N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master académique
En : Sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Microbiologie appliquée
Par :

AMRANE Souheila

SUJET :

Etude de l'activité antimicrobienne des polyphénols du sirop de dattes de trois variétés de *Phoenix dactyliféra* L., sur le microbiote cutané : Effet sur la cicatrisation des plaies chroniques

Soutenu le : / 06 / 2021, devant le jury composé de :

M[r] Chami B	MAA A l'U.Y.F.M	Promoteur.
M[r] Kirdi B	MAA A l'U.Y.F.M	Examinateur 1.
M[r] Licir M	MAA A l'U.Y.F.M	Examinateur 2.

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

*Avant tout, je remercie **ALLAH** pour m'avoir donné la volonté, le courage, la sante, la force et la patience pour accomplir ce travail.*

*Je remercie mon encadreur **M CHAMI B** pour les orientations, l'encouragement et les fructueux conseils. Merci aussi pour son aide et son regard critique qui m'ont été grandement utiles au cours de mon mémoire et lors de la rédaction de mon manuscrit.*

*Je remercie **M Kirdi B** et **M Licir M** pour l'honneur de devient les membres du mon jury d'examination.*

Je remercie aussi tous les ingénieurs de laboratoire du département de Science de nature et de vie, de laboratoire d'hygiène de l'établissement public de santé de proximité de Médéa, de laboratoire de dispensaire El-Moudjahid Ismail Mohamed de Médea et de laboratoire du contrôle de qualité (laboratoire AMRANE) en Biskra.

Je remercie Mme Slama Sara, la directrice de l'entreprise Slama de production (Tolga, Biskra), pour les orientations et les conseils.

En fin, je tiens à remercier mes parents, mes frères et mes sœurs (Surtout ma sœur Khaoula), et toute personne ayant contribué de pré ou loin à la réalisation de ce travail.

Merci.

Dédicaces

A moi-même,

A mes chers parents,

A mes frères et mes sœurs,

A toute ma famille,

A tout cher à mon cœur,

Je dédie ce travail.



Résumé

Cette étude consiste à évaluer l'efficacité antimicrobienne des polyphénols obtenues à partir des sirops des dattes des variétés Deglet-Nour, Mech-Degla et Ghars, jugées par la médicine traditionnelle avoir un grand effet thérapeutique. Ceci afin de rationaliser leur usage pour les appliquer comme remède alternatif aux médicaments face à la cicatrisation des plaies chroniques.

Les PPH de ses sirops ont été testées sur quatre micro-organismes pathogènes responsables à des infections des plaies chroniques (des Entérobactéries, *Escherichia coli*, Staphylocoques à coagulase négatif et *Staphylococcus aureus)*, en les comparant avec l'effet antimicrobienne des médicaments (Septidine dermique 10%, Sulfadiazine 1%, Gentamicine 80 mg et Amoclan 1g/125mg) et l'effet synergique de ses mélanges (PPH-Médicament).

Des propriétés antimicrobiennes intéressantes des PPH étudiées ont été constatées sur les germes testées. Les résultats obtenus ont mis en évidence par l'évaluation de l'indice d'inhibition, suggérant une forte sensibilité des bactéries aux agents testés. Cette activité antimicrobienne peut contribuer à une autre stratégie de cicatrisation des plaies chroniques et offrira éventuellement la possibilité d'utilisation de ces PPH en médecine thérapeutique.

Mot clés : Polyphénols ; Médicament ; effet Synergique ; Entérobactérie ; Staphylocoque *; Escherichia coli ; Staphylococcus aureus*.

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the antimicrobial efficacy of polyphenols obtained from date syrups of the Deglet-Nour, Mech-Degla and Ghars varieties, judged by traditional medicine to have a great therapeutic effect. This in order to rationalize their use to apply them as an alternative remedy to medicines in the face of chronic wound healing.

The PPH of its syrups were tested on four pathogenic microorganisms responsible for chronic wound infections (Enterobacteria, *Escherichia coli*, coagulase-negative Staphylococcus and *Staphylococcus aureus*), comparing them with the antimicrobial effect of the drugs (Septidin Dermic 10%, Sulfadiazin 1%, Gentamicin 80 mg and Amoclan 1g/125mg) and the synergistic effect of its mixtures (PPH-Medecine).

