait et 5 ml d'eau distillée ensuite le mélange est vigoureusement agité dans le sens de la longueur pendant 15 seconde. Une mousse supérieure à 1cm indique la présence de saponosides. **(Bidie et al. 2011)**

➤ Alcaloïdes

Introduire 5ml de chaque extrait dans des tubes à essais, placés dans l'étuve jusqu'à réduction du volume à 0.1 ml ; ajouter 0.75 ml de HCl à (2%).après une agitation de la solution acide, l'ajout de 3 gouttes du réactif de Wagner. la présence d'alcaloïdes est traduite par la présence d'un précipité blanc jaunâtre ou brun. **(Dohou et al. 2003)**

➤ Terpenoides

Mélanger 5ml de chaque extrait avec 2 ml de chloroforme et quelques gouttes de H₂SO₄ concentré. L'existence des Terpenoides est confirmée par la formation d'un anneau séparant les deux phases. **(Qasim Samejo et al. 2013)**

➤ Mucilage

Dans un tube à essai introduire 1ml de chaque extrait et complété à 10ml avec l'eau distillée, puis ajouter 5 ml d'éthanol absolu. Après 10 minutes la formation d'un précipité floconneux indique la présence de Mucilages. **(OIGA et al. 2012)**

➤ Anthocyanes

1ml de chaque extrait et 3ml d'H₂SO₄ à (10%) sont placés dans un tube après agitation, 1 ml de NH₄OH à (10%) est ajouté. la présence des anthocyanes est confirmée par une coloration bleu-violet. **(Bruneton. 1999)**

➤ Test des coumarines

2ml d'extrait sont mélangés avec 3ml de NaOH (10%). Les coumarines sont révélées par l'apparition d'une couche jaune. **(Bruneton, 1999)**

➤ Test de stérols

Dans des tubes à essai, introduire 1 ml d'extrait et 1 ml d'anhydride acétique C₄H₆O₃ ; le mélange est porté à ébullition sous agitation. la présence de stérols se traduit par la formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides avec une couche surnageant colorée en vert ou violet. **(Liebermann Burchard, 2013)**

➤ Test des carbohydrates « sucres réducteurs

Un mélange de 1 ml de chaque extrait avec 1ml de liqueur de Fehling (Solution A et B) placé dans un bain marie (90°C) pendant 10 minutes. Un précipité rouge brique montre l'existence de sucres réducteurs. **(Roopalatha et Nair, 2013)**

➤ Test des flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser avec 1ml d'acide chlorhydrique à 2% plus quelques gouttes de FeCl₃. L'apparition d'une coloration verdâtre révèle la présence des flavonoïdes. (**Bhandary et al. 2012**)

Pour vérifier la reproductibilité des résultats, toutes les expériences seront réalisées en trois essais.

I.2.2.7.3. Etude quantitative

➤ Dosage des polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Waterman et Mole, 1994**, cité par **Mansouri, 2005**).

• Principe

Le réactif de Folin- Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (MO₈O₂₃) (**Ribereau-Gayon et al. 1976**, cité par **Benamara et al. 2007**).

Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

• Mode opératoire

❖ Analyse du standard et des extraits

- Introduction de 300 µl de la solution de l'acide gallique à différentes concentrations dans les tubes à essai.

- Ajout de 1500 µl du réactif Folin-Ciocalteu puis de 1200 µl de la solution de bicarbonate de sodium dans chaque tube ;

- Agitation puis incubation à l'obscurité pendant 1 heure ;

- Lecture des absorbances à 760 nm.

Le blanc est représenté donc par 300 µl d'eau distillée, additionnée de 1.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 1.2 ml de carbonate de sodium à 7.5 %. Pour les extraits dissout dans le méthanol, l'eau distillée est remplacé par du méthanol.

❖ Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques extractibles totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. (**Annexe 02**)

➤ Dosage des flavonoïdes

La méthode utilisée pour l'estimation des taux de flavonoïdes dans des dattes est celle décrite par (**Lamaison et Carnat, 1991**).

- Principe

La coloration jaunâtre donnée dans cette méthode est due à la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Lagnika, 2005**).

- **Mode opératoire**

- ❖ Analyse du standard

Des aliquotes de 0.2 à 3.0 ml de la solution mère de quercitrine ont été introduites dans une série de tubes à essai, le volume finale dans chaque tube a été complété à 3 ml par addition de méthanol absolu;

- 1 ml a été prélevé de chaque tube et transféré à un autre ;
- 1 ml de la solution méthanolique du chlorure d'aluminium à 2 % y a été ajouté; Après 10 mn, l'absorbance est lue à 430 nm.

- ❖ Analyse des extraits

- 1 ml de chaque extrait de dattes a été introduit dans les tubes à essai.
- 1 ml de la solution méthanolique du chlorure d'aluminium à 2 % a été additionné dans les tubes à essai ; Après 10 mn, l'absorbance est lue à 430 nm. .

- ❖ Expression des résultats

La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercitrine comme standard. (**Annexe 03**)

➤ L'activité antioxydant par la méthode de DPPH

Préparer une solution fraîche du DPPH. En solubilisant 2,4 mg du DPPH dans 100 ml du méthanol absolu. 1 ml de chaque extrait, est ajouté à 2 ml de la solution de DPPH. Le mélange est agité et incubé 30 min à l'obscurité. Effectuer un blanc avec du méthanol et un contrôle (2 ml du DPPH, 1 ml du méthanol). Lire l'absorbance à 517 nm avec spectrophotomètre UV-Visible.

Expression des résultats L'activité antioxydant est calculée en utilisant la formule suivante :

$$A_{antiox} (\%) = \frac{A_o - A_s}{A_o} \times 100$$

Où :

A antiox: Activité antioxydant (%).

A_o: Densité optique du contrôle (nm).

A_s: Densité optique de l'échantillon (nm).

I.2.2.8. Analyse microbiologique

I.2.2.8.1. Choix de la souche

Le choix a porté sur une souche fréquente en pathologie humaine, une bactérie à Gram+ : *Staphylococcus aureus*. Elle est souvent responsable de toxi-infections alimentaires et constitue un problème majeur de la santé publique.

I.2.2.8.2. Revivification de la souche

La souche congelée a été revivifiée à température du laboratoire environ 2 h dans un bouillon nutritif et incubée à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, elle a été repiquée par la méthode des stries dans un milieu sélectif « Chapman ». Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir des colonies caractéristiques.

I.2.2.8.3. Ré-identification de la souche

Pour s'assurer de la pureté de la souche, une ré-identification basée sur la détermination de ses caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques a été réalisée.

➤ 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 à Gram positif et celles à Gram négatif et de montrer la forme et la disposition des cellules bactériennes (**Delarras, 2007**) (**Annexe 04**).

➤ 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

L'apparition de bulles avec un dégagement gazeux de dioxygène indique que la Catalase est positive (Cat +) et l'absence de bulles montre que la Catalase est négative (Cat-).

✓ **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 stérilement 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

Une coloration "violette foncée" apparaît immédiatement sur le disque puis vire au noir indique que l'Oxydase est positive (Oxy+). L'Oxydase négative (Oxy-) se révèle par une absence de coloration.

I.2.2.8.4. Etude de l'activité antibactérienne des différents extraits

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et aqueux de la pulpe de dattes, des graines de fenugrec et du mélange dattes/graines de fenugrec, vis-à-vis *S. aureus* a été réalisée en utilisant la technique de diffusion en puits.

➤ Standardisation de l'inoculum bactérien

On prélève, à partir de culture jeune (18 h/37°C), 3 à 5 colonies identiques et bien isolées dans 10 ml d'eau physiologique stérile et on agite au vortex pendant quelques secondes. Ensuite, on effectue une lecture au spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625 nm pour standardiser à 0,5 Mac Ferland, on admet qu'une densité optique comprise entre 0,08 et 0,13, correspondant à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml (**Andrews, 2008**).

➤ Tests de témoins positifs et négatifs

Deux témoins de sensibilité pour la souche bactérienne *S.aureus* sont réalisés.

- Témoins négatifs: l'eau distillée et le méthanol.
- Témoins positifs : des antibiotiques de référence sont utilisés (**Tableau III**)

Tableau III. Les différents antibiotiques utilisés

ATB	Charge (µg)
Chloramphénicol (C30)	30
Colistine(CT10)	10
Gentamicine (GEN 10)	10
Métronidazole (MTZ 5)	5
Pénicilline (P 10)	10
Streptomycine(S 10)	10

➤ Méthode de diffusion en milieu gélosé (Technique de puits)

Méthode proposée par **Cooper et Woodman en 1946** et, reprise par **Shroeder et Messingen 1949**. Elle repose sur la diffusion du composé antibactérien en milieu solide à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose facilement mesurable (**Eymard, 2003**). En fonction du diamètre d'inhibition la souche microbienne sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante (**Sachtti et al. 2005**).

❖ Technique

20 ml de la gélose Muller Hinton en surfusion a été déposé dans des boites de Pétri stériles de 90 mm de diamètre jusqu'à solidification complète. La surface de la gélose a étéensemencée par écouvillonnage avec l'inoculum de *S. aureus* préalablement standardisé (**Genné et Siegrist, 2003**). Après séchage des boites à température ambiante durant quelques minutes, des puits de 6 mm de diamètre ont été effectués à l'aide de l'envers d'une pipette Pasteur stérile (**Orak et al. 2011**). 50 µl de chaque extrait (aqueux et méthanolique) à différentes concentrations choisies au hasard (**Tableau IV**) ont été déposés dans les puits correspondants. Les boites de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Chaque essai a été répété deux fois.

Tableau IV. Les différentes concentrations utilisées pour les trois extraits de l'étude

Extrait C (g/ml)	<i>Ghars</i>		Fenugrec		Mélange (<i>Ghars</i> /Fenugrec)	
	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
C1	0,43	0,625	0,2	0,23	0,8	0,9
C2	0,34	0,5	0,16	0,19	0,64	0,72
C3	0,30	0,43	0,14	0,16	0,6	0,63
C4	0,21	0,31	0,1	0,12	0,4	0,5
C5	0,18	0,24	0,08	0,1	0,32	0,4
C6	0,08	0,12	0,04	0,05	0,2	0,2

❖ Expression des résultats

L'activité antibactérienne a été 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. La sensibilité

des bactéries cibles envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d'inhibition (**Himratul-Aznita et al. 2011**).

2.2.8.5. Paramètres de l'activité antibactérienne

- pourcentage d'inhibition (I%)

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

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

Où :

D: est le diamètre de la boîte de Pétri (mm);

d: est le diamètre d'inhibition mesuré (diamètre de puits inclus) (mm).

1.2.2.8.6. Analyses statistiques

Les résultats des analyses effectuées sont exprimés à l'aide du logiciel « Excel 2010 » en moyenne \pm l'écart type. La variabilité entre les différents extraits est déterminée en utilisant un logiciel statistique (SPSS, version 2021) par une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de Duncan pour les comparaisons multiples et la détermination des taux non significatifs ($P > 0,05$), significatifs ($P \leq 0,05$), très significatifs ($P \leq 0,01$) ou hautement significatifs ($P \leq 0,001$).

Chapitre – II–

Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussion

II.1. Résultats de l'étude 1 : enquête ethnobotanique

II.1.1. Régions de l'étude

Différentes localités de palmeraies ont été citées lors de l'enquête ethnobotanique. Il s'agit des régions situées essentiellement dans le sud algérien : sud-ouest ; *Adrar*, *Bechar*, *Tindouf*, centre du Sahara ; *Ghardaïa* et *Tamanrasset*, nord-est ; *Biskra* et sud-est *Illizi* et *Ouargla* (**Figure 5**). Les coordonnées géographiques et les superficies de palmeraies sont présentées dans le **tableau V**.

