

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire

Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique
(LapSab)

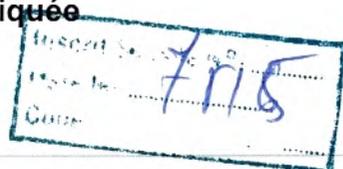
Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Thème



**Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et
antifongique des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa »**

Présenté par : M^{me} Chikh née Khobzaoui Somia



Président : M^{me} Boucherit-Otmani Zahia

Professeur, Université de Tlemcen.

Examineur : Mr Rahmoun Mohammed Nadjib

M. A. B, Université de Tlemcen.

Promoteur : Mr Boucherit Kebir
Nâama.

Professeur, Centre Universitaire de

Année universitaire : 2013-2014

Remerciements

J'adresse mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

J'adresse mes vifs remerciements à mon promoteur Monsieur BOUCHERIT Kebir., Maître de conférences Classe A à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour m'avoir permis d'effectuer ma thèse sous sa direction et m'a offert la possibilité de travailler sur un sujet passionnant, ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de diriger cette thèse pour ses connaissances scientifiques, la qualité de son enseignement et pour l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer malgré ses charges académiques et professionnelles.

Je souhaite remercier particulièrement Mme BOUCHERIT-OTMANI Zahia., Maître de Conférences Classe A à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, directrice du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique », de m'avoir accueillie dans son laboratoire, aussi pour sa générosité et sa grande patience d'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission d'examen. Ses conseils et ses commentaires précieux m'ont permis de surmonter mes difficultés et de progresser dans mes études.

Je suis très honorée que Monsieur RAHMOUN Mohammed Nadjib, Maître assistant Classe à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, ait accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également l'ensemble du personnel du laboratoire, en particulier: Mrs. DJAZIRI Rabah, AZZI Rachid, Melle BENARIBA Nabila et Melle BELKACEM Nacéra pour leur aide.

J'adresse également mes remerciements, à tous mes enseignants.

Je tiens à remercier chaleureusement Mr BELHACHEMI Habib et Mme BELHACHEMI SARA née BELMIR pour leur aide et la bonne ambiance dans le laboratoire. Ainsi toute la promotion : Hidayate, khadra, sara, rabia, , Djahida Asmaa, Fatima , Narimane et Amina, pour la bonne humeur générale.

Je remercie, du fond du coeur mes amies, CHERKI Sarra, MASSOUIDI Asma et GHAZELI Wassila , qui m'ont toujours encouragé à m'investir à fond dans ce travail.

Je n'oublierais pas tous les autres avec qui j'ai pu travailler ou échanger de bons moments dans le laboratoire: Kamila, Imen, Mustapha, Djamila, Nesrine, Rabha, Meriem, Houria, Wafaa, Ibtisame et Ismahane.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à

Mon père pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite. Que Dieu le protège et trouve dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.

Mon adorable mère qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci pour être sacrifiée pour que ces enfants grandissent et prospèrent. Que dieu la protège et lui donne bonne santé et qu'elle trouve ici la preuve de ma reconnaissance infinie.

Mes frères Mohamed, Salah et Boumediene pour leur disponibilité, leur soutien moral, leur encouragement incessant.

Mes sœurs Fatima, Malika et Latifa pour leur disponibilité, leur soutien moral, leur encouragement incessant, d'être coopératif et d'assumer à ma place certaine de mes responsabilités familiales.

Mon marie Youssouf d'être toujours à mes côtés pour me soutenir, pour m'aider dans la mesure du possible, mais surtout pour donner du goût à ma vie par son amour et sa tendresse, j'espère qu'il trouve ici le témoignage de mon profond amour, attachement et respect.

Ma belle-famille pour leur soutien, gentillesse et sympathie, que dieu les protège et leurs donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

Introduction	01
I- Synthèse bibliographique	02
II- Matériel et Méthodes	12
1- Matériel.....	13
1-1- Matériel végétal.....	13
1-2- Matériel biologique.....	14
1-3- Solvants	14
2- Méthodes.....	14
2-1-Extraction par macération.....	14
2-2- Tests phytochimiques.....	15
2-3- Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa »	17
2-3-1- Activité antifongique.....	17
a. diffusion sur Müller Hinton supplémenté (méthode de disque).....	17
b. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur microplaque (méthode de microdilution).....	18
c. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF).....	19
2-3-2- Activité antibactérienne.....	19
a- diffusion sur Müller Hinton (méthode de disque).....	19
b- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur microplaque (méthode de microdilution).....	20
c. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	20
III- Résultats et discussion	22
1- Etude phytochimique	23
1-1-Tests phytochimiques.....	23
1-2- Rendement en extraits secs.....	23
2- Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ».....	24
2-1- Evaluation du pouvoir antifongique des extraits des noyaux des dattes variété «Ajwa »	24
2-1-1- Evaluation de l'activité antifongique par la technique de diffusion sur Mueller Hinton supplémenté (méthode des disques)	25
2-1-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF)	26

2-2- Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits des noyaux des dattes variété «Ajwa»	27
2-2-1- Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion sur Mueller Hinton (méthode des disques).....	27
2-2-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)	29
IV- Conclusion et perspectives.....	32
V- Références bibliographiques	35

Les plantes sont toujours utilisées par l'homme à des fins curatives. Selon l'OMS, 80% de la population des pays en développement ont recours presque exclusivement à la médecine traditionnelle pour les besoins de santé primaire (Michelline., 2009).

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racine,...) et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, distillation,..) être mis à profit dans différentes industries et permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels, riches en métabolites secondaires, sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicament de synthèses, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxique pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés (Duraffourd et *coll.*, 1997).

Le palmier est l'une des rares plantes à survivre dans le climat inhospitalier du désert, depuis longtemps les nomades l'ont considéré comme un « arbre de vie », puisqu'il fournit leur alimentation de base.

Parmi les variétés les plus cultivées et commercialisées dans le monde, la variété « Ajwa » est classée parmi les premières. Ces dattes sont citées et louées dans la Sunna, et représentent pour les musulmans un fruit saint. Il est spécifique de Médine (Arabie Saoudite).

La datte du palmier (*Phoenix dactylifera*) possède une composition originale qui la différencie nettement des autres fruits. En dehors de sa valeur alimentaire et commerciale, elle revêt une grande importance culturelle pour les musulmans.

Les sous produits du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L ont diverses utilisations dans les régions sahariennes. La graine, appelée aussi noyau, qui est ligneuse et sa couleur va du gris au brun et elle porte un petit embryon (Benchelah et Maka, 2006).

Nombreux travaux de recherche se sont intéressés à la valorisation du noyau de dattes sous différentes formes : charbon actif, préparation de l'acide citrique et de protéines, et pour ses propriétés antimicrobiennes et antivirales (Sabah et *coll.*, 2007).

C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à faire une étude phytochimique des extraits de noyaux de dattes « Ajwa » appartenant à la famille *des palmacées* (région de Médine) et à évaluer leurs activités antibactériennes et antifongiques.

Synthèse bibliographique

Les infections microbiennes sont causées par différents micro-organismes, qui sont principalement des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites, on les trouve dans l'eau, dans certains aliments (fromage, yaourt, vin, bière, etc.) et sur toutes les parties du corps en contact direct avec l'extérieur. Seule une petite partie des espèces de microorganismes sont potentiellement pathogènes pour l'homme [(Hart et Shears, 1996) ;(Petignat et coll., 2006) ;(Geursen et coll., 2008)].

La maladie infectieuse apparaît quand la virulence du germe dépasse les moyens de défense de l'individu (Rappuoli, 2004).

Malheureusement les maladies infectieuses microbiennes ont tendance à s'émerger, comme par exemple la tuberculose qui émerge toujours malgré la découverte de la streptomycine, en 2010 l'organisation mondiale de la santé a enregistré près de 5 million de décès annuels dans le monde, dont 1380294 cas en Afrique et 22336 en Algérie. Ainsi que près de 1.1 million de personnes séronégatives par le VIH, sont mortes de la tuberculose dont 12% en Algérie [(Berche, 2007) ;(OMS, 2012)].

Parallèlement aux infections bactérienne, les mycoses, ou infections fongiques, sont des maladies provoquées par des champignons microscopiques telles que les levures (*Candida, cryptococcus*), les filaments (*Aspergillus*) et les dimorphiques (*Histoplasma*) (Blandine, 2010).

La plupart de ces infections peuvent se traiter par des antimicrobiens (antibiotiques, antifongiques) qui sont des médicaments naturels d'origine biologique, produits à partir des champignons ou des bactéries ou obtenus par synthèse ou semi-synthèse (Lavigne, 2007). Ces médicaments méritent une attention particulière parce qu'ils sont utilisés en grande quantité et constituent des molécules biologiquement actives pouvant interagir avec des cibles biologiques spécifiques conduisant à l'apparition des micro-organismes potentiellement pathogènes (Dirany, 2010).

Actuellement, nous arrivons à une période très délicate, sachant que le monde microbien est capable de s'adapter à une nouvelle situation écologique, y compris à la présence des antimicrobiens, en développant des stratégies de résistances vis-à-vis d'eux. Ce phénomène constitue une menace pour la santé humaine parce qu'il progresse plus rapidement que le développement de nouveaux antibiotiques et antifongiques [(Aubry-damon et coll., 2001); (Caudy et Buxeraud, 2005)].

Ceci est en partie dû au mauvais usage de ces derniers, et en partie à la capacité infinie des bactéries et des champignons à muter sous la pression des antimicrobiens, ainsi qu'à leur vitesse de réplication (Hart et Shears, 1996).

Les molécules antifongiques et antibactériennes d'origine végétale représentent une nouvelle approche thérapeutique, pour cela le retour aux plantes médicinales présente un intérêt scientifique intéressant. Aujourd'hui il a été estimé que les principes actifs provenant des végétaux représentent 25% des médicaments prescrits soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes (Potterat et Hostettmann, 1995).

La médecine traditionnelle ou la phytothérapie connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les produits d'extraction qu'elles fournissent [(Duraffourd et coll., 1997) ; (Marc et coll., 2001)].

Dès son origine, l'homme a cherché à calmer ses maux et à réduire ses souffrances. Le règne végétal lui fournissant en grande partie son alimentation, fut son premier champ d'expériences. L'observation attentive a permis peu à peu d'apprendre et de découvrir les vertus adoucissantes, antiseptiques, dépuratives, cardiotoniques des plantes (Jaccot et Campillo, 2003).

L'isolement de principes actifs au XIX^{ème} siècle, a contribué à l'amélioration des connaissances des structures, ce qui a permis de passer progressivement d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique, à une thérapie moderne, acceptée scientifiquement.