Interesting antimicrobial properties of the studied PPH were found on the tested germs. The results demonstrated by the inhibition index assessment, suggesting a high sensitivity of the bacteria to the agents tested. This antimicrobial activity can contribute to another strategy of healing chronic wounds and will potentially offer the possibility of using these PPH in therapeutic medicine.

Key words: Polyphénols ; medicines ; Synergistic effect ; Enterobacteria; Staphylococci; *Escherichia coli ; Staphylococcus aureus*.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة للميكروبات لمادة البوليفينول التي تم الحصول عليها من دبس التمر للأصناف "دجلة نور، ميش دجلة، غرس"، الذي يعتبره الطب التقليدي ذات تأثير علاجي كبير. ومن أجل استخدامها كبديل للأدوية في علاج الجروح المزمنة.

تم اختبار مادة البوليفينول لمستخلصات الدبس على أربع متعضيات دقيقة مسببة للجروح المزمنة: بكتيريا معوية، الاشريكية القولونية، المكورات العنقودية ذات التخثر السالب والعنقودية الذهبية، بالمقارنة مع التأثير المضاد للميكروبات للأدوية (سبتدين جلدي 10 %، سلفاديازين1 %، جنتاميسين 80 مغ وأموكلان 1 غ / 125 مغ) والتأثير التآزري لكليهما (بوليفينول- دواء).

لوحظت خصائص مضادة للميكروبات مثيرة للاهتمام للبوليفينولات المدروسة على الجراثيم المختبرة. تم توضيح النتائج المتحصل عليها من خلال تقييم مؤشر التثبيط، مما يشير إلى حساسية عالية للبكتيريا للمادة المختبرة. قد تساهم هذه الفعالية المضاد للميكروبات في استراتيجية جديدة لشفاء الجروح المزمنة وإمكانية إستخدام هذه البوليفينولات في الطب العلاجي.

الكلمات المفتاحية: بوليفينول؛ دواء؛ تاثير تآزري؛ بكتيريا معوية؛ المكورات العنقودية؛ الاشريكية القولونية؛ العنقودية الذهبية.

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
Chapitre 1: Généralités		
01	Structure de la peau.	**3**
02	Structure de l'épiderme.	**4**
03	Différentes types de microbiote cutané.	**8**
04	Modèle de formation d'un biofilm par *Pseudomonas aeruginosa*.	**10**
05	*Phoenix dactylifera* L.	**13**
06	Distribution géographique du palmier dattier dans le monde	**14**
07	Datte entière et coupe longitudinale (Variété Aharetan).	**15**
08	Opération de transformation des dattes.	**21**
09	Etapes de fabrication de sirop de datte.	**23**
10	Exemple d'un composé phénolique (Acide gallique).	**25**
11	Squelette de base des flavonoïdes.	**26**
Chapitre 2 : Matériel et Méthodes		
12	Aspect général des fruits de trois variétés de *P. dactyliféra* L. utilisé dans l'expérimentation.	**31**
13	Bactériés adoptées pour faire le test d'antibiose	**33**
14	Étapes d'extraction des sirops des dattes.	**34 -35**
15	Technique d'extraction des polyphénols.	**37**
16	Dilutions des PPH des sirops des dattes.	**40**
17	Application des disques.	**41**
18	Dilutions des médicaments testés	**43**

19	Observation macroscopique des colonies	**46**
20	Quelques exemples de l'effet antimicrobien des PPH du sirop de DN sur les bactéries testées.	**50**
21	Effet antimicrobien des PPH du sirop de DN sur les bactéries: *S. aureus*, *E. coli*, les SCN et les Entérobactéries	**51**
22	Quelques exemples de l'effet antimicrobien des PPH du sirop de MD sur les bactéries testées.	**52**
23	Effet antimicrobien des PPH du sirop de MD sur les bactéries: *S. aureus*, *E. coli*, les SCN et les Entérobactéries	**53**
24	Quelques exemples de l'effet antimicrobien des PPH du sirop de GH sur les bactéries testées.	**54**
25	Effet antimicrobien des PPH du sirop de GH sur les bactéries : *S. aureus*, *E. coli*, SCN et Entérobactéries	**55**
26	Quelques exemples de l'effet des médicaments utilisés sur les bactéries testés.	**56**
27	Effet antimicrobien des médicaments (antiseptiques et antibiotiques) sur les bactéries : *S. aureus*, *E. coli*, SCN et Entérobactéries	**57**
28	Effet synergique de PPH DN – médicaments	**59**
29	Effet synergique de PPH MD – médicaments	**60**
30	Effet synergique de PPH GH – médicaments	**62**