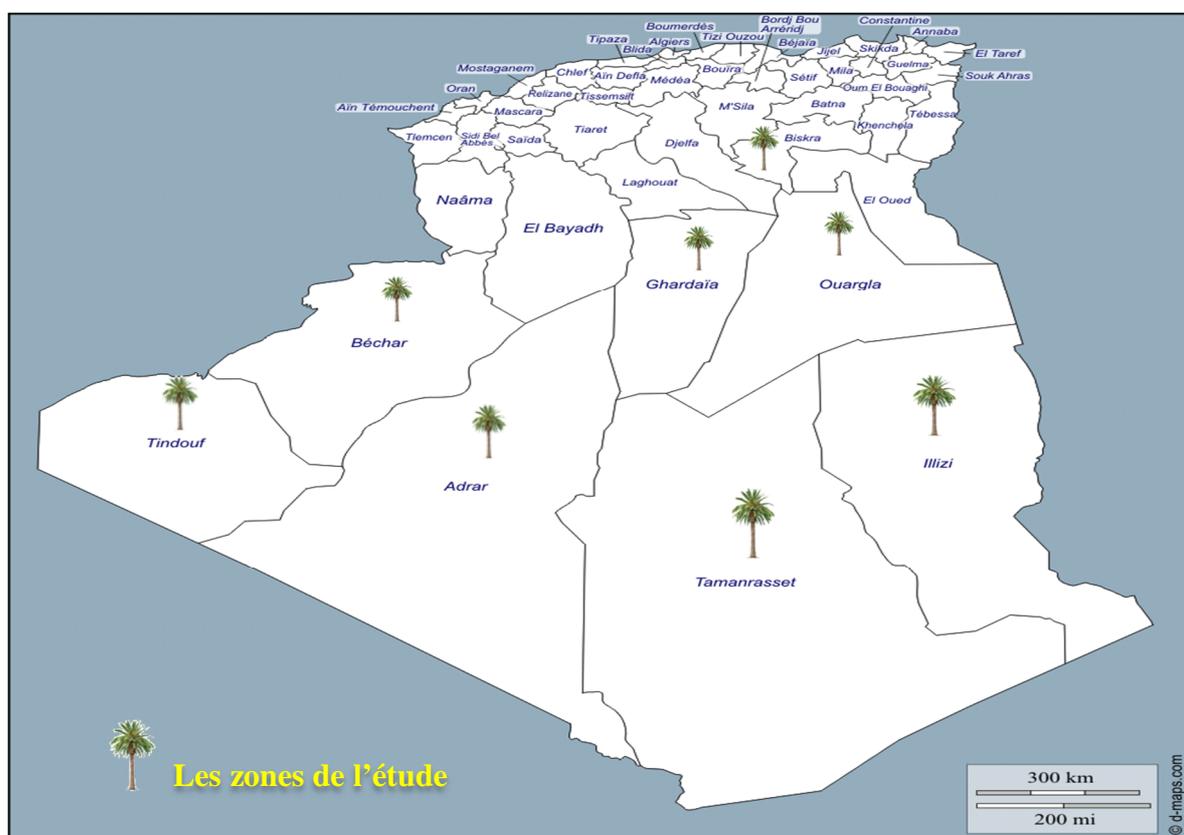


Figure 5: Régions citées lors de l'enquête

Tableau V. Coordonnées géographiques et superficies des palmiers dattier des zones citées lors de l'enquête

Willaya	Coordonnées géographiques (d'après Google Maps, 2021)	Superficie (ha) (d'après Guemari 2014)
Adrar	Altitude : 279m Latitude : 27°52'00'' Nord Longitude : 0°17'00'' Ouest	27 748
Bechar	Altitude : 773m Latitude : 31°37'00'' Nord Longitude : 2°13'00'' Ouest	13 870
Biskra	Altitude : 87m Latitude : 34°51'00'' Nord, Longitude 5°44'00'' Est	42 040
Illizi	Altitude : 608m Latitude : 26°30'29'' Nord Longitude : 8°28'59'' Est	1 220
Ghardaïa	Altitude : 566 m Latitude : 32°29'00'' Nord Longitude : 3°41'00'' Est.	10 525
Ouargla	Altitude : 138m Latitude : 31°57'47'' Nord Longitude : 5°20' 31'' Est	21 374
Tamanrasset	Altitude : 1400m Latitude : 22°47'13'' Nord Longitude : 5°31' 38'' Est	7 000
Tindouf	Altitude : 433m Latitude : 27°40'00'' Nord Longitude : 8°09'00'' Ouest	434

II.1.2. Caractéristiques générales des informateurs

Les informations recueillies auprès des enquêtés nous ont permis de les caractériser selon le sexe, l'âge, la situation socioéconomique, la catégorie et le niveau académique.

II.1.2.1. Âge

Dans notre étude, 67,8 % des personnes enquêtées sont âgés entre 40 et 60 ans suivis de 26,7% pour la tranche d'âge [20-40 [ans et 5% pour les personnes âgés de 60 ans et plus (**Figure 6**).

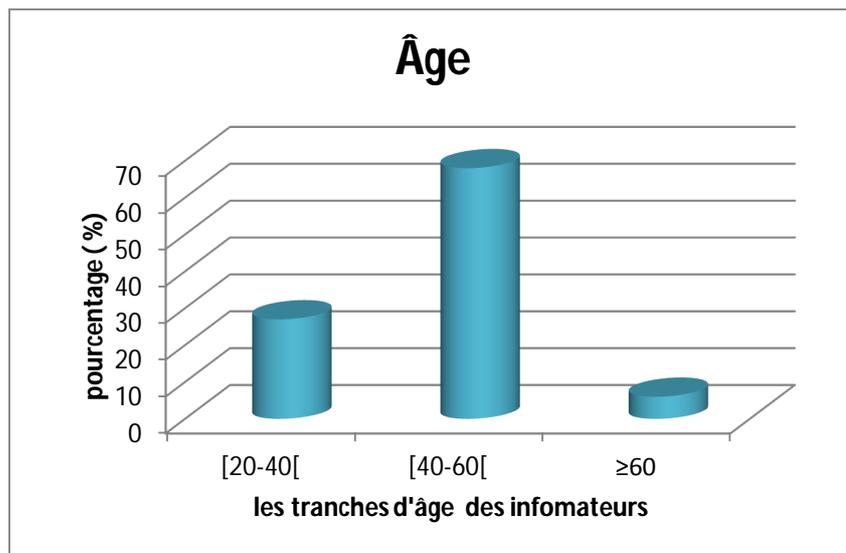


Figure 6. Tranches d'âge des informateurs

II.1.2.2. Sexe

Comme le montre la **figure 7**, la proportion la plus élevée des informateurs est représentée par des hommes soit 60%.

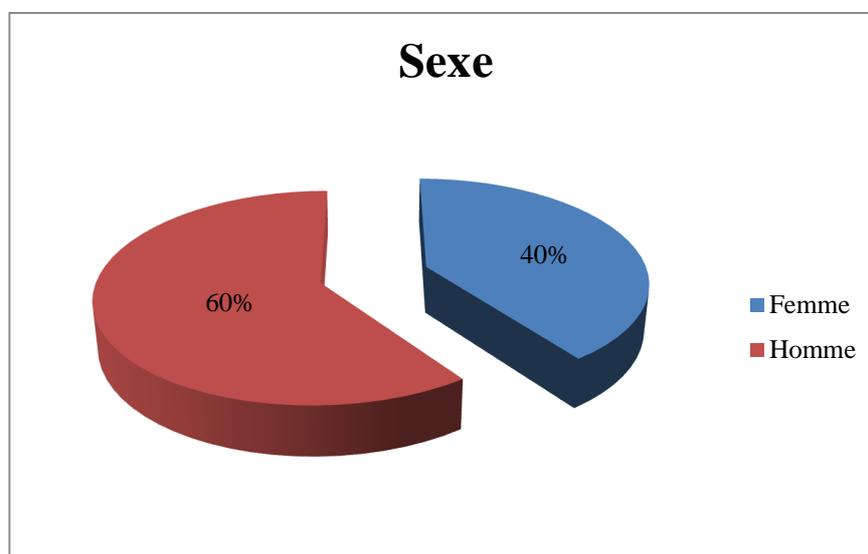


Figure 7: Sexe des enquêtes

II.1.2.3. Situation familiale

La majorité des enquêtés sont des personnes mariées et représentent 86% de la population d'étude (**Figure 8**).

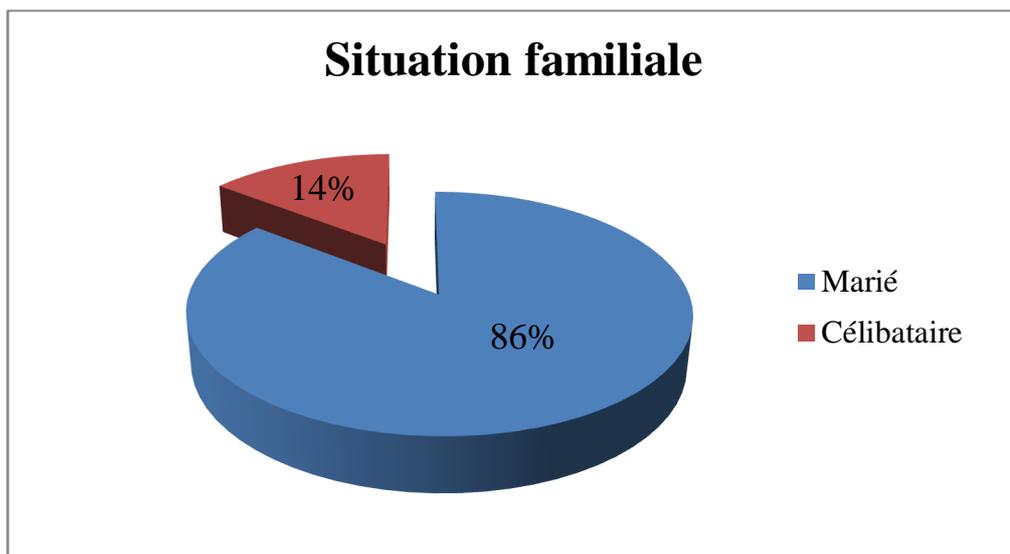


Figure 8: Situation familiale des informateurs

II.1.2.4. Niveau social

68% des personnes enquêtées ont un revenu moyen, 19% paraissent avec un niveau social faible et 13% ont un revenu élevé (**Figure 9**).

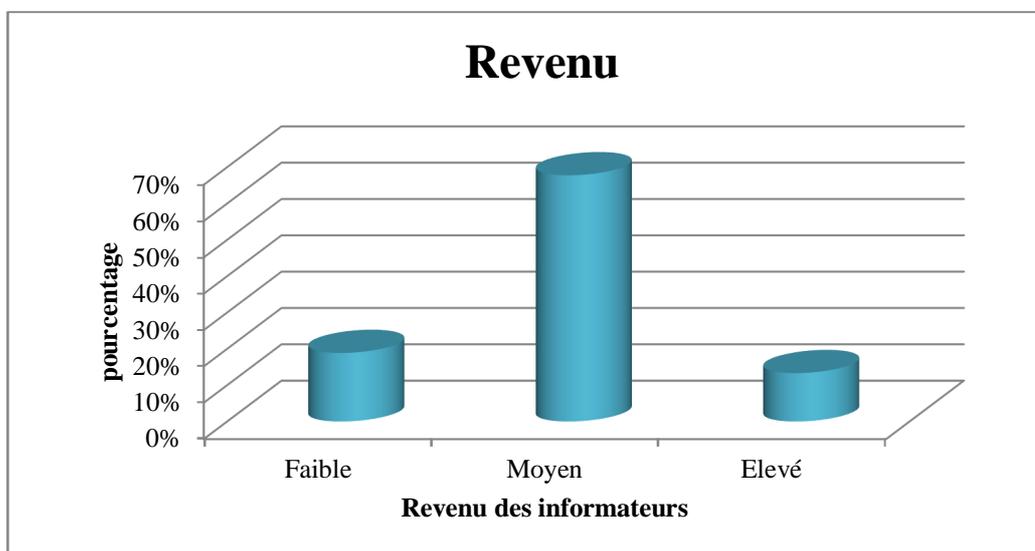


Figure 9: Revenu des personnes informateurs.