Les chercheurs commencèrent à s'intéresser aux composants moléculaires dits métabolites secondaires des plantes qui constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticarcinogènes (Epifano et coll., 2007).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des composants chimiques. Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent des protéines, des lipides et des glucides qui servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même mais encore des animaux qui s'en nourrissent (Small et Catling, 2000).

Les plantes contiennent ces métabolites qui peuvent être néfastes pour certains animaux, ou micro-organismes, ce qui vient étayer la croyance selon laquelle ces composés jouent un rôle primordial dans la lutte contre les maladies. La plupart de ces métabolites jouent probablement le rôle de défense chimique contre des prédateurs ou des agents infectieux. Ils sont produits en très faible quantité, et présentent une grande variété structurale [(Small et Catling, 2000) ; (Hartmann, 2007)].

Ces métabolites se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Ils interviennent dans des processus vitaux les plus divers d'où l'importance croissante des études consacrées à ces composés. Ils se classent généralement en trois grands groupes qui sont les composés phénoliques, les composés azotés et les terpènes.

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (**figure N°1**) (Ghestem et coll., 2001).

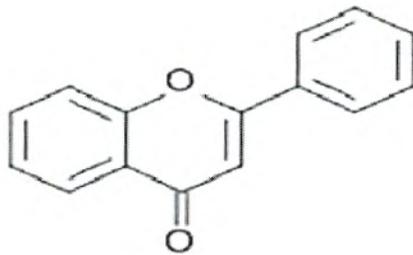


Figure N°1: squelette de base de flavonoïde (Girotti-Chanu, 2006).

On les trouve en général dans toute les plantes vasculaires ou ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet [(Marfak, 2003) ;(Hadi, 2004)].

Ils sont utilisés en pharmacie pour leurs effets anti-inflammatoires et antispasmodiques ou en cosmétologie comme la lutéoline pour réduire l'hyperpigmentation de la peau. Ils sont utilisés aussi en industrie alimentaire comme antioxydants et inhibiteurs enzymatiques [(Havsteen, 1983) ; (Gorhan et Lunalaric, 1997) ; (Harborne et Baxter, 1999) ; (Beneli et Vene, 2002)]. Plusieurs travaux ont porté sur les flavonoïdes pour leur propriétés anti-allergiques, et leurs effets hépatoprotecteurs, antiviraux et anti-tumoraux [(Carrivenc et coll, 1996) ;(Shih et coll., 2000) (Afolayan et Meyer, 1997)].

Les tanins constituent un autre composé phénolique. Ils ont la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire la rendre dure et imputrescible, en se fixant sur les protéines (Makkar, 2003).

On distingue chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

Les tanins hydrolysables (**figure N°2**) sont des hétéropolymères possédant un noyau central constitué d'un polyol. Il s'agit souvent d'un D-glucose sur lequel les groupements hydroxyles sont, en partie ou en totalité, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotannins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitannins). Comme leurs noms l'indiquent, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes, pour donner des glucides et des acides phénoliques (Leinmüller et coll., 1991).

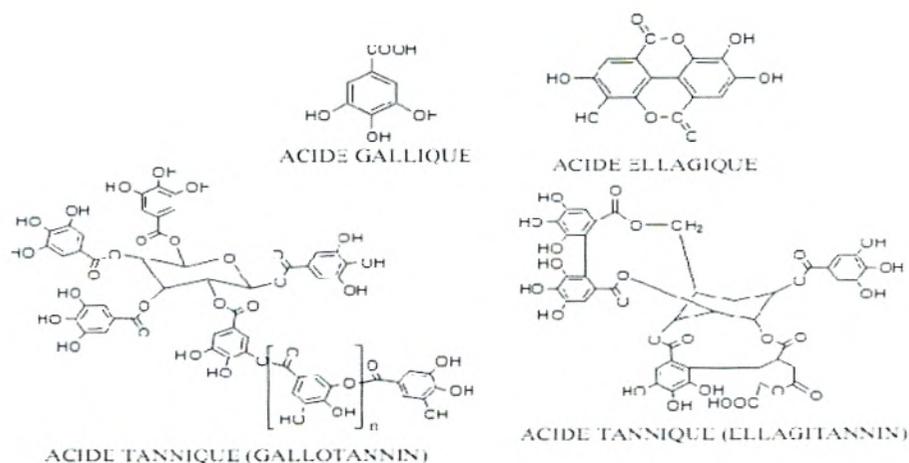


Figure N°2 : Structure des tanins hydrolysables et les acides associés (Peronny, 2005).

Les tanins condensés (**figure N°3**) sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavonoïdes. Les monomères précurseurs de ces molécules sont les flavan-3-ols (catéchine) et/ou les flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines). Les tanins condensés sont appelés proanthocyanidines parce que leur oxydation en milieu alcool-acide entraîne la formation de pigments anthocyanidiques tels que les cyanidines et les delphinidines. (Hedqvist, 2004); (Leinmüller et coll, 1991).

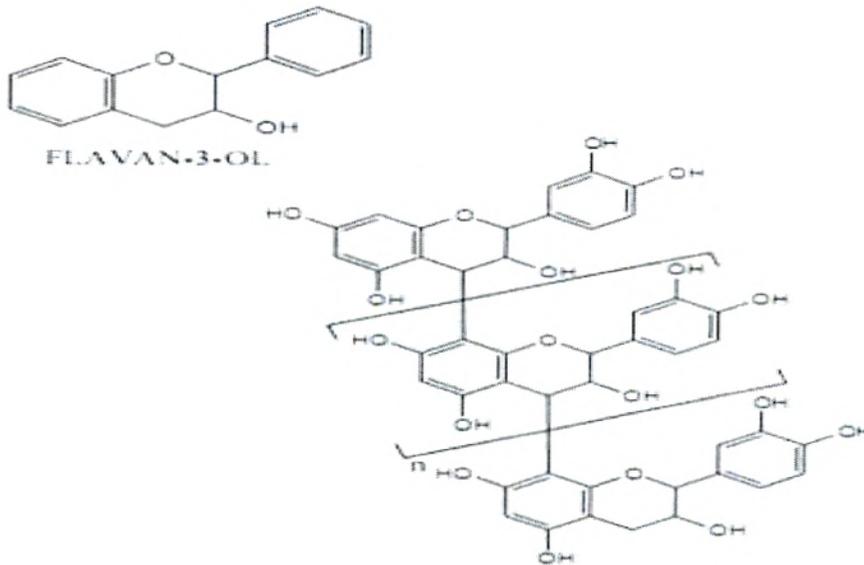


Figure N°3 : Structure des tanins condensés et leur monomère (Peronny, 2005).

Les propriétés biologiques des tanins sont principalement liées à leur capacité à former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. En conséquence ils possèdent les capacités suivantes : inhibition enzymatique, piégeage des radicaux libres et activité anti-oxydante, effet antiseptique (antibactérien, antifongique, antiviral), prévention des maladies cardio-vasculaires (Come, 2012).

Les quinones sont des composés oxygénés qui sont pratiquement insolubles dans l'eau, sont extractibles par les solvants organiques usuels et leur séparation passe par les techniques chromatographiques. Beaucoup entre eux ont une action antibactérienne (Macheix et *coll.*, 2005).

Les terpènes constituent la deuxième classe des métabolites secondaires. Ils sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 (**Figure N°4**), ils ont pour formule de base $(C_5H_8)_n$. Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre elles (Marston et Hosttemann, 2003).

Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles. En fonction du nombre n (entier) d'unités, on peut distinguer pour :

$n = 2$: les monoterpènes (C_{10}),

$n = 3$: les sesquiterpènes (C_{15}),

$n = 4$: les diterpènes (C_{20}),

$n = 5$: les sesterpènes (C_{25}),

$n = 6$: les triterpènes (C_{30}).

Les stéroïdes constituent un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes majoritairement le squalène. Le carotène est un tétraterpène (C₄₀H₆₄) joue le rôle de pigment dans la photosynthèse. Des matières aussi diverses que le caoutchouc, la vitamine A ou le cholestérol sont constituées essentiellement de briques d'isoprènes (Marston et Hosttemann, 2003).

Ils sont largement utilisés dans le secteur de l'agroalimentaire (saveur, conservateur) et l'industrie du parfum. Depuis ces dernières années et avec la découverte des caractéristiques anticancéreuses de certains monoterpènes, leur importance dans le secteur pharmaceutique a été renforcée.

Les mono- et sesquiterpènes possèdent une activité antimicrobienne. Ils peuvent être considérés comme des alternatives naturelles aux antimicrobiens [(Crowell, 1999) ; (Kalemba et Kunicka, 2004)].

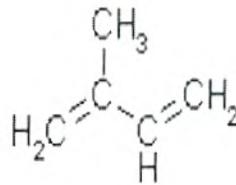


Figure N°4 : Molécule d'isoprène (Malecky, 2010).

Les alcaloïdes qui représentent la troisième classe des métabolites secondaires, sont des substances naturelles réagissant comme des bases. Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle qui ont une structure complexe (Paris et Hurabeille, 1981).

Cette classe de métabolites secondaires est largement répandue sous forme de dépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (caféine, strychnine) au niveau du système nerveux central. Ces métabolites ont depuis leurs découvertes des actions bactéricides qui sont établies depuis des millénaires permettent à la phytothérapie de reprendre l'avantage sur les médicaments obtenus par synthèse chimique [(Valnet, 1984) ; (chebaibi et coll., 2007) ; (Sofowora, 2010)].

La flore algérienne regorge de plusieurs espèces de plantes encore peu ou pas étudiées, mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques. C'est le cas *Populus nigra*, *Phagnalon saxatile* subsp *eu-saxatile*, *artemisia arborescenc* ect..... Qui représentent des propriétés antioxydant et antimicrobienne importants [(Graham et coll., 2000) ;(Bnouham et coll., 2002) ;(Gonzalez-Tejero et coll., 2008)].

Le recours aux plantes médicinales aux propriétés antimicrobiennes constitue un des plus intéressants axes de recherche à explorer.

Notre travail s'articule dans cette perspective et consiste à évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des noyaux de la datte Ajwa (*Phoenix dactylifer L.*).

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera L* est un arbre fruitier, non seulement à cause de son importance économique, mais aussi par la haute valeur nutritionnelle de ses fruits, qui représentent une excellente source de glucides et antioxydants [(Sawaya et coll., 1983); (Biglari et coll., 2008); (Elleuche et coll., 2008)].

Il est cultivé dans les régions chaudes du globe terrestre, suite à son adaptation au climat des régions sahariennes, arides et semi arides (Munier, 1973).