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
	Chapitre 1: Généralités	
I	Classification des plaies chroniques.	**5**
II	Composition biochimique des noyaux des dattes Irakiennes et Tunisiennes.	**18**
III	Caractéristiques des principales variétés de dattes en Algérie.	**19**
IV	Composition biochimique des quelque sirops des variétés des dattes « Deglat-Nour, Mech-deglat, Ghars » commercialisées à la wilaya de Biskra.	**24**
	Chapitre 2 : Matériel et Méthodes	
V	Principales caractéristiques distinctives des bactéries utilisées.	**32**
VI	Purification des micro-organismes sélectionnés.	**38**
VII	Concentrations des dilutions des PPH utilisées dans l'examen de l'activité antimicrobienne.	**40**
VIII	Concentrations des médicaments utilisées dans l'examen de l'activité antimicrobienne.	**43**
	Chapitre 3 : Résultats et discutions	
IX	Caractéristiques macroscopiques des colonies des bactéries testées.	**47**
X	Caractéristiques microscopiques des bactéries étudiées.	**48**

XI	Activité antimicrobienne des PPH du sirop de DN	**51**
XII	Activité antimicrobienne des PPH du sirop de MD	**53**
XIII	Activité antimicrobienne des PPH du sirop de GH	**55**
XIV	Activité antimicrobienne du traitement par médicaments (antiseptiques et antibiotiques) sur les bactéries testées	**57**
XV	Effet synergique de PPH DN – médicaments	**58**
XVI	Effet synergique de PPH MD – médicaments	**60**
XVII	Effet synergique de PPH GH – médicaments	**61**
XVIII	Effet antibactérien des différents traitements effectués sur les bactéries testées.	**63**

Liste des Abréviations et Nomenclatures

- **AMC:** Amoxicilline/acide clavulanique (Amoclan).
- **C :** Concentration.
- **C_n :** carbone numéro n.
- **C1 :** Chlore.
- **Da :** Dalton.
- **DN:** Deglet Nour.
- **DO :** Densité Optique.
- **EDTA :** Acide ethylène diamine tétraacétique.
- **Fig :** Figure.
- **g :** gramme.
- **GM :** Gentamicine.
- **GN :** Gélose nutritive.
- **GH :** Ghars.
- **h :** heure.
- **H_2O** : Eau.
- **H_2O_2 :** Eau oxygéné.
- **Ii :** Indice d'inhibition.
- **IPGRI :** Institut international des ressources phytogénétiques.
- **Kg :** kilogramme.
- **L. :** Linné.
- **LDL :** lipoprotéine de basse densité.
- **MD :** Mech Degla.
- **mg :** milligramme.
- **min :** minute.
- **mm :** millimètre.
- **ml :** millilitre.
- **MSA:** Mannitol salt agar.
- **n° :** numéro.
- **nm :** Nanomètre.
- **OH :** Fonctions hydroxyles
- **pH :** Potentiel hydrogène.
- **PPH:** Polyphénols.
- **PVI:** Polyvidone iodée.
- **R :** Rendement.
- **ROS :** Espèce réactive de l'oxygène.
- **SAG :** Sulfadiazine argentique.
- **SCN :** Staphylocoque à coagulase négatif.
- **UFC :** Unité formant colonie.
- **v :** volume.
- **VRBG:** Violet red bile glucose agar.
- **VRBL:** Violet red bile lactose agar.
- **° Brix:** degré de Brix.
- **°C :** degré Celsius.
- **% :** pourcentage.