II.1.2.5. Catégorie

Les informateurs dans notre étude ethnobotanique sont représentés majoritairement par des herboristes et des tradipraticiens avec des pourcentages de 33% et 29% respectivement. Les

pharmaciens et les femmes oasiennes représentaient les catégories les moins enquêtés avec un taux de 7% chacune (**Figure 10**).

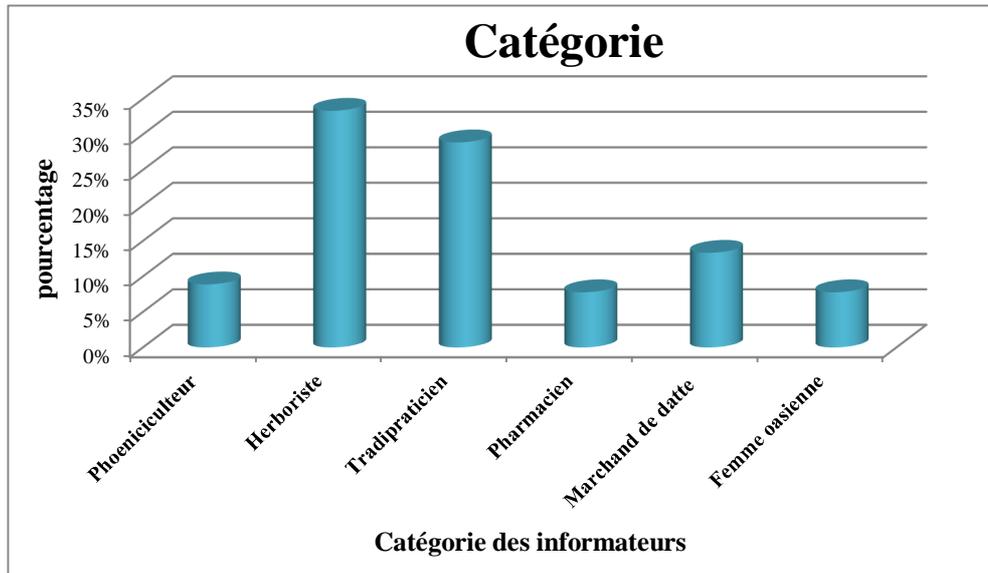


Figure 10. Catégories des informateurs.

II.1.2.6. Niveau d'instruction

La plupart des personnes enquêtées sont d'un niveau secondaire soit 32%. Les illettrés représentaient la plus faible proportion soit 19% (**Figure 11**).

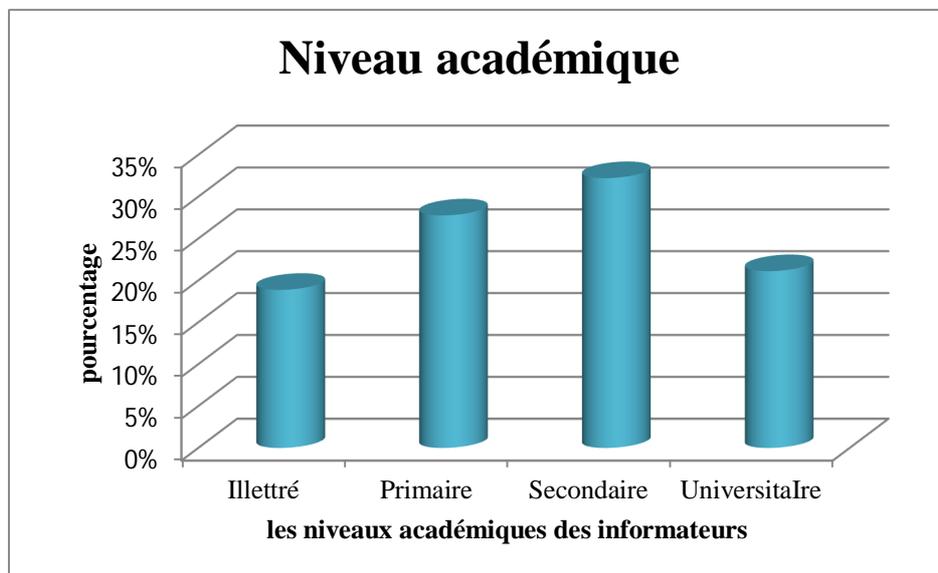


Figure 11: Niveau académique des enquêtés

Il ressort de cette première partie de l'enquête ethnobotanique que la catégorie des informateurs la plus représentée est celle des herboristes hommes âgés entre 40 à 60 ans,

mariés, à revenu moyen ayant un niveau académique secondaire où l'information était la plus accessible.

II.1.3. Résultats de l'enquête

Dans le **tableau VI**, sont résumés les principaux résultats de l'enquête relatifs à l'usage thérapeutique des différentes parties et variétés du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L.

Tableau VI. Résultats de l'enquête relatifs à l'usage thérapeutique de *Phoenix dactylifera* L.

Variété	Type d'infection	Partie utilisée	Préparation	Voie d'administration/ Durée de traitement	Localité de la palmeraie	Autres usages thérapeutiques
Seule						
<i>Ghars</i>	Buccale	Fruit	Seule	Oral/7 jours	Bechar, Biskra	- Stimulation de lactation -Amélioration de la vue -Facilite l'accouchement -La constipation -Régulation de la tension artérielle -Traitement de l'anémie -Traitement de la glande thyroïde
Mélange						
<i>Ghars</i>	Cutanée	Fruit	Une pâte de datte mélangée avec le sel et l'huile d'olive (pâte)	Badigeonnage/ 2 à 3 jours	Adrar	-Les douleurs des muscles
	Cutanée	Fruit	Mélange de datte avec fenugrec (macération)*	Badigeonnage/ 1 à 2 jours	Bechar	-Contre stress/ aide au sommeil -Sensibilité de la peau
	Digestive	Fruit	Datte avec une culière à café de <i>Nigella sativa</i> (pâte)	Oral/15 jours	Tindouf	-Contre le dysfonctionnement sexuel
	Buccale	Fruit	Une pâte de datte mélangée avec huile d'olive (pâte)	Oral/4 à 5 jours	Biskra	-Pour la mémoire
	Cutanée	Fruit	Datte avec Curcuma (pâte)	cataplasme/ un mois	Ghardaïa, Adrar	-Rétablissement des fractures
	Cutanée	Fruit	Datte avec le sel et l'eau	Badigeonnage/	Adrar	

			(macération)	3 jours		-Amélioration de la vision
	Conjonctivite	Fruit	Datte avec l'eau (macération)	Rinçage/1à 2 jours	Ouargla	
	Digestive	Fruit	Datte avec sésame, rob, miel, grenade, jus de raisin et concombre (pâte)	Oral/3 à 4 jours	Illizi	-L'énurésie -Tumeur testiculaire
	Conjonctivite	Noyau	Poudre de noyau mélangé avec poudre de noyau d'olive et poudre de <i>Syzygium aromaticum</i> (girofle)	<i>Khoul</i> /7 jours	Adrar	-Contre les hémorroïdes -Traitement de la goutte
	Digestive	Fruit	Datte avec farine de blé et cardamine (<i>Hurf</i>) (pâte)	Oral/2 jours	Bechar	-Piqûre des incestes
	Digestive	Fruit	Datte avec <i>Artemisia</i> (<i>Chih</i>) et huile d'olive (pâte)	Oral/4 à 5 jours	Illizi	-Contre les varices -Grossesse à haut risque
	Buccale	Fruit	Datte avec <i>D'han</i> et miel et <i>Syzygium aromaticum</i> (girofle) (pâte)	Oral/5 jours	Tamanrasset	-Pour le système immunitaire
	Bronchiale	Fruit	Datte avec fenugrec et le miel (pâte)	Oral/15 jours	Adrar	-Contre bruleur cutanée
	Digestive	Fruit	Rob avec poudre de coriandre (macération)	Oral/7 jours	Ghardaïa	-Constipation -Glycémie
	Oreille	Fruit	Datte avec <i>Artemisia</i> (<i>Chih</i>) et huile d'olive (macération)	Badigeonnage/2 jours	Bechar	-Contre la migraine
	Cutanée	Fruit	Datte avec graisse de chèvre et genévrier (pâte)	Badigeonnage/3 à 4 jours	Adrar	
Deglet Nour	Vaginale	Penne	Pennes (décoction)	Massage /5 jours	Ouargla	-L'amimie
	Conjonctivite	Noyau	Broyage et tamisage de noyaux et mélangé avec <i>khoul</i> (poudre)	<i>Khoul</i> /2 à 4 jours/	Beskra	-Problèmes respiratoires/ asthmatiques
	Conjonctivite	Fruit	Datte avec l'eau et safran (macération)	Rinçage/3 à 4 jours	Adrar	-Allergies
	Buccale	Noyau	Huile de noyaux de dattes	Rinçage/2 jours	Illizi	-Saignement du nez
H'mira	Cutanée	Fruit	Miel de datte	Badigeonnage/5 jours	Ghardaïa	-Stérilité
	Digestive	Fruit	Datte avec <i>Artemisia campetris</i> (<i>Tgoufet</i>) (pâte)	Oral/15 jours	Ouargla, Bechar	
	Bronchiale	Fruit	Rob avec thym, gingembre (pâte)	Oral/7 jours	Adrar	
	Urinaire	Noyau	Poudre de noyaux avec poudre <i>Syzygium aromaticum</i> dans le lait (macération)	Oral/6 jours	Beskra	

* : Recette retenue pour la suite du travail

L'enquête ethnobotanique menée a montré la distribution des utilisations des dattes *Phoenix dactylifera* L. pour les infections comme suit (**Tableau VI**):

- 86% des informateurs ont mentionné l'utilisation du fruit dans les traitements suivi de 10% pour le noyau et 4% pour des pennes.
- La variété *Ghars* est la plus utilisée avec un pourcentage de 63% des enquêtés, suivie de *H'mira* avec 22% et *Deglet Nour* avec 15%.
- Huit (8) différents types d'infections ont été répertoriés lors de l'enquête. 28% des informateurs affirment l'utilisation des dattes pour les infections digestives, 24% pour les infections cutanées, 17% pour les infections buccales, 14% pour les conjonctivites, 8 % pour les infections bronchiale, 3% pour chacune des infections : vaginale, urinaire et celle de l'oreille.

L'usage répété avec une fréquence 3 fois de la variété seule ou en mélange est considéré comme majeur dans le traitement des infections.

L'étude a identifié quatre (4) maladies infectieuses majeures dont 33% digestives, 29% cutanées, 21% buccales et 17% conjonctivites.

Plusieurs auteurs ont rapporté que les dattes *Phoenix dactylifera* L. peuvent être utilisées dans le traitement de plusieurs maladies (**Cherif et al. 2014 ; Selmani et al. 2017 ; Bouzabata et Yavuz, 2019**).

Dans notre étude, la fréquence des usages thérapeutiques se répétait pour le cultivar *Ghars* avec une proportion de 63% et l'utilisation des fruits s'avère la plus importante et est préconisée par 86% des enquêtés. Ces mêmes constatations ont été faites par **Trichine (2010)**

L'effet thérapeutique des dattes a été signalé pour d'autres types de pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, problèmes respiratoires, l'anémie, l'allergie, l'hypertension, le diabète, la fertilité et autres (**tableau VI**), ce qui confirmé par d'autres auteurs (**Belaga, 2011 ; Gourchala et Henchiri, 2013; Gourchala et al. 2016 ; Selmani et al. 2017**).