C'est une espèce dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *palmeaceae* (figure N°5).

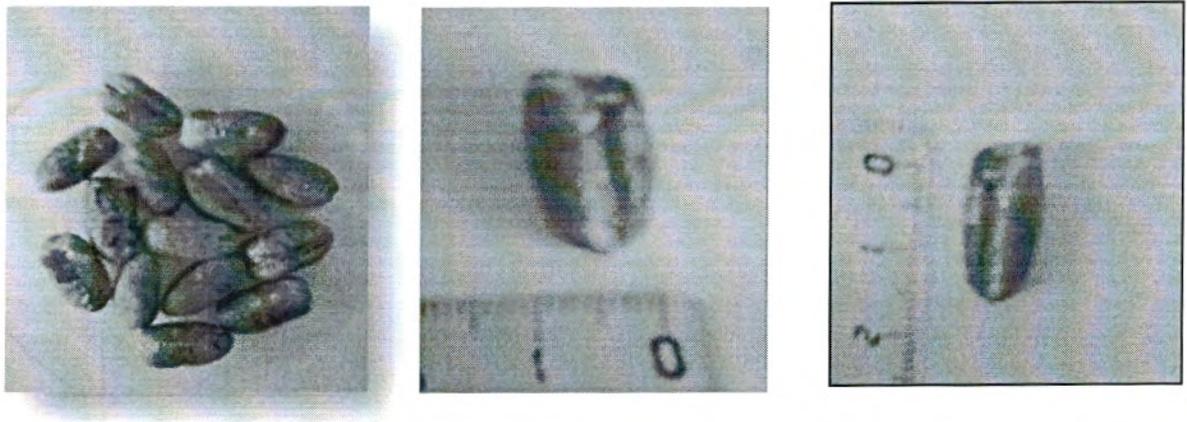


Figure N° 5: Photos des noyaux de datte «Ajwa» (LAPSAB, 2013)

Cette famille comporte environ 235 genres et 4000 espèces.

Selon Feldman (1976) la place du palmier dattier dans le règne végétal est la suivante :

Groupe :	Spacidiflores
Ordre :	Palmale
Famille :	Palmacées
Sous famille :	Corypoidées
Tribus :	Phoenicées
Genre :	Phoenix
Espèce :	<i>Dactylifera l</i>

Le fruit ou la datte est constituée de deux parties, une partie dure non comestible qui est la graine ou noyau (**figure N°5**) et une partie comestible qui est la pulpe (Achoura et Belhamra, 2010).

Le noyau est entouré d'un endocarpe parcheminé ; il est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse ou pourvu de protubérances latérales en arêtes, avec un sillon ventral ; l'embryon est dorsal, sa consistance est dure et cornée.

Le noyau (**figure N°6**) possède un albumen endosperme dur et cornée dont l'embryon dorsal est toujours très petit par rapport à l'albumen (0.9 à 2cm) [(Darleen et coll., 1985); (Dammak et coll., 2007)].

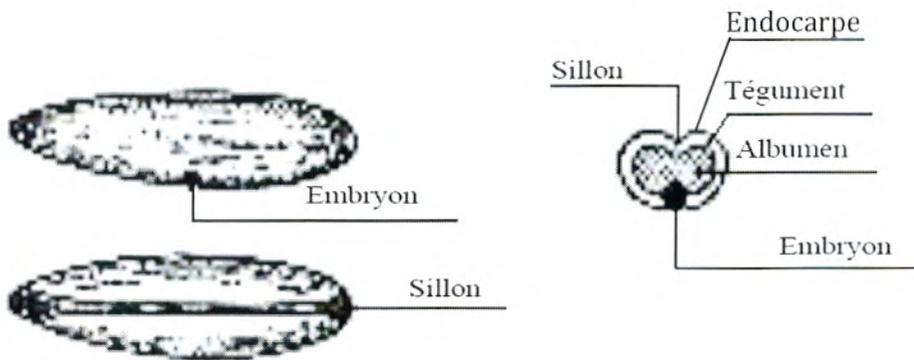


Figure N°6: une coupe de noyau de datte (Munier, 1973).

L'utilisation du noyau ou des graines de différents fruits et légume est connue depuis l'antiquité comme un complément alternatif dans la médecine. Selon Al-Qarawi et ces collaborateurs (2005), les extraits des noyaux de dattes ont l'aptitude de reconstituer les fonctions normales du foie empoisonnée. Il le protège également contre l'hepatotoxicité. Ils abaisseraient clairement et rapidement les rides du visage [(bouza et coll., 2002) ; (chaira et coll., 2007) ; (jassim et naji, 2007)].

Les études réalisées par Jassim et Naji (2007) montrent qu'une concentration d'extrait acétonique allant de 100 à 1000 µg/ml du noyau de dattes (variété Abu Dhabi) est capable d'inhiber les états infectieux.

Ils représentent aussi un sous produits intéressant de dattes, en effet de ce dernier, il est possible de fabriquer de l'acide citrique et des protéines à des microorganismes suivant *candida lipolytica*, *aspergillus oryzae*, et *candida utilis* (Jassim et Naji, 2007).

D'autre étude ont été révélées par Al-turki ,2008 indiquent qu'une telle boisson est aussi utilisée depuis longtemps dans le monde arabe, un mélange de poudre de noyau de datte

grillées de manière semblable avec la poudre du café comme une boisson chaude, cette dernière permet de réduire la caféine, ainsi qu'ils peuvent être utilisés comme une huile de table. Il est utilisé aussi comme alimentation de bétail et des poissons [(Ali et *coll.*, 1956); (Youssif et *coll.*, 1996)].

Le présent travail rentre dans le cadre du programme de recherche du laboratoire « Antibiotiques antifongiques : physicochimique, synthèse et activité biologique », université de Tlemcen, qui est destiné à la valorisation de nouveaux composés ou principes actifs à intérêt thérapeutiques. Pour cela, nous avons envisagé de réaliser une étude phytochimique qui comporte les tests phytochimiques et la préparation des différents extraits pour déterminer leur activité antimicrobienne « antibactérienne et antifongique ».

Matériel et méthode

Ce travail est effectué au laboratoire «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique » Département de Biologie– Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l’Univers- Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

1-Matériel :

1-1-Matériel végétal :

Notre étude a porté sur les noyaux de datte *Phoenix dactylifera L* variété « Ajwa ». Il s’agit de dattes demi-molles qui poussent dans la ville de Médine (Arabie Saoudite) avec une forme allongée plus ou moins volumineuse (**figure N° 7**).

Ces noyaux ont été apportés de Médine en 2012 et conservés à l'abri de la lumière à 4°C pendant toute la durée de l’expérimentation. Les noyaux sont broyés finement au mortier en extemporané.



Figure N° 7: Noyaux de datte «Ajwa» (LAPSAB, 2013)

1-2- Matériel biologique :

Les souches de référence (bactéries et levures) que nous avons utilisées figurent sur le **tableau N° 1**.

Tableau N°1 : Souches de référence utilisées

Souches testées		Origine	
Levures	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Souches disponibles au laboratoire Antibiotiques, antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique, Département de Biologie	
	<i>Candida albicans</i> IP444		
Bactéries	Bactéries à Gram (+)		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
			<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
			<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212
			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	Bactéries à Gram (-)		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659
			<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603
			<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047
			<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933

1-3- Solvants :

Pour les différentes extractions, nous avons utilisés des solvants commerciaux qui sont utilisés sans purification supplémentaire. Il s'agit du chloroforme, de l'acétone, du méthanol et de l'eau. Ces derniers sont de polarité croissante de façon à extraire le maximum de familles de métabolites secondaires capables d'avoir un effet antimicrobien.

2- Méthodes :

2-1- Extraction par macération :

Une quantité de 10g des noyaux est prise dans un erlenmeyer, à laquelle nous avons ajouté 100 ml de solvant. Après 24 heures de macération à température ambiante le mélange est filtré sur papier filtre (LF.F150SCM).

Les extraits ainsi obtenus sont évaporés à sec à l'étuve (pour l'extrait aqueux) ou au rotavapor (pour les extraits organiques) à 40°C, les résidus ainsi obtenus sont solubilisés dans des volumes suffisants de diméthyl sulfoxyde (DMSO).

2-2- Testes phytochimique :

Les métabolites secondaires sont mis en évidence par une étude phytochimique qui consiste à caractériser les différentes familles de molécules existantes dans une plante (Bruneton, 1999). Il s'agit d'analyses qualitatives basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Celles-ci sont effectuées sur les différents extraits récupérés (**Figure N°8, 9,10**).