Table de matière

Introduction…….....1

Chapitre 01 : Généralité

1.1. Les plaies chroniques.....3
1.1.1. La peau.....3
a. L'épiderme.....3
b. Le derme.....4
c. L'hypoderme.....4
1.1.2. Définition et classification des plaies chroniques.....5
1.1.3. Diagnostic des plaies chroniques.....6
1.2. Le microbiote cutané.....6
1.2.1. Définition du microbiote.....6
1.2.2. Microbiote cutané.....6
1.2.3. Types de microbiote cutané.....7
a. Flore cutanée résidente.....7
b. Flore transitaire.....7
1.2.4. Biofilm.....9
1.2.4.1. Définition.....9
1.2.4.2. Etapes de formation d'un biofilm.....9
1.2.4.3. Biofilm et santé.....11
1.2.4.4. Biofilm et plaie chronique.....11
1.3. Cicatrisation des plaies.....11
1.3.1. Etapes de cicatrisation.....11
a. Étape de détersion.....11
b. Étape de granulation.....12
c. Étape d'épithélialisation.....12
1.3.2. Facteurs de retard de cicatrisation.....12
1.4. Le palmier dattier.....12
1.4.1. Description botanique.....12

1.4.2. Classification de *Phoenix dactylifera* L. 12
1.4.3. Répartition géographique du palmier dattier 13
1.4.3.1. Répartition dans le monde 13
1.4.3.2. Répartition en Algérie 14
1.4.4. Fruit du palmier dattier 14
1.4.4.1. Définition 14
1.4.4.2. Stades de maturation 15
1.4.4.3. Compositions biochimiques 16
a. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe" 16
b. Composition biochimique de la partie non comestible "Noyau " 17
1.4.4.4. Classification agro-alimentaire des dattes 18
1.4.5. Principales cultivas des dattes en Algérie 18
1.4.6. Technologie de transformation des dattes 20
1.4.6.1. Transformation direct 20
1.4.6.2. Transformation indirect 20
1.5. Le sirop de datte 21
1.5.1. Définition 21
1.5.2. Méthodes d'élaboration du sirop de dattes 22
1.5.2.1. Procédé par pressurage (méthode traditionnelle) 22
1.5.2.2. Procédé par trempage dans l'eau à basse température 22
1.5.2.3. Procédé par trempage dans l'eau à haute température 22
1.5.2.4. Extraction avec enzymes (cellulase et pectinase) 22
1.5.2.5. Extraction par diffusion 22
1.5.3. Valeur nutritionnelle du sirop de dattes 23
1.5.4. Utilisations du sirop de datte 24
1.6. Les composés phénoliques 25
1.6.1. Définition 25
1.6.2. Classification 25
1.6.2.1. Phénols simples 26
1.6.2.2. Acides phénols 26
a. Acides hydroxybenzoïques 26
b. Acides hydroxycinnamiques 26
1.6.2.3. Flavonoïdes 26
a. Flavonones 27

b. Flavones.....27
c. Flavonols 27
d. Flavanols 27
e. Anthocyanes 27
1.6.2.4. Tanins 27
a. Tanins hydrolysables.....27
b. Tanins condensés 27
1.6.3. Rôles des phénols.....28
1.6.3.1. Activité antioxydant 28
1.6.3.2. Activité antimicrobienne 28
1.6.4. Mécanisme d'action antimicrobien des phénols.....28
1.6.4.1. Pénétration des composés phénoliques jusqu'au cytoplasme.....29
a. Acidification du cytoplasme 29
b. Perturbation du métabolisme 29
1.6.4.2. Effets indirects des composés phénoliques.....29
a. Chélation des métaux 29
b. Atténuation de la virulence bactérienne 29
1.6.5. Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques.....29

Chapitre 02 : Matériel et Méthodes

2.1. Matériels utilisés.....31
2.1.1. Matériels biologiques.....31
2.1.1.1. Choix des variétés des dattes 31
2.1.1.2. Souches microbiennes 31
2.1.2. Réactifs chimiques, milieux de cultures et appareillage 33
2.2. Méthodes.....34
2.2.1. Étapes d'extraction des sirops des dattes 34
2.2.2. Extraction des polyphénols.....36
2.2.2.1. Technique d'extraction.....36
2.2.2.2. Calcul de rendement.....38
2.2.3. Repiquage et confirmation des micro-organismes apportés.....38
a. Purification 38
b. Tests de confirmation.....39