II.2. Résultats de l'étude 2 : phytochimique et microbiologique

L'enquête ethnobotanique nous a permis de choisir une recette utilisée traditionnellement dans le traitement des infections pour la suite des travaux phytochimique et microbiologiques réalisés au laboratoire. La recette thérapeutique contre les infections cutanées spécialement sur les plaies purulentes est présentée dans le **tableau VI** ; il s'agit du cultivar de datte (*Phoenix dactylifera* L.) *Ghars* et des graines de Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.). Ce choix retenu a été basé sur les résultats de l'enquête concernant la variété la plus utilisée (*Ghars* : 63%) et la partie de datte la plus utilisée (fruit : 86%) (**Voir chapitre I**).

II.2.1. Résultats des analyses phytochimiques

II.2.1.1. Rendement des deux extraits aqueux et méthanoliques

Les rendements pour les extraits aqueux s'avèrent inférieurs par rapport à ceux des extraits méthanoliques pour tous les échantillons analysés. Le rendement le plus élevé est obtenu pour l'extrait de *Ghars*/ Fenugrec méthanoliques soit 82,57 % (**Figure 12**).

Ceci peut s'expliquer par la richesse des extraits méthanoliques en composants extractibles par le méthanol.

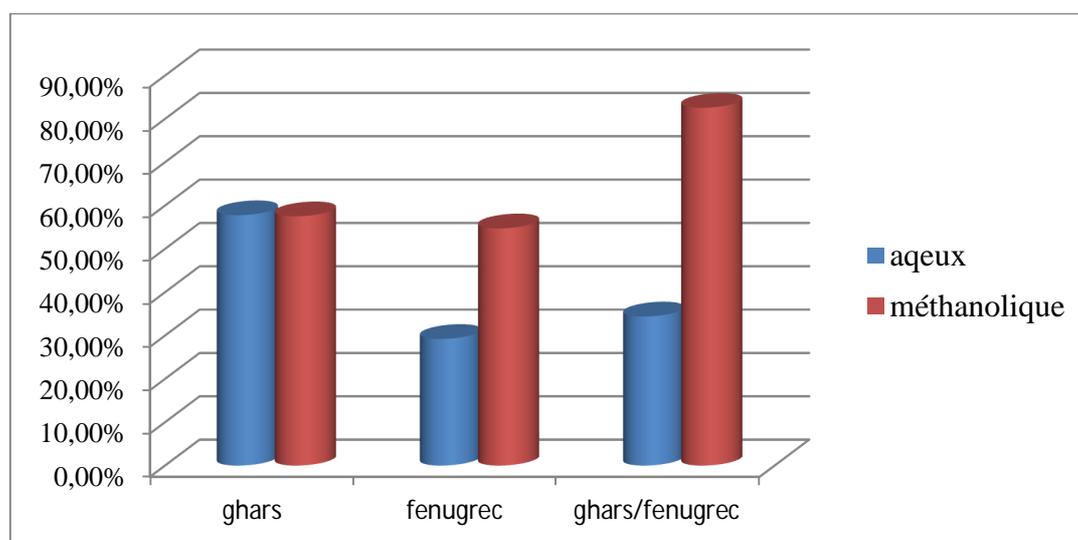


Figure 12. Rendement des deux extraits aqueux et méthanoliques

II.2.1.2. Screening et quantification des composés phytochimiques

II.2.1.2.1. Cas Ghars

➤ Etude qualitative

La recherche des différents groupes chimiques par les réactions de coloration et précipitation révèlent la présence de tanins, saponosides, composés terpenoïdes, coumarine, carbohydrates et flavonoïdes dans les deux extraits et l'absence d'anthocyanes et d'alcaloïdes de stérols dans l'extrait méthanolique et mucilage dans l'extrait aqueux **Tableau VII**.

Ces observations ont été faites par d'autres auteurs (**Gourchala et al. 2015 ; Mihoub et al. 2019**) pour la même variété *Ghars*.

Tableau VII. Résultats des tests qualitatifs. (Annexe 05)

	Extraits aqueux			Extraits méthanolique		
	<i>Ghars</i>	Fenugrec	<i>Ghars</i> / Fenugrec	<i>Ghars</i>	Fenugrec	<i>Ghars</i> / Fenugrec
Tanins	++	+	++	+++	++	+++
Saponosides	++	++	+++	++	+	++
Alcaloïdes	–	++	+	–	+	+
Terpenoides	++	+++	++	+	+	+++
Mucilage	–	++	+	+	++	++
Anthocyanes	–	–	–	–	–	–
Coumarine	+	++	+	+	+	+
Stérol	+	–	+	+	+	+
Carbohydrates	+++	+	++	+++	+	+++
Flavonoïdes	+	++	+++	+	+	++

➤ Etude quantitative

✓ **Teneur en polyphénols et flavonoïdes**

Les valeurs des teneurs en polyphénols varient entre 48,30 et 18,17 mg GAE/g et celles des flavonoïdes entre 15,32 et 19,15 mg QE/g MF respectivement dans l'extrait méthanolique et aqueux **Tableau VIII**. Les données des polyphénols de la variété de l'étude comparées aux valeurs rapportées par d'autres auteurs **Amiour, (2009) ; Ghiaba et al. (2012) ; Gourchala et al., (2015) ; Mihoub et al., (2019) ; Bentabba et al., (2020)** pour la même variété algérienne s'avèrent largement inférieures. **Ghiaba et al. (2014)** trouvent des valeurs inférieures (11,97 mg GEA/GMS) aux nôtres Pour la même variété mais de saison différente. Cette variabilité peut-être dû à la saison de récolte et aux conditions climatiques.

Tableau VIII. Etude quantitative Teneur en polyphénols et flavonoïdes

	Extrait aqueux			Extrait méthanolique		
	<i>Ghars</i>	Fenugrec	<i>Ghars</i> / Fenugrec	<i>Ghars</i>	Fenugrec	<i>Ghars</i> / Fenugrec
Polyphénols (mg EAG/100g)	18,17 ± 0,02	17,46 ± 0,04	18,95 ± 0,04	48,30 ± 0,4	19,28 ± 0,1	34,76± 0,06
Flavonoïdes (mg EQ/100mg)	19,15 ± 0,1	5,16 ± 0,07	28,30 ± 0,06	15,32 ± 0,2	9,46 ± 0,1	37,89 ± 0,1
Activité antioxydant (%)	45,79 ± 0,2	50,59 ± 0,3	91,52 ± 0,07	84,85 ± 0,2	133,46 ± 0,4	503,23 ± 5,92

Les moyennes suivies par des lettres différentes d'une même ligne sont significativement différentes

✓ **Activité antioxydant**

En ce qui concerne l'activité de piégeage du radicale DPPH, avec des pourcentages d'inhibition 45,97 et 84,85% respectivement dans les extraits aqueux et méthanolique ont montré une activité antioxydant importante comparée à d'autres études (**Benmeddour et al. 2013 ; Tassoult et al. 2021**).

II.2.1.2.2. Cas des graines fenugrec

➤ Caractérisation phytochimique qualitative et quantitative

✓ **Analyse qualitative**

L'analyse qualitative sur les deux extraits des graines de fenugrec a montré la présence des tanins, des alcaloïdes, du mucilage, des coumarines, des saponosides, des carbohydrates, et des flavonoïdes avec une forte réaction positive pour l'extrait aqueux et une variation des terpenoïdes avec des réactions franchement à moyennement positives dans les extraits aqueux et méthanoliques respectivement. Ceci peut s'expliquer par le potentiel d'extracibilité des phytoconstituants par l'eau. Par contre les stérols et anthocyanes ont été absents (**Tableau VIII**). D'autres études ont montré la richesse des graines de fenugrec en substances bioactives (**Sumayya et al. 2012, Bouhenni et al. 2021**)

✓ Teneur en polyphénols et flavonoïdes

Les résultats montrent que les teneurs sont significativement ($P < 0,000$) élevées en polyphénols totaux obtenues dans l'extrait méthanolique par rapport à celles de l'extrait aqueux. Nos valeurs sont supérieures à celles rapportées par **Birjees-Bukhari et al. 2008**. En revanche des études antérieures de **Kaviarasan et al. (2007)**, **Seasotiya et al. (2014)** et **Bouhenni et al. (2021)** ont montré des teneurs largement supérieures aux nôtres soit 78.6, 186 et 115 mg GAE/g MS respectivement dans l'extrait méthanolique.

Les teneurs en flavonoïdes $9,46 \pm 0,1$ mg g QE/ MS pour l'extrait méthanolique s'avèrent supérieures à celles obtenues 5,16 mg QE/g MS pour l'extrait aqueux. En effet, ces teneurs sont très élevées comparées à celles obtenues par **Birjees-Bukhari et al. (2008)** qui sont de 0,6 ; 0,65 et 0,41 pour les extraits méthanolique, éthanolique et acétonique respectivement et par ailleurs sont largement inférieures quel que soit l'extrait comparés à ceux obtenus par **Belguith Hadriche et al. (2013)** qui ont montré une teneur de l'ordre de 20,8 mg EQ/g d'extrait. ; D'autre part **Gupta et Nair (1999)** avaient montré que les graines de fenugrec sont riches en flavonoïdes (>100 mg/g).

Il semble que l'efficacité de l'extraction augmente avec la polarité du solvant utilisé ces mêmes observations ont été faites dans d'autres études, la valeur la plus élevée était obtenue avec l'acétone le solvant le plus polaire (**Muhson et al. 2014**). **Turkmen et al. (2006)**, ces mêmes ont rapporté que les solvants de polarité différente ont un effet significatif sur les composés phénoliques et l'activité antioxydant ; la teneur la plus élevée est obtenue dans le solvant le plus polaire.

✓ Activité antioxydant

Les résultats ont montré que l'activité antioxydant était sensible aux solvants d'extraction ; le méthanol a donné la valeur de DPPH la plus élevée (133,46%) comparée à celle (50,59%) de l'extrait aqueux. Nos valeurs sont supérieures à ceux de **Musa et al. (2011)**, où les pourcentages de piégeage du DPPH pour les graines de fenugrec variaient de 67,30 à 43,61 %, Malgré l'utilisation des mêmes types de solvants (eau et méthanol). La différence dans les résultats pourrait être attribuée aux différentes méthodes d'extraction (**Uma et al. 2010**). Les différents résultats obtenus à partir des études précédentes peuvent être attribués à différents cultivars, conditions de croissance, stade de maturité à la récolte, ou aux conditions de stockage et au temps écoulé avant l'analyse des fruits.

II.2.1.2.3. Cas de mélange Ghars/Graines fenugrec

Les tests phytochimiques sur les deux extraits de mélange ont montré la présence des divers phytoconstituants recherchés et absence des anthocyanes ceci est conforme aux résultats trouvés pour les deux composants séparés (**Tableau VIII**).

➤ Analyse quantitative

Les valeurs obtenues suite au dosage des polyphénols et flavonoïdes des extraits sont reportés dans le (**Tableau IX**). Les résultats montrent que le mélange est plus riche en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique par rapport à l'extrait aqueux avec des moyennes de 37,89 et 28,30 mg GAE/g MF respectivement. Les mêmes observations sont faites pour les flavonoïdes où les valeurs élevées sont trouvées dans l'extrait méthanolique 34,76 vs 18,95mg QE/g MF pour l'extrait aqueux.

II.2.1.2.4. Effet synergétique de Ghars avec graines de fenugrec

L'Effet synergique le plus élevé a été montré dans l'extrait du mélange pour l'activité antioxydant alors que l'effet synergique le plus faible a été montré dans le mélange pour flavonoïdes (**Tableau X**) cela pourrait être dû au fait que les graines possède des composés terpéniques (**Tableau VIII**) qui auraient un effet synergique dans les antioxydants avec d'autres antioxydants. La présence de composés bioactifs dans les extraits de fenugrec et de *Ghars* (**Tableau VIII et Tableau X**). Contribuent aux effets synergiques d'autres auteurs ont indiqué que la présence de polyphénols, flavonoïdes et de terpènes ont des capacités antioxydants dans l'activité de piégeage des radicaux libres (**Yu et al. 2005**).