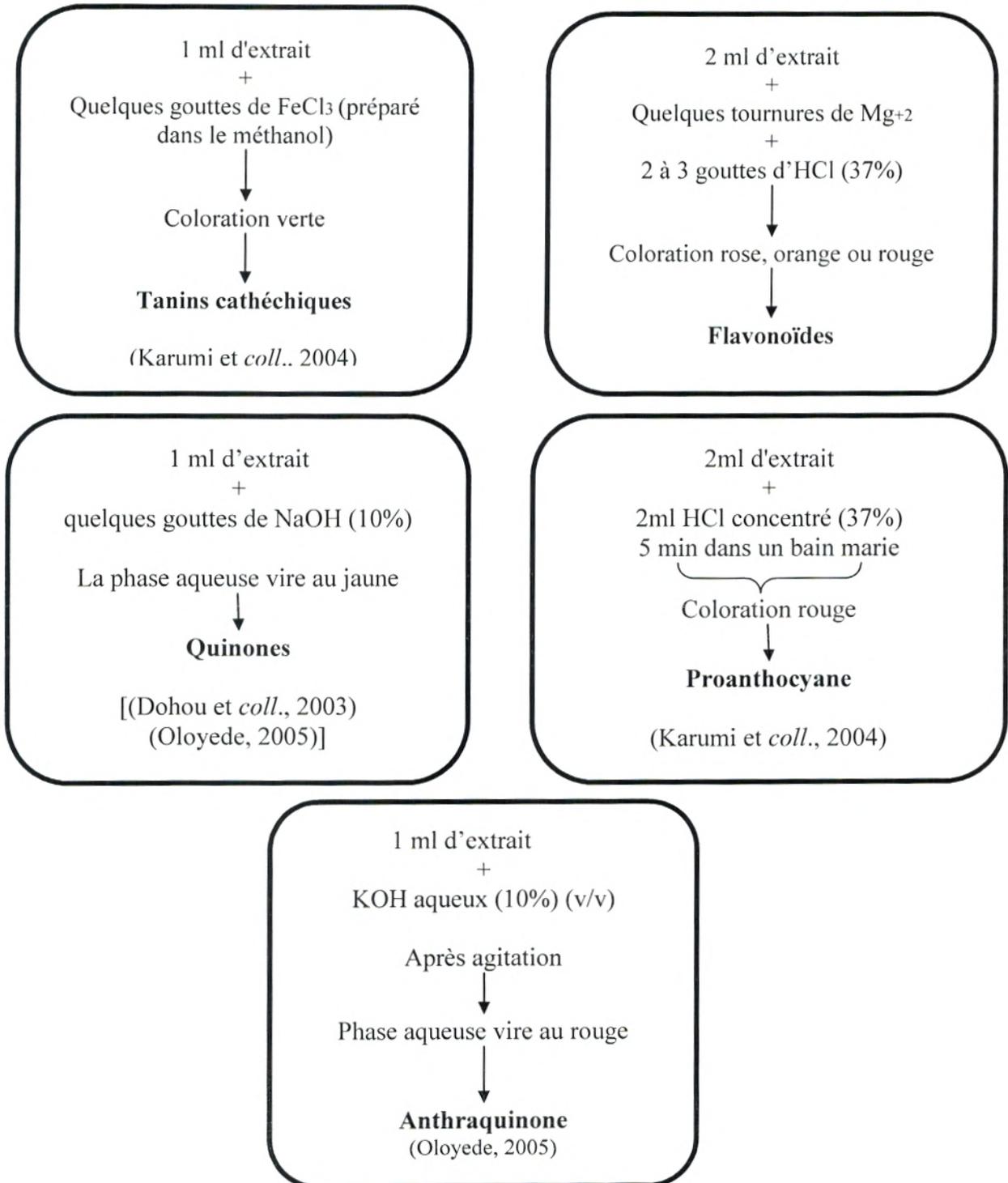


Figure N°8 : Représentation schématique des tests phytochimiques pour la détermination des polyphénols.

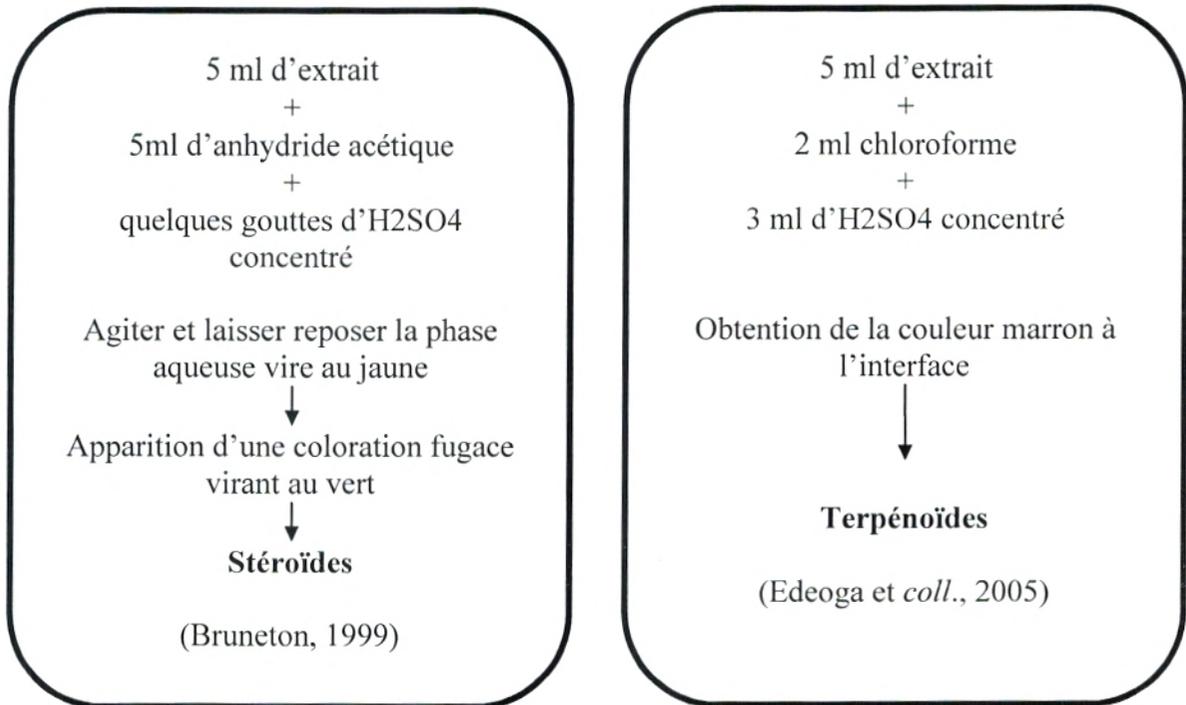


Figure N° 9 : Représentation schématique des tests phytochimiques pour la détermination des terpènes.

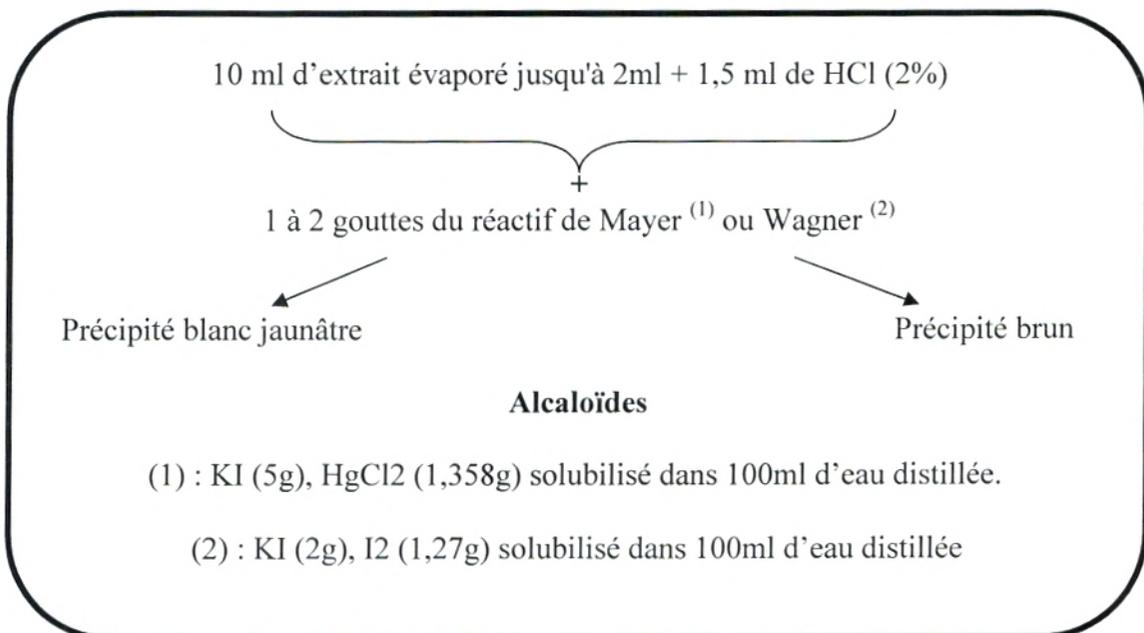


Figure N°10: Représentation schématique des tests phytochimiques pour la détermination des alcaloïdes (Mojab et coll., 2003).

2-3- Evaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » :

La présence des flavonoïdes, des tanins, des terpènes, des quinones et des alcaloïdes peut conférer à la plante une activité antimicrobienne. C'est pourquoi, nous avons testé l'activité des différents extraits vis-à-vis de quelques microorganismes (bactéries, levures).

2-3-1- Activité antifongique :

Nous avons évalué l'activité antifongique vis-à-vis des deux souches de référence :

Candida albicans ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444 par trois méthodes :

- Méthode des disques : diffusion sur gélose Mueller Hinton supplémenté de 2% de glucose.
- Méthode de microdilution : détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) sur microplaque.
- Détermination de la Concentration Minimale Fongicide (CMF).

a. Diffusion sur gélose Mueller Hinton supplémenté de 2% de glucose (Méthode des disques) :

C'est une méthode pour tester la sensibilité des levures capables de fermenter le glucose, particulièrement la souche *Candida* vis-à-vis des substances antifongiques. Elle a été proposée et standardisée en 2004 par *Clinical and laboratory Standards Institute* (CLSI).

Le milieu de culture recommandé est le Mueller Hinton, supplémenté de 2% de glucose et 0,5 µg/mL de bleu de méthylène, ce qui produit des zones d'inhibition bien visibles (Espinel-Ingroff, 2007).

L'inoculum est ajusté par numération des cellules viables sur cellule de Thoma pour avoir une concentration cellulaire de départ égale à 2×10^6 cellules/mL.

Les boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton ajoutée de 2% de glucose sont ensemencées aseptiquement par écouvillonnage, elles sont ensuite séchées à proximité de la flamme. Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à l'aide de papier filtre (Glass microfibre filters) puis stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Ces derniers, sont ensuite imprégnés de l'extrait à tester (environ 20µL) et placés sur la gélose préalablement ensemencée avec la levure à tester. Les disques sont préparés en extemporané.

Les boîtes sont laissées pendant 15 minutes à la température ambiante avant d'être mises à incuber dans une étuve à 35°C pendant 20 à 24 heures. Après l'incubation, une zone ou un halo clair apparaît (Hayes et ward, 1986).

La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibitions (mm). Les zones doivent être uniformément circulaires (Espinel-Ingroff, 2007).

b. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur microplaque (méthode de microdilution):

Nous avons utilisé la méthode décrite en 2006 par la CLSI. Cette méthode donne des résultats rapides, reproductibles et économiques.

C'est la méthode de référence qui permet de tester l'efficacité des antifongiques et de déterminer les CMI correspondantes.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance des microorganismes.

Le milieu de culture préconisé pour cette technique est le bouillon *Roswell Park Memorial Institut* (RPMI) ajouté de 2% de glucose et du rouge phénol comme indicateur coloré de pH. Ce milieu est tamponné à pH 7. C'est un milieu enrichi supplémenté en acide aminé, il permet donc une meilleure croissance des levures.

A partir d'une culture jeune de *Candida albicans* en boîte sur milieu sabouraud dextrose agar (SDA), nous avons prélevé 5 colonies de 1mm de diamètre que nous avons placé dans un tube à vice contenant 5mL de sabouraud liquide. La concentration cellulaire de cette solution est ajustée à 5×10^6 cellules/mL puis elle est diluée dans le milieu RPMI pour obtenir une concentration cellulaire finale de 10^4 cellules/mL.