b1.Examen à l'état frais 39
b2.Coloration de Gram.....39
b3.Test de catalase 39
b4.Test de coagulase 39
2.2.4. Test de l'activité antimicrobienne des polyphénols.....39
2.2.4.1. Détermination l'indice d'inhibition (Ii) 40
a. Préparation des dilutions de polyphénols 40
b. Préparation des suspensions bactériennes 41
c. Quantité d'inoculum utilisé 41
d. Application de la technique des disques 41
e. Antibiogramme 41
e.1. Médicaments testés (antibiotiques et antiseptiques).....42
e.2. Préparation des dilutions des médicaments 43
e.3. Recherche d'effet synergique entre les polyphénols et médicaments utilisés ...44
e.4. Application des disques 44
f. Incubation.....44
g. Lecture.....44
2.2.4.2. Traitement statistique des données.....45

Chapitre 03 : Résultats et discutions

3.1. Evaluation du rendement quantitatif en polyphénols 46
3.2. Examens appliqués aux germes (Tests de confirmation).....46
3.2.1. Examens macroscopiques.....46
3.2.2. Examen microscopique 47
3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols 48
3.3.1. Effet antibactérien des PPH extrait du sirop de DN 49
3.3.2. Effet antibactérien des PPH extrait du sirop de MD.....51
3.3.3. Effet antibactérien des PPH extrait du sirop de GH 54
3.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne des médicaments (antiseptiques et antibiotiques) et ses effets synergique avec polyphénols sur les bactéries utilisées 56
3.4.1. Effet antimicrobien des médicaments (antiseptiques et antibiotiques).....56
3.4.2. Effets synergique (polyphénols – médicaments) sur les bactéries utilisées.....58
a. Effet synergique de l'extrait phénolique du sirop de la variété DN - médicaments.....58

b. Effet synergique de l'extrait phénolique du sirop de la variété MD - médicaments 59
c. Effet synergique de l'extrait phénolique du sirop de la variété GH - médicaments… .61
3.4.3. Effet antibactérien des différents traitements 62

Conclusion et perspectives…….....64
Références bibliographiques
Annexes

Introduction

Introduction

Le palmier dattier "***Phoenix dactylifera* L.**" constitue la récolte centrale et choix adapté dans les zones arides et semi-arides du globe. Il constitue l'aliment principal des habitants et des animaux, un kg de dattes peut offrir environ 3,000 calories; les dattes sont la source du revenu économique pour les populations sahariennes du Moyen-Orient et de l'Afrique [1].

L'économie de ces régions repose principalement sur la culture des palmiers dattiers et l'utilisation de leurs fruits pour préparer des pâtes comme le (Btana), des farines, des sirops, des vinaigres, des confiseries, des levures et du bioéthanol [1].

Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entrainement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique sans chauffage. Leurs constituants sont principalement des mono-terpènes et des sesquiterpènes, les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des phénols et des oxydes [2]. Ces huiles ont une activité biologique et thérapeutique aussi variée, par exemple les activités antivirales, anti-inflammatoires**.**

Des études récent ont démontrés que **les polyphénols** présents dans les espèces végétal sont les responsables à ses activités antioxydants et antimicrobienne, et par conséquent, dans les dattes et ces dérivées comme le sirop de la datte.

Le sirop de dattes est un produit de haute valeur nutritionnelle, il est riche en glucides, sels minéraux, vitamines et antioxydants, qui sont considérés comme bénéfiques pour la santé humaine [3], son utilisation dans le domaine thérapeutique tel que la cicatrisation des plaies, comme les plaies chroniques, c'est une question qui propose maintenant.

Toutes les plaies cutanées sont colonisées par plusieurs types de bactérie. Ils sont attribuables à une dégénérescence graduelle et guérissent donc plus lentement. Elles s'opposent aux plaies aiguës causées par un agent extérieur (mécanique ou chimique) qui surviennent de façon rapide, par exemple, une plaie d'origine traumatique peut toutefois s'agir d'une plaie chronique en raison du processus pathologique sous-jacent local (varices) ou général (diabète ou autres maladies concomitantes) [4].