D'autre part il a été rapporté que le mélange les extraits de plantes dans les formulations peuvent avoir un bon développement de produit avec des propriétés antioxydants optimales (**Amarowicz et al. (2004)**).

Tableau IX. Effet synergétique de *Ghars* avec graines de fenugrec

		Valeur prédite	Valeur d'expérience	Type d'interaction
Polyphénols	Aqueux	17,81	28,30	Synergie
	Méthanolique	33,76	37,89	
Flavonoïdes	Aqueux	12,15	18,95	Synergie
	Méthanolique	12,39	34,76	
Activités antioxydants	Aqueux	48,19	91,52	Synergie
	Méthanolique	109,15	503,22	

II.2.2. Résultats des analyses microbiologiques

II.2.2.1. Caractéristiques de la souche bactérienne utilisée

Les résultats des tests d'identification de la souche *S.aureus* sont présentés dans le tableau X.

Tableau X. Résultats des tests d'identification de la souche *S.aureus*.

Souche	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	
Caractéristiques		
Morphologie des colonies	-Aspect macroscopiques	Chapman: Colonies rondes, jaunes ou dorés, lisses et bombées à bord régulier. BP: colonies noirâtres entourées par un halo clair
	- Aspect microscopiques	Chapman et BP: Coques en amas sous forme de grappe de raisin, Gram+, immobile
Biochimiques	-Catalase	+
	-Oxydase	-

+: Présence; -: Absence

Les caractéristiques macroscopiques de *S.aureus* montrent que cette souche se cultive facilement sur milieu Chapman formant des colonies rondes à pigments jaunes avec un bord

régulier et un relief bombé ; ce qui correspond aux critères donnés par **Guiraud et Rosec (2004)**. Sur le milieu BP, les colonies sont noirâtres entouré par un halo clair (**Annexe 6**). Pour les caractéristiques microscopiques et biochimiques, les cellules se présentent sous forme de coques à Gram+ associés en grappes de raisins, immobiles, catalase positive, oxydase négative (**Figure 13**) (**Federighi, 2005**).

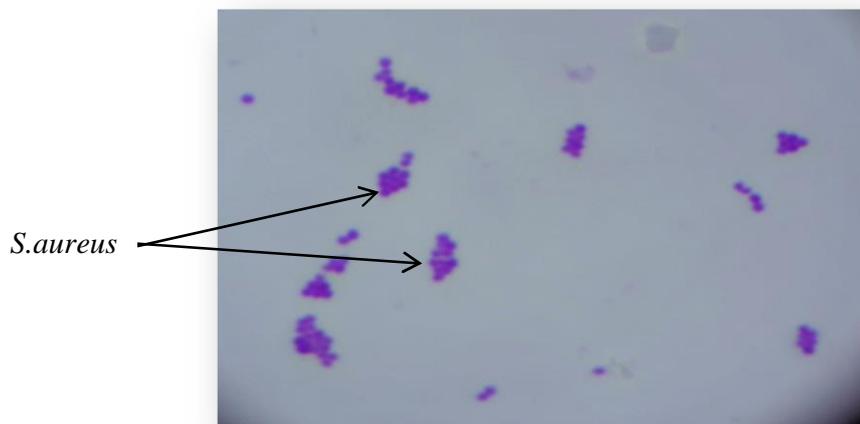


Figure 13: Coloration de Gram de la souche *S.aureus* (G×100)

(Source : photo prise lors de l'expérimentation)

II.2.2.2. Résultats préliminaires de l'activité antibactérienne

II.2.2.2.1. Témoins négatifs

D'après les résultats présentés dans la **figure 14**, les témoins négatifs réalisés sur l'eau distillée et le méthanol (80%) n'ont exprimé aucune zone d'inhibition vis-à-vis *S. aureus*.



Figure 14. Témoin négatif vis-à-vis *S. aureus* (puits : 1 et 2 : méthanol, 3 et 4 : eau distillée)

II.2.2.2.1. Témoins positifs

Nous avons testé la sensibilité de la souche bactérienne *S. aureus* vis-à-vis six antibiotiques pour s'assurer de sa viabilité. La **figure 15** et le **tableau XI** montrent les diamètres des zones d'inhibition obtenus

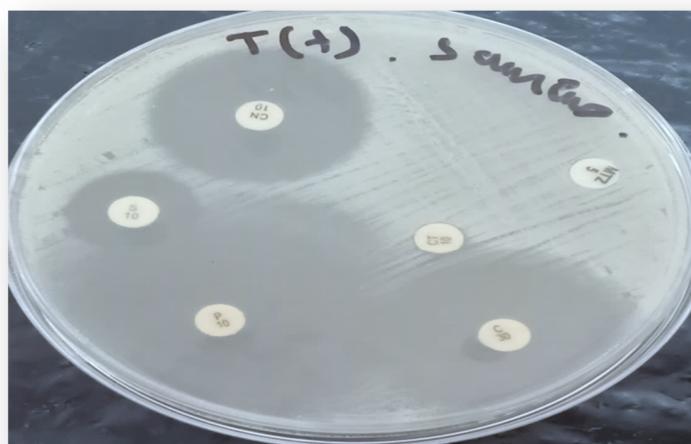


Figure 15 : Sensibilité de *S.aureus* aux différents antibiotiques testés

Tableau XI. Diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les antibiotiques vis-à-vis *S.aureus*

ATB	Diamètre (mm)	I (%)	P
Métronidazole (MTZ) Colistine(CT)	0 ^a	0 ^a	0,000 ^{***}
Streptomycine(S)	17,5±0,7 ^b	19,4 ^b	
Gentamicine (GEN) Chloramphénicol (C)	28,5±2,12 ^c 29±1,41 ^c	31,7 ^c 32,2 ^c	
Pénicilline (P)	39±1,41 ^d	45,6 ^d	

*** : hautement significatif ($P \leq 0,001$) ; I % : pourcentage d'inhibition de la souche ; ATB : antibiotique ; a, b, c, d les groupes homogènes donnée par l'analyse d'ANOVA selon le test de DUNCAN

D'après le **tableau XI**, l'ANOVA a montré que les différents antibiotiques exercent des effets hautement significatifs, on note que la souche et *S.aureus* ont très sensibles aux : Pénicilline, Gentamicine et Chloramphénicol et résistante aux Métronidazole, Colistine alors qu'elle présente une sensibilité intermédiaire à la Streptomycine. Les seuils de sensibilité (S) et de résistance plus (R) ou moins importants (I) qui ont été relevés par les antibiotiques

testés dans notre travail s'avèrent comparable à la gamme donnée par le comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CLSI, 2013 ; CASFM, 2019).

II.2.2.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits

Pour étudier l'effet antibactérien des différents extraits aqueux et méthanolique de la pulpe de la variété *Ghars*, des graines de fenugrec et du mélange pulpe de dattes/graines de fenugrec vis-à-vis la souche bactérienne *S. aureus*, nous avons choisi au hasard des concentrations différentes afin de déterminer les diamètres (Z) et les pourcentages d'inhibition (I%), les résultats obtenus sont présentés en moyenne \pm écart type et sont regroupés dans le **tableau XII. (Annexe 07)**

Tableau XII. Diamètres et pourcentages d'inhibition des extraits méthanoliques et aqueux vis-à-vis *S. aureus*.

	Extrait aqueux		Extrait méthanolique	
	Z (mm)	I (%)	Z (mm)	I (%)
Ghars	13 \pm 1,41	14,4	19 \pm 1,41	21,1
	11 \pm 0	12,2	11 \pm 1,41	12,2
	10 \pm 0	11,1	9,5 \pm 0,7	10,6
	11 \pm 1,41	12,2	11 \pm 0	12,2
	9,5 \pm 2,12	10,6	10,5 \pm 0,7	11,7
	9 \pm 0,7	10	9,5 \pm 0,7	10,6
Fenugrec	10,5 \pm 0,7	11,7	19,5 \pm 0,7	21,7
	10,5 \pm 0,7	11,7	19,5 \pm 0,7	21,7
	10,5 \pm 0,7	11,7	17,5 \pm 0,7	19,4
	12,5 \pm 0,7	13,9	15,5 \pm 0,7	17,2
	18,5 \pm 2,12	20,6	13 \pm 1,41	14,44
	12,5 \pm 0,7	13,9	10,5 \pm 0,7	11,7
Mélange (G/F)	18 \pm 1,41	20	24,5 \pm 0,7	27,2
	13,5 \pm 0,7	15	26 \pm 2,82	28,9
	15,5 \pm 2,12	17,2	25 \pm 0	27,8
	14 \pm 1,41	15,6	23,5 \pm 2,12	26,1
	11,5 \pm 2,12	12,8	18 \pm 1,41	20
	8 \pm 1,41	8,9	14,5 \pm 0,7	16,1

Z : diamètre des zones d'inhibition ; **I %**: pourcentage d'inhibition

Pour faciliter l'analyse statistique de la variance (ANOVA), nous avons choisi les diamètres des zones d'inhibition les plus importants afin de comparer l'effet des extraits de dattes seuls, de fenugrec seul et du mélange G/F, les résultats sont récapitulés dans le **tableau XIII**.

Tableau XIII. Effet des extraits de dattes seuls, de fenugrec seul et du mélange G/F vis-à-vis *S. aureus*.

		Z (mm)	I (%)	P
Extrait aqueux	<i>Ghars</i>	13±1,41 ^a	14,4 ^a	0,000***
	Fenugrec	12,5±0,7 ^a	13,9 ^a	
	Mélange (G/F)	18±1,41 ^b	20 ^b	
Extrait méthanolique	<i>Ghars</i>	19±1,41 ^b	21,1 ^b	
	Fenugrec	19,5±0,7 ^b	21,7 ^b	
	Mélange (G/F)	26±2,82 ^c	28,9 ^c	

Z : diamètre des zones d'inhibition ; **I** : pourcentage d'inhibition

*** : hautement significatif ($P \leq 0,001$) ; I % : pourcentage d'inhibition de la souche ; a, b, c les groupes homogènes donnée par l'analyse d'ANOVA selon le test de DUNCAN

II.2.2.4. Comparaison de sensibilité des extraits avec les antibiotiques

D'après les résultats de l'antibiogramme, la souche étudiée était sensible à la pénicilline, chloramphénicol et gentamicine avec des diamètres d'inhibition de 39 mm, 29 mm et 28,5 mm respectivement, à effet intermédiaire pour la streptomycine et résistante à la colistine et métronidazole. Pour évaluer l'effet antimicrobien des extraits méthanoliques de dattes, du fenugrec et du mélange G/F vis-à-vis *S. aureus*, nous avons comparé avec la gentamicine qui s'est avéré la plus proche de nos résultats (**Figure 16**).

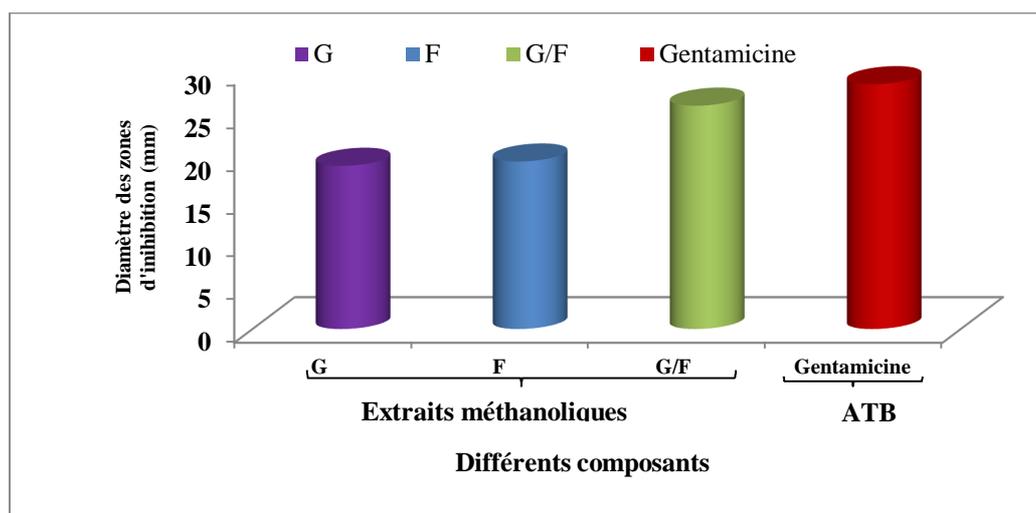


Figure 16. Comparaison des diamètres d'inhibition entre les extraits méthanoliques, de *Ghars*, fenugrec et leurs mélange et la Gentamicine vis-à-vis *S.aureus*

D'après la **Figure 16**, on note que l'extrait méthanolique du mélange G/F a exercé un effet inhibiteur comparable et très proche de la gentamicine par rapport aux extraits seuls. Ceci ouvre des perspectives quant à l'utilisation des extraits naturels de plantes comme alternatives aux antibiotiques.