Pour chaque ligne de la microplaque, nous avons déposé 100 μ L de RPMI (*Roswell Park Memorial Institut*) dans les 12 puits à l'exception du puits N°1 dans lequel nous avons ajouté 200 μ L d'extrait pur à tester. Les deux puits N°11 et N°12 servent au contrôle de la croissance et de la stérilité du milieu. Ensuite, nous avons prélevé 100 μ L du premier puits en les passant du deuxième puits au troisième, puis du troisième au quatrième et ainsi de suite jusqu'au puits N°10 de façon à obtenir des dilutions successives de demi en demi. Les 100 μ L du dernier puits (N°10) qui restent doivent être éliminés. Nous avons introduit 100 μ L de l'inoculum dans chaque puits sauf le puits N°12. Les plaques sont scellées et placées dans une étuve à 35°C pendant 24 heures. Avant la lecture de la microplaque, nous avons ajouté 10 μ L d'un indicateur de croissance ou de viabilité des levures, il s'agit du tétrazolium [MTT : 3-(4,5-diméthylthiazol)-2-yl-2,5-diphényltétrazolium bromide (Sigma)]. Le MTT est préparé en extemporané à une concentration de 0,4 mg/mL dans de l'eau physiologique stérile.

La microplaque est réincubée à 35°C pendant 30 minutes. Les puits où une croissance a eu lieu présentent une couleur bleue violette.

Nous avons utilisé comme antifongique de référence, l'amphotéricine B à une concentration de 16µg/mL.

c. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) :

La CMF est définie comme la plus faible concentration de l'antifongique qui tue 99,9% de la concentration cellulaire finale. Pour la détermination de la concentration minimale fongicide, nous avons utilisé la méthode décrite par Canton et *coll.*, 2003. Cette méthode est en accord avec les exigences de la CLSI.

Après la détermination de la CMI, les deux puits contenant les concentrations en substance antifongique strictement supérieures à la CMI serviront pour la détermination de la CMF. Pour ce faire, 20µL de chaque puits vont être transférés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu SDA. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 35°C pendant 24h.

Cette technique nous permet de vérifier si les cellules sont viables et cultivables. La boîte correspondant à la CMF renferme un nombre de colonie inférieure à 3 (Majoros et *coll.*, 2005).

2-3-2- Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des différents extraits a été évaluée par trois méthodes :

- Méthode des disques : diffusion sur gélose Mueller Hinton.
- Méthode de microdilution : détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) sur microplaque.
- Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

a. Diffusion sur gélose Mueller Hinton :

L'obtention de l'inoculum final pour les bactéries s'effectue de la même manière que celui utilisé pour les levures. L'inoculum est ajusté à 10^8 cellules/mL (DO de 0,08 à 0,1) par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm. La concentration cellulaire finale, fixée à 10^6 cellules/mL, est obtenue par dilution de l'inoculum initial à 1/100^{ème} dans de l'eau physiologique (0,9% de NaCl).

Les boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton sontensemencées aseptiquement par écouvillonnage. Ensuite elles sont séchées à proximité de la flamme. Des disques de 6 mm de diamètre préparés à base de papier filtre (Glass microfibre filters), puis stérilisés par autoclavage sont imprégnés de l'extrait à tester puis placés sur la gélose préalablementensemencée par les bactéries à tester. Les disques sont préparés en extemporané.

Les boîtes ainsi préparées sont préincubées pendant 15 minutes à température ambiante avant d'être placées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La lecture se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition autour du disque. (CLSI, 2006).

b. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur microplaque:

La méthode utilisée a été décrite par CLSI en 2006. Elle est basée sur la capacité des microorganismes à produire une croissance visible à l'œil nu au sein d'une série de dilution de la substance antimicrobienne.

A partir d'une préculture bactérienne sur solide Mueller Hinton de 24h à 37°C, nous avons prélevé quelques colonies à l'aide d'une anse de platine que nous avons resuspendu dans de l'eau physiologique. L'inoculum est ajusté à $1-2 \times 10^8$ cellules/mL (DO de 0,08 à 0,13) par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm. La concentration cellulaire finale fixée à $1-2 \times 10^7$ cellules/mL, est obtenue par dilution de l'inoculum initial à 1/10^{ème} dans de l'eau physiologique.

Pour la préparation de la microplaque, nous avons suivi le même protocole que celui utilisé pour les levures. Le milieu de culture utilisé est le Mueller Hinton liquide.

Après une incubation de 20h à 35°C, nous avons ajouté l'indicateur de croissance ou de viabilité des bactéries qui est le p-iodonitrotétrazolium (INT). Ce colorant est présent sous forme de sel violet. Lorsqu'il est dissout dans l'eau, il devient incolore. Cet indicateur coloré est préparé en extemporané à 0,4 mg/mL dans de l'eau distillée. 40µL de la solution d'INT sont rajouté dans chaque puits. La microplaque est incubée à nouveau à 35°C pendant 30 minutes.

La plus faible concentration de chaque extrait ne montrant aucune croissance est considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI), elle est confirmée par la recherche de la CMB.

Nous avons utilisé comme antibiotique de référence la gentamycine à une concentration de 80µg/mL.

c. Détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) :

La CMB est définie comme la concentration la plus faible de l'antibiotique qui détruit 99,9% de la concentration cellulaire finale. Après la détermination de la CMI, les deux puits contenant les concentrations en substance antibiotique strictement supérieures à la CMI vont servir pour la détermination de la CMB.

Pour ce faire, un échantillon de 20µL de chaque puits (ne présentant pas de croissance) vont être transférés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton Agar (MHA). Les boîtes sont incubées dans une étuve à 35°C pendant 20h. Cette technique nous permet de

vérifier si les cellules sont viables et cultivables. La boîte de la CMB renferme un nombre de colonies inférieures à 3 (Prescott et *coll.*, 1995).

Résultats et discussions

L'objectif de notre travail consiste à évaluer l'activité antifongique et antibactérienne des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ».

1- Etude phytochimique :

1-1- Tests phytochimiques :

Les différents extraits aqueux et organiques des noyaux des dattes variété « Ajwa » ont fait l'objet de tests phytochimiques. Les résultats sont présentés dans le **tableau N°2**.

Tableau N° 2: Résultats des tests phytochimiques des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ».

Les extraits		Chloroforme	Acétone	méthanol	Eau
Les familles chimiques					
Polyphénols	Tanins cathéchiq ues	-	-	+	-
	Tanins galliq ues	-	+	-	+
	Flavonoïdes	-	+	+	+
	Quinones libre	-	+	-	-
	Proanthocya nes	-	+	+	+
	Anthraquinones	-	+	+	+
Terpènes	Stéroïdes	+	+	-	-
	Terpénoïdes	+	+	+	+
Alcaloïdes		-	-	+	+

(+) : présence

(-) : absence

Il ressort de l'analyse phytochimique des différents extraits que :

Les terpénoïdes sont présents dans tous les extraits ce qui est compatible avec les résultats de Zirouti, 1996, et de Eong, 2006.

Les alcaloïdes sont présents dans l'extrait méthanolique et aqueux, ce résultat va dans le même sens que celui de Biglari et ses collaborateurs en 2008.

Les flavonoïdes, les proanthocyanes et les anthraquinones sont présents dans tous les extraits sauf l'extrait chloroformique.

Les stéroïdes sont présents dans deux extraits, l'extrait acétonique et chloroformique.

Les tanins galliques et les quinones libres sont présents que dans l'extrait chloroformique.

Les tanins cathéchiq

1-2- Rendement en extraits secs :

Les résultats des concentrations des différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » sont rassemblés dans le **tableau N°2**.

Tableau N°3: Concentrations des différents extraits (g/mL)

L'extrait	Acétonique	Chloroformique	Méthanolique	Aqueux
Concentration (g/mL)	0,3635	0,8431	0,4345	0,4023

Le rendement est déterminé par rapport à 10g de matériel végétal ayant subi l'extraction. Les résultats sont exprimés en pourcentage (%). Les valeurs sont regroupées dans la **figure N°11**.

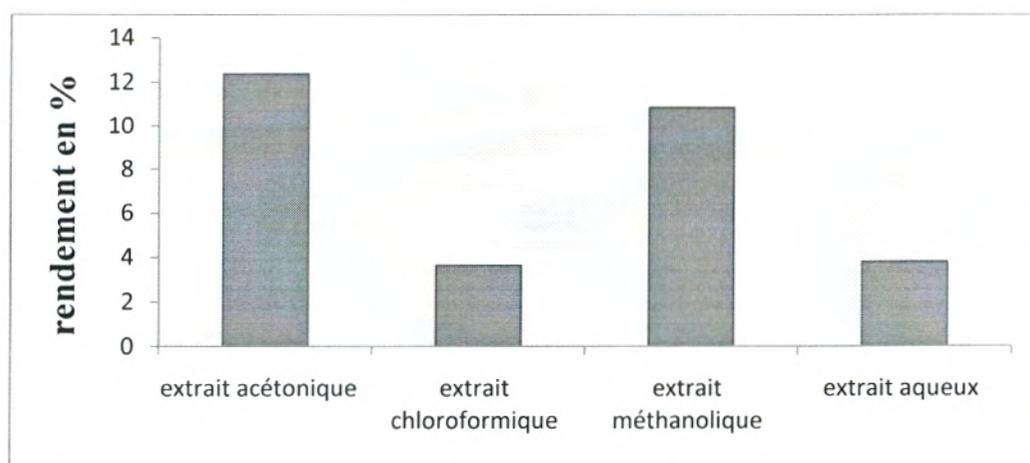


Figure N° 11: Rendements des différents extraits des noyaux des dattes « Ajwa ».

Nous remarquons que les rendements en extraits des noyaux des dattes « Ajwa » varient de 3.16% à 12,384% en fonction du solvant utilisé. En effet, le rendement le plus élevé est celui obtenu avec l'extrait acétone (12,384%) suivi de celui de l'extrait de méthanol (10,86 %).

Par ailleurs, les rendements de l'extrait chloroformique et de l'extrait aqueux sont de 3,167% et 3,79%.

2- Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » :

Les résultats obtenus de l'étude phytochimique des extraits des noyaux des dattes variété «Ajwa» montrent la présence d'une multitude de métabolites secondaires. C'est pourquoi,

nous avons évalué l'activité antifongique et antibactérienne de nos extraits sur des souches de références de levures et de bactéries.

2-1- Evaluation de l'activité antifongique des extraits des noyaux des dattes «Ajwa » :

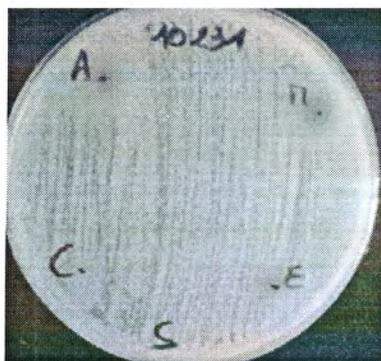
Cette partie de notre étude a pour but d'évaluer dans un premier temps l'activité antifongique de différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » vis-à-vis de deux souches de levures de référence par la méthode des disques. Dans un deuxième temps nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF).