Cette problématique, plaie chronique, due car le choix des médicaments est alors très limités pour traiter une infection, aussi la multirésistance aux antibiotiques peut rendre le traitement plus difficile. Les médicaments ont des effets indésirables, ils sont d'incidence et de gravité variantes selon les caractéristiques des patient (âge, sexe, origine ethnique, pathologies

associées, facteurs génétique ou géographique,…) et selon les caractéristiques du médicament (classe médicamenteuse, voie d'administration, durée du traitement, posologie, biodisponibilité). Ces effets indésirables se produisent lors de 10 à 20% des hospitalisations, où environ 10 à 20% de ces réactions sont sévère [5].

Les antibiotiques sont des médicaments utilisés pour traiter les infections bactériennes, ils sont inefficaces contre les infections virales et la plupart des autres infections. Les bactéries, comme tous les organismes vivants, se modifient avec le temps en repense aux pressions sélectives de l'environnement. En raison de l'utilisation large et inappropriée des antibiotiques, et en plus de développement d'une antibiorésistance chez les bactéries [6], la réduction de capacité de système immunitaire, l'altération des mitochondries et des cellules épithéliales humaines, et des effets secondaires chez les personnes peuvent survenir [7]. Les effets indésirables fréquents des antibiotiques sont : réactions allergiques (éruption prurigineuse, choc anaphylatique,...), troubles gastriques, diarrhée, infections vaginales à levures chez les femmes [6].

Dans ce contexte, ce travail comprendra trois parties :

- **La première :** théorique, est concernée à une étude bibliographique sur les plaies chroniques et le microbiote cutanée ; sur *Phoenix dactylifera* L., dattes et extraction de ses sirops ; sur les polyphénols, compositions et propriétés.

- **La seconde :** pratique, a été menée pour évaluer l'activité antibactérienne des polyphénols des sirops de trois variétés de *P. dactyliféra* L. (Deglet-Nour, Mech-Degle, Ghars) sur les : Staphylocoques (SCN et *Staphylococcus aureus*) et des Entérobactéries (*Escherichia coli* et autres), dont le but est de détecté ses effets inhibitrices en les comparant avec l'effet antagoniste des médicaments choisis, selon les différentes concentrations appliquées de ces polyphénols, et l'estimation de l'effet synergique de la concentration des polyphénols du meilleur efficacité, sur chaque bactérie, en combinaison avec les médicaments appliqués.

- **La troisième partie**, concernant les résultats et leurs discussions. En fin, une conclusion générale résumera les différents résultats obtenus et les perspectives ont envisagées.

Chapitre 01 :

Généralité

1.1. Les plaies chroniques

1.1.1. La peau

La peau est le plus large organe du corps, elle peut peser jusqu'à 5kg. C'est la première ligne de défense vis-à-vis de l'environnement externe et ce qu'il représente comme défis physiques, chimiques et biologiques. Elle est constituée de 3 couches cellulaires bien distinctes (Fig 01) et ayant des fonctions bien déterminées. L'épiderme est la couche superficielle, suivie du derme qui est la couche intermédiaire et enfin l'hypoderme qui constitue la couche profonde [8].