II.2.2.5. Discussion de l'activité antibactérienne et l'analyse phytochimique des différents extraits

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'effet antibactérien des différents extraits de dattes de la variété *Ghars*, de fenugrec et du mélange datte/fenugrec vis-à-vis de la souche bactérienne *S.aureus*, sont récapitulés dans le **tableau**:

Les extraits aqueux et méthanoliques ont exercé des effets antibactériens hautement significativement différents ($P \leq 0,001$) avec des zones d'inhibition plus importantes dans l'extrait méthanolique soient de 19 à 26 mm vs. 12,5 à 18 mm.

Malhi et al., (2014) ont fait les mêmes constatations et ont expliqué 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 montré que seul l'extrait méthanolique avait un effet inhibiteur contre *S.aureus* aucun effet n'a été observé pour l'extrait aqueux (**Boucenna et al. 2016** et **Boukirat et al. 2017**). Contrairement à nos résultats, **Daas-Amiour** et ses collaborateurs (**2014**), ont montré que son l'extrait aqueux des dattes exerçait un effet plus important que l'extrait méthanolique vis-à-vis de la souche bactérienne *S.aureus* (10,2 mm vs. 8,8 mm). Même si ces auteurs ont travaillé sur la

même variété algérienne de dattes (*Ghars*) provenant de la même région (Biskra), les différences observées peuvent être dues aux conditions expérimentales et au facteur « saison » qui peut affecter les résultats.

Si on compare nos résultats à ceux de **Daas-Amiour** et ses collaborateurs (2014), on remarque que notre extrait méthanolique a montré un diamètre d'inhibition deux fois plus important soit 19 mm vs. 8,8 mm pour la même variété *Ghars*. Alors que d'autres études réalisées par **Boucenna et al. (2016)** et **Mihoub et al. 2019** sur le même extrait vis-à-vis de la même souche bactérienne *S.aureus*, ont signalé des zones d'inhibition supérieures de 34,5mm et 26,3 mm respectivement.

Nos résultats sont proches de ceux de **Naser Al-Timimi (2019)** et **Walli et al. (2015)** réalisées sur la sensibilité de *S.aureus* sur les extraits aqueux (12 mm) et méthanoliques (22 mm) des graines de fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L. Autres études effectuées sur les mêmes extraits par des chercheurs algériens (**Bouhenni et al., 2019**), Indiens (**Nandagopal et al., 2012 ; Sharma et al., 2017**) et saoudiens (**Dhawi et al., 2020**) ont trouvé des diamètres d'inhibition largement inférieurs aux nôtres soient : 7 à 10 mm, 3,2 à 6,4 mm, 0 à 5 mm et 6,2 à 7,7 mm respectivement, alors nos diamètres sont inférieurs à ceux trouvés par une équipe malaisienne pour des extraits similaires soient 25,9 à 44,1 mm (**Norziah et al., 2014**).

Quel que soit l'extrait utilisé (aqueux ou méthanolique), l'association du fenugrec avec les dattes s'avère intéressante et des groupes homogènes hautement significativement différents ($P \leq 0,001$) dans les deux cas. Toutefois, la mixture de l'extrait méthanolique G/F vis-à-vis *S.aureus* a dégagé un groupe homogène distinct et a donné le diamètre d'inhibition le plus élevé (26 mm) comparativement à la variété *Ghars* seule (19mm) et la graine de Fenugrec seule (19,5 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 Fenugrec. A notre connaissance, aucun travail *in vitro* n'a été réalisé auparavant sur la bioactivité du mélange dattes/ Fenugrec; ce qui a constitué une limite lors de l'interprétation des résultats dans la présente étude. Toutefois, une étude réalisée *in vivo*, a montré que le mélange dattes/fenugrec était bénéfique et a été utilisé comme supplément à la stimulation de la lactation chez la femme allaitante ; ce qui a engendré une augmentation significative du poids du nourrisson à partir de l'âge de 2 semaines (**El Sakka et al. 2014**). Les pulpes de dattes, les graines de fenugrec et leur association ont donné un effet antibactérien intéressant contre les bactéries à Gram+, ce qui constituerait une source naturelle prometteuse des composés antibactériens. L'effet antibactérien des dattes, du Fenugrec et du

mélange G/F pourrait être attribué aux composés bioactifs qui rentrent dans la composition phytochimique de ces extraits. En effet, lors de notre étude quel que soit l'extrait, méthanolique ou aqueux, le mélange G/F a donné des valeurs intéressantes et hautement significativement supérieures ($P \leq 0,001$) par rapport aux extraits seuls des polyphénols totaux, des flavonoïdes et de l'activité antioxydant soient ; (34,7 mg EQ/100mg); (37,8 mg EQ/100mg); (503,23mg EQ/100mg); vs (19,28 mg EQ/100mg); (9,46mg EQ/100mg); (84,85 mg EQ/100mg) respectivement.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

A travers l'enquête ethnobotanique réalisée dans une première expérience de notre étude, il ressort que:

- Huit (8) localités de palmeraies situées essentiellement dans le sud algérien ont été citées par les informateurs dont trois se répétaient avec une fréquence de 33,3%, 27,8% et 16,7% pour *Adrar*, *Ghardaïa* et *Biskra* respectivement.
- La catégorie des informateurs la plus représentée est celle des herboristes hommes âgés entre 40 à 60 ans, mariés, à revenu moyen ayant un niveau académique secondaire où l'information était la plus accessible.
- Les principaux résultats relatifs à l'usage thérapeutique des différentes parties et variétés du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. en médecine traditionnelle algérienne particulièrement dans le traitement thérapeutique des infections ont révélé que : 86% des informateurs ont mentionné l'utilisation du fruit, suivi de 10% pour le noyau et 4% pour des penes. La variété *Ghars* s'est avérée la plus utilisée avec un pourcentage de 63% des enquêtés, suivie de *H'mira* avec 22% et *Deglet Nour* avec 15%. Huit (8) maladies infectieuses ont été répertoriées dont quatre (4) ont été déclarées majoritairement par les informateurs avec des taux des différentes infections de : 33% digestives, 29% cutanées, 21% buccales et 17% conjonctivites.

A partir des résultats de cette première partie, la recette retenue pour la suite des travaux phytochimiques et microbiologiques réalisés au laboratoire, est à base de fruits de dattes de la variété *Ghars* (*Phoenix dactylifera* L.) et des graines de Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) ; elle est connue pour son utilisation traditionnelle dans le traitement des infections. Les résultats des analyses phytochimiques et microbiologiques ont fait sortir :

Un effet synergique du mélange G/F a donné des valeurs intéressantes et hautement significativement supérieures ($P \leq 0,001$) par rapport aux extraits seuls des polyphénols totaux, des flavonoïdes et de l'activité antioxydant soient ; Ce qui a été confirmé par les observations préalable (34,7 mg EQ/100mg); (37,8 mg EQ/100mg); (503,23mg EQ/100mg); vs (19,28 mg EQ/100mg); (9,46mg EQ/100mg); (84,85 mg EQ/100mg) respectivement.

- es faites lors de l'analyse qualitative des différents composés phytochimiques détectés.
- Lors de l'évaluation de l'effet antibactérien des extraits méthanoliques et aqueux des *Ghars* et de la graine de fenugrec seuls et en association vis-à-vis

S. aureus, il résulte que cette souche était plus sensible contre tous les extraits testés qui ont exercé des effets hautement significativement différents ($P \leq 0,001$) avec des zones d'inhibition plus importantes dans l'extrait méthanolique soient de 19 à 26 mm vs. 12,5 à 18 mm. Quel que soit l'extrait utilisé (aqueux ou méthanolique), l'association du fenugrec avec les dattes a montré un effet synergique intéressant hautement significativement différent ($P \leq 0,001$) et a donné le diamètre d'inhibition le plus élevé (26 mm) comparativement à la variété *Ghars* seule (19mm) et la graine de Fenugrec seule (19,5 mm).

Les fruits de la *Phoenix dactylifera* L. et la graine de fenugrec 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 fenugrec associées aux dattes dans la culture algérienne et donner une valeur ajoutée à cette combinaison.

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

Références bibliographique

Références bibliographiques

- ✎ **Abeer El Sakka, Mostafa Salama, Kareem Salama** (2014) Dates on Breast Milk Production and Infant Weight *Journal of Pediatric Sciences* 6:e202
- ✎ **Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., Weil J.A.** 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551–562
- ✎ **Andrews J.M.**, (2008) standardized disc susceptibility testing method, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 256-278.
- ✎ **Baliga, M.S., Baliga, B.R.V., Kandathil, S.M., Bhat, H.P., Vayalil, P.K.** 2011. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Res Int.* 44, 1812-1822
- ✎ **Belguedj, N.** (2015) Réparations alimentaires à base de dattes en Algérie : Description et diagrammes de fabrication. Mémoire de Magister. Université de Constantine: Algérie.
- ✎ **Bhandary S.K., Kumari S.N., Bhat V.S., Sharmila K.P., Bekal, M.P.** 2012. Preliminary Phytochemical Screening of various extracts of *Punica granatum* peel, whole fruit and seeds. *Nitte University Journal of Health Science NUJHS*, vol 2, no 4, p. 34-38.
- ✎ **BIDIE A d P., N'GUESSAN B B., YAPO A F., N'GUESSAN J D & DJAMAN A J** (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne.
- ✎ **Birjees-Bukhari S., Iqbal M. et Memon S.** (2008). Antioxidative activity of extracts from fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*), *Pakistan journal environ. Chimestry*, 2:78-83
- ✎ **Boucenna K, Chair K, Neguaz A,** (2016) *Effet antibactérien de quelques variétés de dattes algériennes.* Mémoire de Master académique. Université Ibn Khaldoun : Tiaret.
- ✎ **Bouhenni Hasna, Koula Doukani, Nazim Sekeroglu, Sevgi Gezici, SouhilaTabak** (2019) Comparative study on chemical composition and antibacterial activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds *Ukrainian Food Journal*. 2019. Volume 8. Issue 4 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.
- ✂ **Bouzabata A., Mahomoodally F. 2019.** Quantitative Documentation of Traditionally-used Medicinal Plants from Northeastern Algeria: Interactions of Beliefs among Healers and Diabetic Patients *Journal of Herbal Medicine*
- ✂ **Bruneton J.(1999)**. flavonoïde, pharmacogénie, phytochimie: plante médicinale; ED3: teq et doc .p1467.
- ✂ **CASFM (2019)** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Institut Pasteur Paris.
- ✂ **Cherifa Selmani, Djamila Chabane, Nadia Bouguedoura. (2017)** Ethnobotanical survey of *Phoenix dactylifera* L. pollen used for the treatment of infertility problems in Algerian oases.
- ✂ **CLSI (2013)** Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. U.S.A.
- ✂ **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
- ✂ **Delarras, C. (2007)** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Paris : Lavoisier : Tec et Doc.
- ✂ **Diallo. A. M. (2005)**. Etudes des plantes médicinales de Niafouké (Région de Tombouctou), phyto-chimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* (Capparidacée). Thèse de doctorat. Bamako, 140p.
- ✂ **Dohou N ; Yamni K ; Yamni K ; Tahrouch S ; Idrissi Hassani L.M ; Badok A ; Gmara N.(2003)**. Screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine, thymelaeales. *Bull. Soc. Pharm* ; 142 : pp61-78.
- ✂ **Eymard S. (2003)** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus*); choix des procédés .Thèse de doctorat de l'université de Nantes ,143 pp
- ✂ **F. Gourchala, M. Ouazouaz, F. Mihoub and C. Henchiri; 2015**, Compositional analysis and sensory profile of five date varieties grown in south Algeria
- ✂ **FAO (2021)** FAOSTAT Food and Agricultural Organization of United Nation. Disponible sur: <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC/visualize>. [Consulté le 08/06/2021].