2-1-1- Evaluation de l'activité antifongique par la technique de diffusion sur Mueller Hinton supplémenté (méthode des disques) :

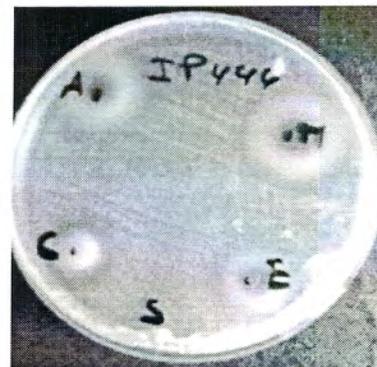
Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antifongique des quatre extraits sur les deux souches de levures *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444 obtenus par la méthode des disques sont représentés dans le **tableau N° 4** et la **figure N° 12**.

Tableau N°4: diamètre d'inhibition (mm) de différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ».

Souches	Extrait Acétonique	Extrait Méthanolique	Extrait Chloroformique	Extrait aqueux
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	13,3	15,6	8	13
<i>Candida albicans</i> IP 444	29	28	15,6	20,3



Candida albicans ATCC 10231



Candida albicans IP 444

Figure N°12: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des quatre extraits vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231 et de *Candida albicans* IP 444 (LAPSAB, 2013).

Nous remarquons que l'extrait méthanolique et l'extrait acétonique présentent une zone d'inhibition d'un diamètre de 28 mm et de 29 mm respectivement vis-à-vis de *Candida albicans* IP 444, alors qu'une faible activité est observée pour l'extrait chloroformique vis-à-vis de *Candida albicans* IP 444 et de *Candida albicans* ATCC 10231.

Par ailleurs, l'extrait chloroformique n'a exercé aucune activité inhibitrice sur les deux levures testées. Ceci peut s'expliquer par l'absence des proanthocyanes, des tanins galliques, des anthraquinones et des alcaloïdes qui sont des molécules réputées par leur activité antimicrobienne (Nazia et Perween, 2006).

Au vu de ces résultats, nous pouvons dire que parmi les quatre extraits, seulement deux (méthanolique, acétonique) possèdent une activité antifongique vis-à-vis *Candida albicans* IP 444.

La souche *Candida albicans* ATCC 10231 est plus résistante aux différents extraits des noyaux des dattes variété «Ajwa» par rapport au *Candida albicans* IP 444.

2-1-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) :

La sensibilité aux antifongiques a été évaluée selon la méthode CLSI, l'antifongique de référence est l'amphotéricine B préparé à une concentration finale de 16µg/ml.

Le **tableau N°5** regroupe les CMI des quatre extraits sur *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444.

Tableau N°5: Concentrations minimales inhibitrices (mg/mL) vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231 et de *Candida albicans* IP 444.

Souches	Extrait chloroformique	Extrait acétonique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Candida albicans</i> IP 444	0,9	26,3	7,5	12,6
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0,9	26,3	7,5	12,6

Nous observons que l'extrait chloroformique est le plus actif vis-à-vis des deux souches de levures testées avec une CMI de 0,9 mg/mL suivi de l'extrait méthanolique avec une CMI de 7,5 mg/mL.

Les CMF des quatre extraits sur *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444 sont représentées sur le **tableau N° 6**.

Tableau N° 6: Concentrations minimales fongicides (mg/mL) vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231 et de *Candida albicans* IP 444.

Souches	Extrait chloroformique	Extrait acétonique	Extrait méthanolique	Extrait aqueux
<i>Candida albicans</i> IP 444	1,9	52,6	15,1	25,2
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1,9	52,6	15,1	25,2

L'extrait chloroformique est actif vis-à-vis de *Candida albicans* ATCC 10231 et de *Candida albicans* IP 444 avec une CMF de 1,9 mg/mL alors que l'extrait méthanolique a une CMF de 15,1 mg/mL vis-à-vis des deux souches.

2-2- Evaluation du pouvoir antibactérien des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa »:

Nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits des noyaux des dattes variété «Ajwa» vis-à-vis des différentes souches avec la méthode des disques. Ensuite nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB).

2-2-1- Evaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion sur Mueller Hinton (méthode des disques) :

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » sur les souches de bactéries de référence sont présentés dans le **tableau N°7**.

Tableau N°7 : Diamètres d'inhibition (mm) des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » vis-à-vis des souches bactériennes.

Souches	Extrait Acétonique	Extrait Méthanolique	Extrait Chloroformique	Extrait Aqueux
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	19,3	19,3	10	13,6
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	21	19,3	14	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	14,3	17	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	17,6	19	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	19,3	19	13,6	14,3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16	18	15	-
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	18	21	-	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	14	20	-	-

Nous remarquons que l'extrait acétonique est actif sur toutes les souches avec des diamètres qui varient de 14 mm chez *Escherichia coli* ATCC 25933 à 21 mm chez *Bacillus cereus* ATCC 11778.

De même, l'extrait acétonique a exercé une activité antibactérienne allant de 19,3 mm sur *Proteus mirabilis* ATCC 35659 à 16 mm sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Nous observons aussi que l'extrait méthanolique est actif sur toutes les souches avec des diamètres qui varient de 17 mm chez *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 à 21 mm chez *Enterobacter cloacae* ATCC 13047.

L'extrait chloroformique exerce un bon pouvoir antibactérien sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec un diamètre d'inhibition de 15 mm et de 14 mm suivi par *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 avec un diamètre de 13,6 mm et de 10 mm suivi par *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

L'extrait aqueux est actif sur *Proteus mirabilis* ATCC 35659 avec un diamètre de 14,3 mm et suivi par *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec un diamètre d'inhibition de 13,6 mm.

Les résultats ont montré des activités relativement supérieures à celles reportées par Praveen et ses collaborateurs en 2011.

2-2-2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) :

Les résultats relatifs à l'évaluation des CMI des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » sur les souches de bactéries de référence sont présentés dans le **tableau N° 8**.

Tableau N°8 : Concentrations minimales inhibitrices (mg/mL) des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa »

Souches	Extrait Acétonique	Extrait Méthanolique	Extrait Chloroformique	Extrait Aqueux
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7,5	-	13,1	19,7
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	52,6	15	-	50,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	52,6	7,5	9,8	12,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	26,3	7,5	19,7	12,5
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	13,1	7,5	-	25,1
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	50,2	7,5	13,1	50,4
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	15,8	-	50,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	13,1	25,1	-	12,5

Nous remarquons que l'extrait méthanolique présente une bonne activité antibactérienne vis-à-vis de *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 et *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 avec des CMI de 7,5 mg/mL.

L'extrait acétonique s'est avéré lui aussi actif sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec une CMI de 7,5 mg/mL ainsi que sur *Escherichia coli* ATCC 25933 avec une CMI de 13,1 mg/mL.

L'extrait aqueux présente une CMI de 12,5 mg/mL vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, d'*Escherichia coli* ATCC 25933 et d'*Enterococcus faecalis* ATCC 25212.

L'extrait chloroformique est actif sur *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 avec une CMI de 9,8 mg/mL.

Les résultats relatifs à l'évaluation des CMB des extraits des noyaux des dattes « Ajwa » vis-à-vis des bactéries de référence testées sont présentés dans le **tableau N°9**.

Tableau N°9 : Concentrations minimales bactéricides (mg/mL) des différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Souches	Extrait Acétonique	Extrait Méthanolique	Extrait Chloroformique	Extrait Aqueux
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	15	200,6	26,3	29,5
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	105,3	301,6	120,6	100,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	105,3	15	19,7	25,1
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212	52,6	15	39,5	25,1
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	26,3	15	158,3	50,3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	100,5	15	26,3	100,8
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	-	30,1	-	105,7
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25933	26,3	50,2	-	25,1

L'extrait acétonique a montré une CMB de 15 mg/mL sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659 et de 26,3 mg/mL sur *Escherichia coli* ATCC 25933.

L'extrait méthanolique s'est avéré lui aussi actif sur *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, *Enterococcus faecalis* ATCC 25212 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec une CMB de 15 mg/mL.

L'extrait chloroformique a montré une activité antibactérienne vis-à-vis de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603 avec une CMI de 19,7 mg/mL et sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 d'une CMB de 26,3 mg/mL.

Les résultats relatifs au CMI et au CMB révélées par l'extrait acétonique et méthanolique sont plus intéressants que ceux de Praveen et ses collaborateurs en 2011.

Conclusion et perspectives

De nombreuses communautés utilisent, à des fins médicales et culturelles en plus de la nourriture, des produits naturels provenant de l'écosystème. Bien qu'il existe des médicaments synthétiques pour de nombreux usages, les produits naturels restent utilisés comme produits médicaux ou pour des travaux de recherche biomédicale sur des plantes destinés à mieux comprendre la physiologie humaine et à mieux connaître et traiter les maladies.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa » de la région de Médine.

Ce travail préliminaire a permis de mettre en évidence différentes familles des composés chimiques dotées de propriétés pharmacologiques intéressantes. L'épuisement des noyaux par des solvants de polarité croissante a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des quinones, des stéroïdes et des terpénoïdes.

En outre, les extractions de ces différents composés secondaires, nous ont permis de calculer le rendement de chaque extrait. Le rendement le plus important est celui de l'extrait acétonique suivi de l'extrait méthanolique puis l'extrait chloroformique et enfin l'extrait aqueux.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne effectuée sur les souches pathogènes a montré que tous les extraits sont actifs sur les deux souches *Candida albicans* IP444 et *Candida albicans* ATCC 10231.

Le calcul des CMI et des CMF des différents extraits actifs vis-à-vis des souches de référence de levures *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP444 montre que ces deux levures sont très sensibles à l'extrait chloroformique.

Tous les extraits testés sur les souches de référence de bactéries pathogènes, exercent une activité antibactérienne qui varie d'un extrait à l'autre.

L'extrait méthanolique et acétonique exercent une bonne activité sur toutes les souches de bactéries. Par contre, l'extrait aqueux est actif que sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

L'extrait chloroformique est actif que sur des quatre souches *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Proteus mirabilis* ATCC 35659 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Le calcul des CMI et des CMB pour les bactéries de référence, montre une activité antibactérienne non négligeable des différents extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ».

Notre travail présente une contribution à l'étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des extraits des noyaux des dattes variété « Ajwa ».