- ✂ **Fatima zohra bentebba, Ghiaba zineb, mokhtar saidi; 2020.** Contenu phytochimique et propriétés antioxydantes de Ghars (*Phoenix dactylifera* L.) récolté à différents stades de maturité.
- ✂ **Fatma Mihoub Freha Gourchala Safia LAKHDAR-TOUMI (2019)** Bioactivity of Algerian palm dates *Phoenix dactylifera* L. *Ukrainian Food Journal*. 2019. Volume 8. Issue 2
- ✂ **Federighi M. (2005).** Bactériologie Alimentaire *Compendium d'hygiène des aliments*. ECONOMICA. Paris, p392
- ✂ **Genné D. et Seigrist H. (2003).** De l'antibiogramme à la prescription d'un antibiotique. *Med Suisse*, (8) : 464-468.
- ✂ **Ghedira, K., Goetz1, P., Le Jeune, R., (2010).** Fenugrec: *Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae ex. Leguminosae). 8, 180-4.
- ✂ **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.
- ✂ **Ghiaba Z., Yousfi M., Hadjadj M. and Saidi M., 2014** .Study of Antioxidant Properties of Five Algerian Date (*Phoenix dactylifera* L) Cultivars by Cyclic Voltammetric Technique," *International Journal of Electrochemical Science*, 9(2), 909-920.
- ✂ **Ghiaba.Z., Boukouada.M., Djeridane.A., Saidi.M., Yousfi.M. , 2012.** of antioxidant activity and phenolic compounds of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Algeria *Mediterr. J. Nutr. Metab.* 5; 119.
- ✂ **Gourchala F. et Henchiri C.** Study of the Effect of Dates on Blood Glucose and Lipid Profile in Healthy Human Subjects. *Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci.* 2013, 3, 826–833
- ✂ **Gourchala F., Mihoub F., Derradj M., Henchiri C. 2016.** Effect of Algerian varieties dates on glycemic, arterial blood pressure and satiety responses. *Asian J Pharm Res. Health Care* 8:52–61
- ✂ **Guiraud J. P, (1998)** *Microbiologie alimentaire*. Paris: DUNOD.
- Gupta, R., & Nair, S. 1999.** Antioxidant flavonoids in common Indian diet. *South Asian Journal of Preventive Cardiology*, 3, 83–94.
- ✂ **Hamza N., Berke B., Umar A., Cheze C., Gin H., Moore N. 2019.** A review of Algerian medicinal plants used in the treatment of diabetes

- ✂ **Hamza N., Berke B., Cheze C., Le Garrec R., Umar A., Agli A.N., Lassalle R., Jove J., Gin H. and Moore N. (2012).** Preventive and curative effect of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds in C57BL/6J models of type 2 diabetes induced by high-fat diet. *J.Ethnopharmacol.* 142: 516–522.
- ✂ **Hannachi S, Benkhalifa A, Khitri D, Brac de la Perrière R.A, (1998)** *Inventaire variétal de la Palmeraie Algérienne.* Algérie: C.D.A.R.S et U.R.Z.A.
- ✂ **Harchane, H., El Addas, H., Amsaguine, S., El Amrani, N., Radallah, D., (2012).** Effets de l'extrait aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. *Phytothérapie*, 10 (6), 357-362.
- ✂ **Harrak H, Boujnah M, (2012)** *Valorisation technologique des dattes au Maroc.* Maroc: INRA. L. (Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie*, 8 (3): 180-184.
- ✂ **Himratul-Aznita W.H., Mohd-Al-Faisal N., Fathilah A.R. (2011),** Determination of the percentage inhibition of diameter growth (PIDG) of Piper betle crude aqueous extract against oral *Candida* species, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, pp. 878–884.
- ✂ **Jasim Naeem Al-Asadi (2014)** Therapeutic Uses of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) College of Medicine, Basrah University, Basrah, Iraq; alasadijasim1951@yahoo.com
- ✂ **Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabagirathi, R., Anuradha, C.V. and Priyadarsini, K.I. (2007)** In Vitro Studies on Antiradical and Antioxidant Activities of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) Seeds. *Food Chemistry*, 103, 31-37.
- ✂ **Lagnika L., 2005.** Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur. Strasbourg, 249 p.
- ✂ **Lina A Naser Al-Timimi (2019)** Antibacterial and Anticancer Activities of Fenugreek Seed Extract 3774 *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 20.
- ✂ **Mabrouk, B., D'Araujo, M. E. M., Gouia, H., Bettaieb, B. K. L., (2017).** Effets de l'acide salicylique sur l'activité antioxydante de Fenugrec (*Trigonella-foenum-graecum*L). Cultivé en présence d'Arsenic et de Zinc. *Revue des Régions Arides*, (43).
- ✂ **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.

- ✂ **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.
- ✂ **Marzougui, N., Elfalleh, W., Boubaya, A., Guasmi, F., Ferchichi, A., Lachieheb, B .and BeJi M., (2010).**Répercussion de la polyploïdie sur le profil moléculaire ISSR et sur les contenus en vitamines et en protéines chez *Trigonella foenum-graecum L.* *Acta Bot. Gallica*, 157(1), 89- 99.
- ✂ **Mawahib, E.M. E., Ammar, M.A .A. and BadrEldin A.E.S., (2015).** Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*).*Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(2), 147-157.
- ✂ **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.
- ✂ **Muhson I. et Mashko Abeed AL 2014.** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Fenugreek Seeds Extract. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 2014-15; 6(4); 841-844
- ✂ **Norziah, M. H., 1Fezea, F. A., 1Bhat, R. and 1Ahmad, M. (2015)** Effect of extraction solvents on antioxidant and antimicrobial properties of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum L.*) *IFood Technology Department, School of Industrial Technology, Universiti Sains Malaysia, USM, 11800 Penang, Malaysia International Food.*
- ✂ **OLGA. D, ANGEL .C. G, JOSÉ M.A, (2012).** mucilage from chia seeds (*salvia hispanica*): microestructure, physico-chemical characterization and applications in food industry. Pontificia Universidad Catolica de Chile Escuela de ingenieria.
- ✂ **Orak H.H., Yagrar H., Isbilir S.S., Demirci A.S., Gumus T., Ekinci N. (2011).**Evaluation of antianxydant and antimicrobial potentiel of strawberry tree “*Arbutus unedo L.*” leaf. *Food.Sci. Biochemical*, (23) : 1249-1259.
- ✂ **Oueslati, H.-A. & Ghédira, K. (2015).** Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum graecum*. *Phytothérapie*, 13: 234-238.
- ✂ **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.
- ✂ **QasimSamijo, M;Shah,S;BanoMemon,S;Chundrigar,S.(2013).** Phytochemical screening of *TamarixdioicaRoxb.* *Journal of pharmacy research*, (7),181-183.
- ✂ **Rahmani, M., Hamel, L., Toumi-Benali, F., Dif, M.M., Moumen, F. & Rahmani, H. (2018).** Determination of antioxidant activity, phenolic quantification of four

varieties of fenugreek *Trigonella foenum graecum* L. seed extract cultured in west Algeria. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9: 1656-1661.

✎ **Rehab R Walli, 1 Rabia A Al-Musrati, 1 Hana M Eshtewi,1 Fathi M Sherif**2015 Screening of antimicrobial activity of fenugreek seeds Libya

✎ **S. Daas Amiour1, O. Alloui-Lombarkia2, F. Bouhdjila3, A. Ayachi4, L.Hambaba1** 2014 ; Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne.

✎ **Sachetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. et Bruni R. (2005).**Comparative evaluation of 11 essential oils of different originals functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in food. *Food chemistry*, (14) : 621-632

✎ **Seasotiya L., Siwach P., Bai S., Malik A., Bhart, P. et Dalal, S., 2014.** Free radical scavenging activity, phenolic contents and phytochemical analysis of seeds of *Trigonella foenum graecum*. *Asian Pac. J. Health Sci.* 1, 219-226

✎ **Sharma V, Singh P and Rani A(2017)** Antimicrobial Activity of *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugreek) Department of Microbiology, Kanya Gurukul Campus, Gurukul Kangri Vishwavidyalaya, Haridwar, India. Page 03

Sumayya, A. R., Sivagami S., Nabeelah A. 2012.Screening and biochemical quantification of phytochemicals in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2012 Vol.3 No.1 pp.165-169.

✎ **Tassoult M., kati d E., Fernández-prior M á. Bermúdez-oria A., Fernandez-bolanos J and Rodríguez-gutiérrez G. (2021).** Antioxidant capacity and phenolic and sugar profiles of date fruits extracts from six different Algerian cultivars as influenced by ripening stages and extraction systems.

✎ **TIRICHINE Hadj Saïd (2010)** Etude ethnobotanique, Activité antioxydant et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier (*Phoenix dactylifera* L., du Sud-Est algerien. dattier

✎ **Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. 2006.** Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chem.*; 99, 838-84

✎ **Uma DB, Ho CW, Wan AWM. 2010.** Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds for Henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana.*; 39:119-128.

✎ **WATERMAN P G., KAREN M K. (1994).** Colobine food selection and plant chemistry. Colobine monkeys: their ecology, behavior and evolution. Cambridge: Cambridge university press. P, 251-284

✎ www.google.com/maps.

✎ **Yu L. , Parry J. W. , Zhou, K. 2005.** Oils from Herbs, Spices, and Fruit Seeds. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, John Wiley and Sons, Inc

Annexes

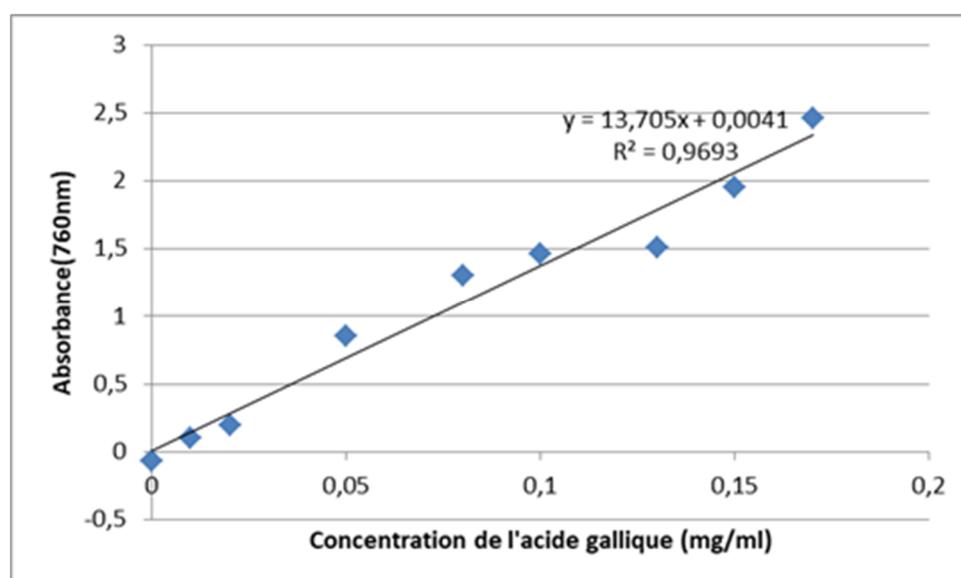
Annexe 01: Composition des milieux de culture (Guiraud, 1998)

Milieu	Composition (g/l)
Baird-Parker	Digestat pancréatique de caséine..... 10 g Extrait de levure..... 1 g Extrait de viande..... 5 g Pyruvate de sodium..... 10 g L-Glycine..... 12 g Chlorure de lithium.. 5 g Agar-agar..... 12 g † 22 g pH = 7.2
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
Mueller-Hinton	Extrait de viande.....2g Hydrolysate acide de caséine.....17.5g Amidon.....1.5g Gélose.....10g pH = 7.4

Annexe 02 : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique (Acide gallique)**Mode opératoire**

Une gamme de 9 concentrations d'acide gallique allant de 0 à 0.17 mg /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 0.2 mg/ml de concentration..