En effet, il est souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par une étude phytochimique plus développée afin d'isoler et identifier les différents composés chimiques présents dans les noyaux des dattes « Ajwa », et les purifier en utilisant des techniques chromatographiques et spectroscopiques pour leurs identification.

Il serait aussi intéressant de tester les différentes molécules isolées *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et étudier l'effet synergique des extraits avec d'autres antifongiques et antibiotiques pour améliorer l'index thérapeutique.

Référence bibliographique

1. **Achoura A., Belhamra M. (2010)** Aperçu sur La Faune Arthropodologique des Palmeraies D'El-Kantara. *Département d'Agronomie, Université Mohamed Khider Biskra. Courrier du S.*
2. **Afolayan A.J., Meyer J.J. (1997)** The antimicrobial activity of 3, 5, 7-trihydroxyflavone isolated from the shoots of *Helichrysum aureonitens*. *Journal Ethnopharmacol*; 57:177–81. avoir n°10:93-101.
3. **Ali K.T., Fine N.C., Faraj M., Sarsam N.A.(1956)** the use of date products in the ration of the lacting dairy cow and the water buffalo. *Indian Journal of Veterinary Science*.26:193-201.
4. **Al-Bayati F.A., (2008)** Synergetic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology* ; 116 : 403-406.
5. **Al-Qarawi A.A., Abdel-Rahman H., Ali B.H., Moussa H.M.,El-Mougy S.A. (2005)** the ameliorative affect of date (*phoenix dactylifera L*)on ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Journal of ethnopharmacology* .98:313-317.
6. **Al-Turki S.M. (2008)** Antioxydan Properties of date palm (*phoenix dactylifera L*) Cultivars. *Department of Horticulure Landscape Architecture*.
7. **Aubry-Damon H., Grenet K., Ndiaye Sall P., Che D., Cordeiro E., Rigaud E., Valenciano M., Liénard M., Delzescaux D., Desenclos J-C., et Andremont A. (2001)** Résistance aux antibiotiques des bactéries commensales isolées chez les éleveurs de porcs. *Département des maladies infectieuses, InVS, Saint-Maurice, paris*.
8. **Benchelah A.C. and Maka M. (2006)** Les dattes, de la préhistoire à nos jours. *Phytothérapie* N° I: 43-47.
9. **Beneli R., Vene R. (2002)** Anti-invasive effects of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a natural inhibitor of metallo and serine proteases. *Biological Chemistry* 383 (1), 101–105.
10. **Berche P. (2007)** Une histoire des microbes. *John Libbey, Paris* ; 103-106.
11. **Biglari F., Alkarkhi A. F. M. et Easa A. M.(2008)** Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran, *Journal of Food Chemistry*, 107:1636-1641.
12. **Blandine D. (2010)** Les Mycoses ou Infection Fongiques. *Maladies Infectieuse Service du Dr Lortholary Hôpital Necker*.

13. **Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A., Ziyyat. (2002)** Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes Metab*, 10: 33-50.
14. **Bouza E., Dal Farra C., Berghi A., Oberto G., Peyronel D., Domlage N. (2002)** Date Palm Kernel exhibits antiaging proprieties and significantly reduces skin wrinkles. *Int.J.Tis.React.* 24:131-136.
15. **Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3^{ème} édition). *Lavoisier Tec & Doc. Paris*, 369-388.
16. **Carrivenc-Lavier M.C., Vernevaut M.F., Totis M., Siess M.H., Magdalou J., Suschetet M. (1996)** Comparative effects of flavonoids and model inducers on drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicology* 114, 19–27.
17. **Caudy C., et Buxeraud J. (2005)** Antibiotique : pharmacologie et thérapeutique. *Collection Pharma, Elsevier* ; 14-16.
18. **Canton E., Pema N., Viudes G., Gobernado M. and Espinel-Ingroff A. (2003)** Minimum fungicidal concentration of amphotericin B for bloodstream *Candida* Species. *Diagn. Microbial. Infect. Dis* ; 45 :203-206.
19. **Chaira N., Ferchichi A., Mrabet A., Sghairoun M. (2007)** Chemical Composition of the Flesh and the Pits of Date Palm and Radical Scavenging Activity of Their extracts. *Pakistan. Journal of Biological Sciences* 10(13):2202-2207.
20. **Chebaibi F., Rhazi-Filali I., Lahlou A., Chahlaoui H., et L'kassmi., (2007)** Journée Scientifique « Ressources naturelles et Antibiothérapie », Faculté des Sciences-Kanitra. Etude de l'activité antimicrobienne des feuilles de l'Olivier (*Olea europaea* L).
21. **Cinical and Laboratory Standars Institute (2006)** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, M2-A9, 9th ed., CLSI, Wayen,PA.
22. **Cinical and Laboratory Standars Institute (2004)** Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved standard, M2-A9, 9th ed., CLSI, Wayne, PA.
23. **Come L. (2012)** Le marc de café comme source atypique de tanins condensés dans le contrôle intégré des nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants du Yucatán, Mexique. *Thèse de doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort.*
24. **Crowell P. L. (1999)** Prevention and Therapy of Cancer by Dietary Monoterpenes. *Journal of Nutrition*; 129: 775-778.

25. **Dammark I., Ben Abdellah F., Boudaya S., Berbes S., Kerkes L., El Gaied A., Turki H., Attia H., Hentati B., (2007).** Date seed oil limit oxidative injuries induced by hydrogen peroxide in human skin organ. *BioFactors* .29, 137-145.
26. **Darleen A., Demason R., Sexton M., Gorman ., Reid J.S.G., (1985).** Structure and biochemistry of Endosperm Breakdown in Date Palm (*Phoenix dactylifer L*) Seeds *Protoplasma*. 126: 159-167.
27. **Dirany A. (2010)** Études cinétique et mécanistique d'oxydation/minéralisation des antibiotiques sulfaméthoxazole (SMX), amoxicilline (AMX) et sulfachloropyridazine (SPC) en milieux aqueux par procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Mesure et suivi d'évolution de la toxicité lors du traitement. *Thèse de doctorat Spécialité Sciences et Techniques de l'Environnement. Université Paris-EST École Doctorale SIE.*
28. **Dohou N., Yamani K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A. and Gmira N. (2003)** Screeniniphytochimique d'une endémique ibéro-Marocaine, *Thymelae alythroïdes*, *Bull.Soc.Pharm.Bordeaux* ; 142 : 61-78.
29. **Duraffourd C., Lapraz J.C., Chemli R. (1997)** La plante médicinale de la tradition à la science de l'usage empirique à la phytothérapie clinique 1^{er} congrès : intercontinental Tunis ; 2 :46, 62,181.
30. **Edeoga H.O., Okwu D.E. and Mbaebie B.O. (2005)** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants, *African Journal of Biolotechnology*; 4 :685-688.
31. **Elleuch M., Besbes S., Roiseux O., Blecker C., Deroanne C., Drira N. E. et Attia H. (2008)** Date flesh: chemical composition and characteristics of the dietary fibre; *Journal of Food Chemistry*,111: 676-682.
32. **Eong YJ, Hong FA, Tomas-Barberan, Adel A, Kader S, Alyson E. (2006).** The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet Noor dates (*Phoenix dactylifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 54: 2405-2411.
33. **Epifano F., Genovese S., Menghini L., and Curini M. (2007)** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*;68:939 – 953.
34. **Espinell-Ingroff A. (2007)** Standardized Disk Diffusion Method for Yeasts with the National Committee for Clinical and Laboratory Standardsinstitute (CLSI formerly

- NCCLS) M44-A reference method for testing *Candida spp.* *Clin.Microbiol.New*; 29 (13): 97-100.
35. **Feldman M. (1976)** Taxonomie classification and names of wild. *Cult and moderne cultivated wheats. Evolution of plants. Longman, London*, 120-128.
36. **Geursen R, Heer P, Kirkness B, Loewenstein P, Mees S, Muschart J.M., Pickaert M.C. (2008)** Des médicaments au service de l'humanité. *Fédération européenne d'Associations et d'Industries pharmaceutiques*.
37. **Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A-M. (2001)**.Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie. Lavoisier Tec et Doc, Paris ,273.
38. **Girotti –Chanu C. (2006)** Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine , flavone extraite de miirotea de bilis .*thèse de Doctorat*. Institut national des sciences appliquées de Lyon.136.
39. **Gonzalez-Tejero M.R., Casares-Porcel M., Sanchez-Rojas C.P., Ramiro-Gutierrez J.M., Molero-Mesa J., et coll., (2008)** Medicinal plants in the Mediterranean area : Synthesis of the project Rubia. *J. Ethnopharmacol* , 116: 341-357.
40. **Gorham J. (1977)** Lunularic acid and related compounds in liverworts, algae and hydrangea, *Phytochemistry*; 16: 249-253.
41. **Graham J.G., Quinn M.L., Fabricant D.S., Farnsworth N.R. (2000)** plants used against cancer extention of the work of Jonathan Hartwell *J. Ethnopharmacol*, 73: 347-377.
42. **Hadi M. (2004)**. La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. *Université Louis Pasteur Strasbourg* I.155p
43. **Harborne J.B., Baxter H. (1999)** The handbook of natural flavonoids, Vols 1 and 2. Chichester, UK: John Wiley and Sons.
44. **Hartmann T. (2007)** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*; 68: 2831 – 2846.
45. **Hart T., et Shears P. (1997)** Atlas de Poche de Microbiologie.1^{ère} édition .*Médecine-Science Flammarion Paris* : 1-5.
46. **Havsteen B. (1983)** Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*; 32:1141–8.