N des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Volume pris de la solution mère (en ml)	0	0.50	0.1	0.25	0.4	0.5	0.65	0.75	0.85
Volume ajouté d'eau distillée (en ml)	1	0.95	0.9	0.75	0.6	0.5	0.35	0.25	0.15
Concentration finale de l'acide gallique en (mg/ml)	0	0.01	0.02	0.05	0.08	0.10	0.13	0.15	0.17

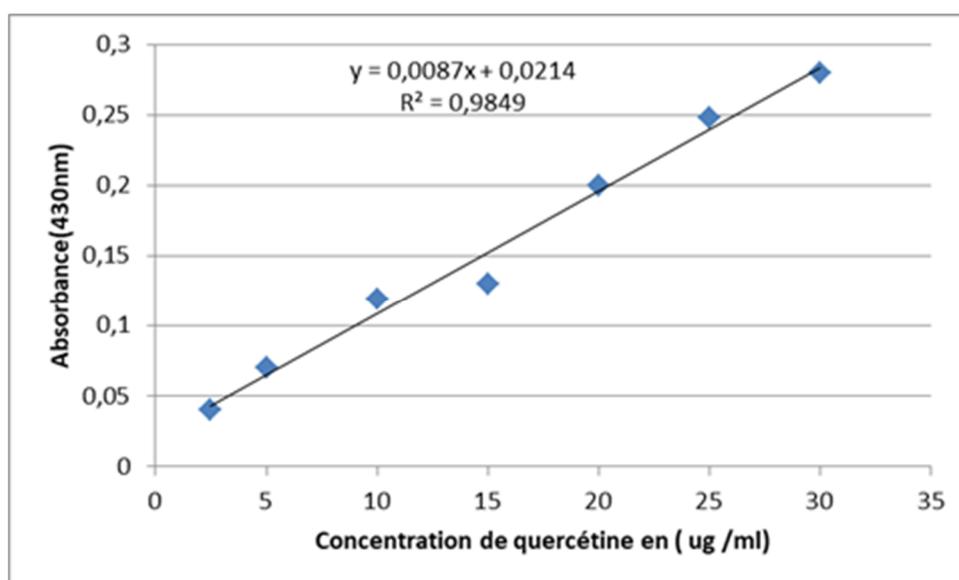


Courbe d'étalonnage de polyphénols mg/ml (Acide gallique)

Annexe 03 : Préparation de la gamme d'étalonnage (Quercitaine)**Mode opératoire**

Une gamme de 9 concentrations de quercitrine allant de 2.5 à 40 µg /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 40 µg /ml de concentration (400 µg de quercitrine dissous dans 10 ml de méthanol).

N des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Volume pris de la solution mère en(ml)	0.2	0.4	0.8	1.1	1.5	1.8	2.3	2.6	3.0
Volume ajouté de méthanol en (ml)	2.8	2.6	2.2	1.9	1.5	1.2	0.7	0.4	00
Concentration finale de quercitrine en (ug/ml)	2.5	5	10	15	20	25	30	35	40



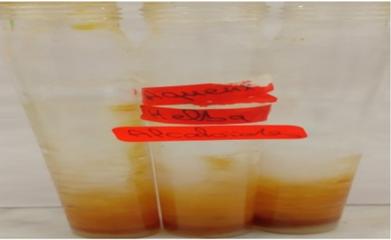
Courbe d'étalonnage des flavonoïdes mg/ml (Quercitaine)

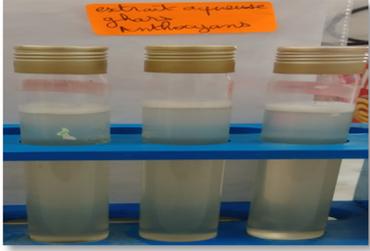
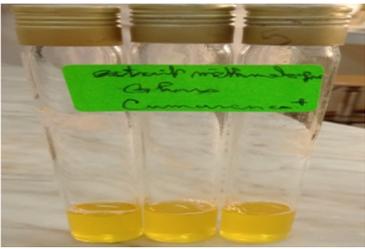
Annexe 04: Méthode de coloration de Gram (Delarras, 2007)

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 05: Résultats des analyses phytochimique

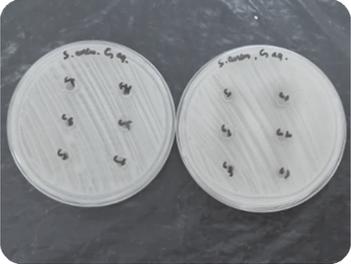
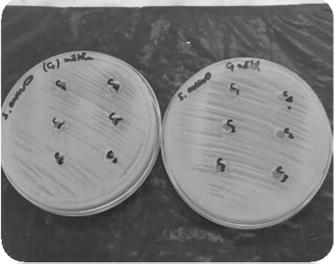
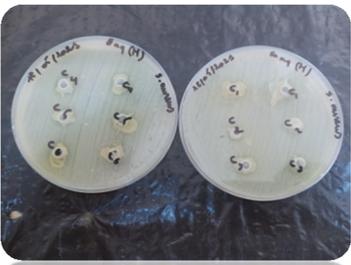
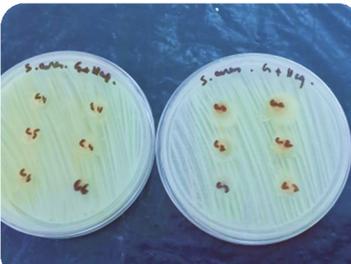
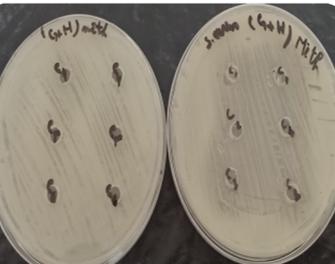
Teste	Résultat
Tanins	
Alcaloïdes	
Carbohydrates	
Saponosides	
Mucilage	

<p>Terpenoides</p>	
<p>Anthocyanes</p>	
<p>Coumarine</p>	

Annexe 06: Aspect macroscopiques dans le milieu Baird-Parker



Annexe 07: Diamètres d'inhibitions des différents extraits (Méthode des puits).

	Extraits aqueux	Extraits méthanoliques
Ghars		
Fenugrec		
Ghars / Fenugrec		

Résumé

Contexte et objectifs : L'objectif de cette étude est la détermination des différentes potentialités des fruits et noyaux de dattes *Phoenix dactylifera L.* : en médecine traditionnelle algérienne particulièrement dans le cas de traitement des maladies infectieuses.

Matériels et méthodes : Dans un premier temps, une enquête ethnobotanique sur l'utilisation du palmier dattier en médecine traditionnelle algérienne, a été réalisée. Par la suite, une recette choisie à base de dattes de la variété *Ghars*, des graines de fenugrec *Trigonella foenum-graecum L.* et du mélange G/F, ont servi pour des analyses phytochimiques et microbiologiques. Sur leurs extraits méthanoliques et aqueux, différents composés phytochimiques ont été détectés via une analyse qualitative, le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et de l'activité antioxydant par DPPH ainsi que l'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *S. aureus* par la méthode de diffusion en puits, ont été effectués.

Résultats :

L'enquête affirme que 86% des informateurs ont mentionné l'utilisation du fruit et que la variété *Ghars* était la plus utilisée avec un pourcentage de 63% des enquêtés. Parmi les maladies infectieuses déclarées par les informateurs, les infections digestives et cutanées s'avèrent majoritaires avec des taux de 33% et de 29% respectivement.

Un effet synergique intéressant hautement significativement différent ($P \leq 0,001$) de la combinaison G/F par rapport aux extraits seuls, a été observé pour les analyses phytochimiques et microbiologiques. En effet, on a noté une augmentation maximale de l'ordre de 15,48 mg EAG/100g, 28,43 mg EAG/100g et 418,38 mg EAG/100g des extraits méthanoliques pour les polyphénols totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydant. L'activité antibactérienne contre *S.aureus* des extraits méthanoliques s'avère la plus intéressante et a donné le diamètre d'inhibition de 26 mm.

Conclusion : Ces résultats pourraient justifier l'utilisation des dattes *Ghars* et les graines de fenugrec *Trigonella foenum-graecum L.* comme alternative naturelle en pharmacologie.

Mots clés : combinaison; effet antibactérien; enquête ethnobotanique *L.*; Infections; *Phoenix dactylifera L.*; *Trigonella foenum-graecum L.*; *S.aureus*.

ملخص

السياق والأهداف: الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الإمكانيات المختلفة لثمار و نواة تمر في الطب التقليدي الجزائري ، ولا سيما في حالة علاج الأمراض المعدية.

المواد و الطرق: أولاً ، تم إجراء دراسة استقصائية حول استخدام نخيل التمر في الطب الجزائري التقليدي. بعد ذلك، تم استنظم وصفة مختارة بناءً على نتائج الدراسة من صنف الغرس و بذور الحلبة خضعت هذه الوصف لتحليلات الكيمياء النباتية والمكروبيولوجية. على المستخلصات الميثانية والمائية، تم الكشف عن العديد من المواد الكيميائية النباتية من خلال التحليل النوعي، ومقايسة البوليفينول الكلي، والفلافونويد والنشاط المضاد للأكسدة. وكذلك تقييم النشاط المضاد للبكتيريا مقابل البكتيريا العنقودية بواسطة طريقة الانتشار.

النتائج : يذكر الاستطلاع أن 86 من المخبرين ذكروا استخدام الفاكهة وأن صنف الغرس كان الأكثر استخداماً بنسبة 63٪ من المستجيبين. من بين الأمراض المعدية التي أبلغ عنها المخبرون، وجدت الغالبية في التهابات الجهاز الهضمي والجلد بنسب 33٪ و 29٪ على التوالي.

لوحظ تأثير تآزري مثير للاهتمام يختلف اختلافاً كبيراً ($P \leq 0.001$) من تركيبة المزيج (الغرس، الحلبة) مقارنة بالمستخلصات وحدها ، في التحليلات الكيميائية النباتية و المكروبيولوجية. في الواقع ، لوحظت زيادة قسوى قدرها 15.48 مجم / EAG و 100 جم و 28.43 مجم EAG / 100 جم و 369.77 مجم EAG / 100 جم من المستخلصات الميثانولية لإجمالي البوليفينول والفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة. وجد أن الفعالية المضادة للبكتيريا ضد البكتيريا العنقودية للمستخلصات الميثانولية هي الأكثر إثارة للاهتمام وأعطت قطر تثبيط يبلغ 26 مم.

الخلاصة: يمكن لهذه النتائج أن تبرر استخدام تمر الغرس وبذور الحلبة كبديل طبيعي في علم الأدوية.

الكلمات الدالة: تركيبة؛ تأثير مضاد للجراثيم، مسح عرقي نباتي *Phoenix dactylifera L.* ، ؛ الالتهابات؛ *Trigonella foenum-graecum L.*؛ البكتيريا المكورة العنقودية.