47. **Hayes M.V. and Ward J.B. (1986)** *The role of penicillin proteins in the antibacterial activity of β -lactam antibiotics, in antibiotic in laboratory medicine edited by V. Lorian, WILLIAMS and Wilkins: 722-756.*
48. **Hedqvist H. (2004)** *Metabolism of Soluble Proteins by Rumen Microorganisms and the Influence of Condensed Tannins on Nitrogen Solubility and Degradation. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala (Suweden).*
49. **Jaccot B., et Campillo B. (2003)** *Nutrition humaine. Ed. MASSON, Paris, 311 p.*
50. **Jassim S.A.A., Naji M.A. (2007)** *In Vitro Evaluation of the Antiviral Activity of an Extract of Date Palm (*Phoenix dactylifera L*) Pits on a Pseudomonas Phage. General Authority for Health Services for the Emirate of Abu Dhabi.*
51. **Kalemba D. and Kunicka A. (2004)** *Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. Current Medicinal Chemistry 10: 813-829.*
52. **Karumi Y., Onyeyili P.A. and Ogugbuaja V.O. (2004)** *Identification of active principals of M. balsamina (Balsam apple) leaf extract. J.Med.Sci; 4: 179-182*
53. **LAPSAB: Photos prise au niveau du Laboratoire Antibiotique antifongique, physico-chimie synthèse et Activité Biologique (2013).**
54. **Lavigne J.P. (2007)** *Effet des Antibiotiques et Mécanismes de Résistance. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes.*
55. **Leinmüller E., Steingass H. and Menke K.H. (1991)** *Tannins in Ruminant feed stuff. Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim (Germany).*
56. **Macheix J.J., Fleurit A., et Sarni-Manchado P. (2005)** *Les composés phénoliques dans la plante : structure, biosynthèse, réparation et rôles. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Cheynier V, Sarni-Manchado P. Tec & Doc ; Lavoisier. Paris.*
57. **Majoros L., Kardos G., Szabo B. and Sipiczki M. (2005)** *caspo fungin susceptibility testing of Candida inconspicua: correlation if different methods with the minimal fungicidal concentration (MFC). Antimicrobial agents and Chemotherapy; 49(8) : 3486-3488.*
58. **Makkar H.P.S. (2003)** *Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research, 49 : 241-256.*

59. **Malecky M. (2010)** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat en physiologie de la nutrition animale, biotechnologie. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement, *Agro Paris Tech*.
60. **Marc T, Gerard W, Denis L. (2001)**. Classification des Anti-inflammatoires in Guide Pharmacologie, Etudiants et Professionnels Paramédicaux 4^{ème} édition .426 p.
61. **Marfak A., (2003)**. Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. *Université de Limoges*.187 p.
62. **Marston A.L.M. and Hosttemann K. (2003)** Triterpenoid saponins from the roots of *Silenecubalbus*. *Fitoterapia* 74: 237 - 241.
63. **Michelline M.R.K., (2009)** Etude ethnobotanique, phytochimique et activité biologiques de quelques lamiacée du Burkina Faso : Cas de *leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita vahl* et *orthosiphon pallidus royle ex benth*.
64. **Mojab F., Kamalinejab M., Ghaderi N. and Vahidipour H.R. (2003)** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical research*; 77-82.
65. **Munier P., Munier P.M., Vilordebo A. (1973)** Le palmier-dattier. Edition Maisonneuve et Larose.p.221.
66. **Nazia M.A.C. and Perween T. (2006)** Antimicrobial activity of *Cinnamomum cassia* against divers microbial flora with its nutritional and medicinal impacts. *Pak. J. Bot* ; 38 (1) : 169-174.
67. **Oloyede O.I. (2005)** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*; 4: 379-381.
68. **Organisation mondiale de la Santé. (2012)** Statistiques Sanitaires mondiales.
69. **Paris M., et Hurabielle M. (1981)** Abrégé de matière médical « pharmacognosie » ; tome1, généralité, morphologie. *Ed. Masson, Paris*, 256-266.
70. **Peronny S. (2005)** La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .151p.
71. **Petignat D., Blanc D., Bally F. (2006)** Division Autonome de Médecine Préventive Hospitalière. *Centre de Maladie Infectieuse et épidémiologie. Sion*.
72. **Potterat O., and Hostettman K. (1995)** Antioxydants and free radical scavengers of naturals origin. *Current organic chemistry I*; 415-440.

73. Prescott, Harley et Klein (1995). Microbiologie. DeBoek-Wesmael.S.A.,1014. Radhakrishnan V V., Madhusoodnan K.J. et Kuruvilla K.M., (1992) Cinnamon- the spicy bark, Spice India ; 5(4) : 12-13.
74. Praveen K.M., Bentwal R.V.B., Shaun M.K., Harshith P.B. (2011) A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (Phoenix dactylifera L.) Food Research International, 44:1812–1822.
75. Rahman M.S., Kasapis S., Al-Kharawi N.S.Z, Al-Marhibi I.M., Kham A.J. (2007) Composition Characterisation and Thermal Transition of Date Pits Powders. *Journal of Food Engineering*, 80:1-10.
76. Rappouli R. (2004) Progress and challenges in infectious diseases. *Nature Med.*, 10: 1177-1185.
77. Sabah A, A., Jassim A., Naji .(2007).In vitro Evaluation of the antiviral Activity of the Extract of Date Palm Pits on a pseudomonas Phage : *eCAM*, P:1of6.
78. Sawaya W. N., Khalil J. K., Khatchadourian H. A., Safi W. M. et Mashadi A. S.(1983) Sugars, tannins and some vitamins contents of twenty-five date cultivars grown in Saudi Arabia at the Khalal (mature color) and Tamer (ripe) stages. *Date Symposium*. King Faisal University Al-Hassa.
79. Shih, H., Pickwell, G.V., Quattrochi, L.C. (2000) Differential effects of flavonoid compounds on tumor promoter-induced activation of the human CYP1A2 enhancer. *Arch. Biochem. Biophys.* 373, 287–294.
80. Small Ernest, Paul M Catling. (2000) Les cultures médicales canadiennes. Plantes médicinales-phytothérapie-Industrie Canada.1 : 3.
81. Sofowora A. (2010) Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. *Karthala : Académie suisse des Sciences naturelles* ; 5-6.
82. Valnet J. (1984) Aromathérapie : traitements des maladies par les essences des plantes. *Maloine* ; 218-223.
83. Youssif O.M., Osman M.F., Alhadrami G.A. (1996) Evaluation of Dates and Date Pits as die tary ingredients in tilopia(*Oreochronis Aureus*) diets differing in protein sources. *Bioresource Technology*. 57:81-85.
84. Ziouti AC, Modafar EL, Fleuriet AS, Boustani EL, Macheix JJ (1996). Phenolic compounds in date palm cultivars sensitive and resistant to *Fusarium oxysporum*. *Biologia. Plantarum*, 38: 451-457.

المخلص

العمل الذي قمنا به يندرج في إطار البحث عن مضادات حيوية جديدة وطبيعية من نواة فاكهة جاء ذكرها في القرآن الكريم والسنة النبوية ألا وهي نواة التمر، النوعية المستعملة "العجوة". في هذا الإطار دراستنا ركزت من ناحية على البحث النوعي على مختلف العائلات الايضية الثانوية لنواة التمر النوعية المستعملة "العجوة" من ناحية أخرى قمنا بتقييم قوتها كمضادات للبكتيريا والفطريات.

بينت دراسة المكونات الكيموونباتية للمستخلصات المحصل عليها بعد نقع دام 24 ساعة باستخدام محاليل متزايدة الاستقطاب (كلوروفورم، استون، ميثانول و الماء) علي وجود مواد متعددة الفينولات، التربينية و الكلوبيدات. فكل المستخلصات المستعملة لها تأثير مثبت على نشاط الخميرتين *Candida albicans* IP 444, *Candida albicans* ATCC 10231. وباستعمال طريقة انتشار الاقراص على وسط صلب، اما على وسط سائل، كل المستخلصات لها نشاط على هاتين الخميرتين تتراوح ما بين 0.7 مع/مل و 52.6 مع/مل. بخصوص النشاط المضاد للبكتيريا، تقريبا ان جميع المستخلصات تثبط السلالات البكتيرية التي تم اختبارها مع اقطار تتراوح ما بين 10 مم و 21 مم. بخصوص النشاط المضاد للبكتيريا على الوسط السائل، بينت النتائج المحصل عليها أن جميع المستخلصات لها تأثير مثبت على السلالات البكتيرية التي تم اختبارها مع CMI و CMB تتراوح ما بين 7 مع/مل و 52 مع/مل.

الكلمات المفتاحية □ العائلات الايضية الثانوية، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضاد للبكتيريا، BMC, FMC, IMC

Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre de recherche de nouveaux antimicrobiens naturels à partir des noyaux de palmier dattier variété "Ajwa" qui très loué dans la Sunna. Dans ce contexte, notre étude a porté d'une part, sur la détermination qualitative de différentes familles chimiques de métabolites secondaires des noyaux des dattes variété « Ajwa ». D'une autre part, sur l'évaluation de son activité antifongique et antibactérienne.

L'étude phytochimique des extraits obtenus après macération de 24h en utilisant des solvants de polarité croissante (Chloroforme, acétone, méthanol, eau) a révélé la présence des polyphénols, des terpènes et des alcaloïdes. Tous les extraits montrent un effet inhibiteur par la méthode de diffusion de disques sur milieu solide vis-à-vis des deux souches de levures testées, *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444, sur le milieu liquide, tous les extraits sont actifs sur ces deux levures avec des Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et Concentrations minimales bactéricides (CMF) compris entre 0,7 mg/mL et 52.6 mg/mL. Pour l'activité antibactérienne, tous les extraits exercent une inhibition sur les souches de bactéries testées avec des diamètres d'inhibition compris entre 10mm et 21mm. En ce qui concerne l'activité antibactérienne sur milieu liquide, les résultats obtenus montrent que tous les différents extraits exercent un effet inhibiteur vis-à-vis des souches de bactéries testées avec des CMI et CMF compris entre 7mg/mL et 52 mg/mL.

Mots clés : Ajwa , métabolites secondaires, activité antifongique, activité antibactérienne, CMI, CMF, CMB.

Summary

Our work is part of finding new natural antimicrobials from a pit palmier dattier variety "Ajwa" that most praised in the Sunnah. In this context, our study is focused in the first time, to the qualitative determination of different families of secondary metabolites from the pits dattier variety "Ajwa". On the other hand, assessing her antifungal and antibacterial activities. The phytochemical study of Our work is inscribed in finding of new natural antimicrobials from a cosmopolitan plant Buck's-Horn Plantain. In this context, our study is focused in the first time, to the qualitative determination of different families of secondary metabolites from the pits dattier variety "Ajwa". On the other hand, assessing her antifungal and antibacterial activities. The phytochemical study of extracts obtained after maceration of 24h using solvents of increasing polarity (chloroform, acetone, methanol, water) revealed the presence of polyphenols, terpenes and alkaloids. the different extracts obtained were, have an inhibitory in the two yeasts strainstested, *Candida albicans* ATCC 10231 and *Candida albicans* IP 444, the liquid medium, all the extracts are active in both yeast except with the MIC and MFC between 0,7mg/mL and 52,6mg/mL. For the antibacterial activity, all the extracts have an inhibition of the bacterial strains tested with inhibition diameters between 10mm and 21mm. Regarding to the antibacterial activity on the liquid medium, the results obtained showed that all the different extracts have an inhibitory effect against the bacterial strains tested with MIC and MBC between 7.5mg/mL et 52.6mg/mL.

Key word: Ajwa, secondary metabolites, antifungal activity, antibacterial activity, MIC, MFC, MBC.