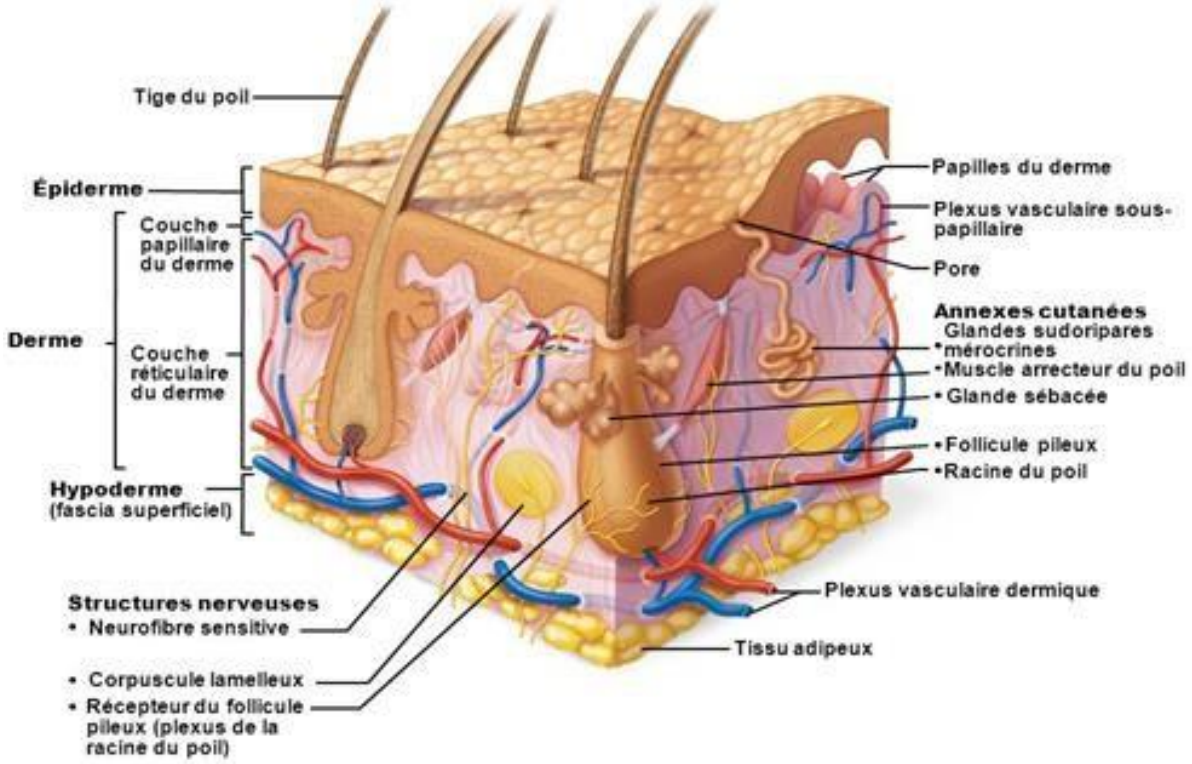


Figure 01 : Structure de la peau [9].

a. L'épiderme

Elle est composée majoritairement de kératinocytes, qui forment un épithélium stratifié et kératinisé dans lequel on retrouve quatre couches distinctes : le stratum basale, le stratum spinosum, le stratum granulosum et le stratum corneum (Fig 02) [9].

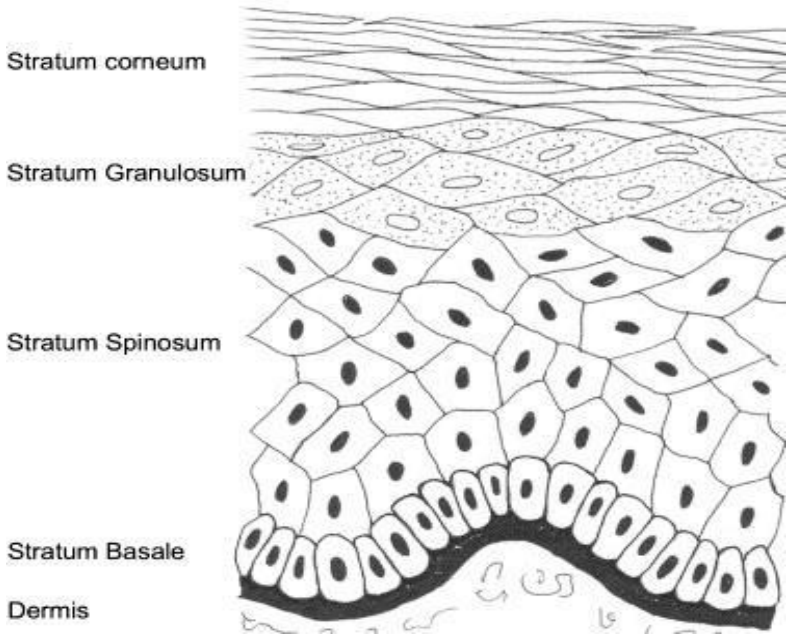


Figure 02 : Structure de l'épiderme [9].

b. Le derme

Il est la couche de tissu conjonctif localisée juste au-dessous de l'épiderme. Cette zone peut elle-même être divisée en deux autres couches, le derme papillaire et lederme réticulaire (Fig 01). Le derme papillaire est situé directement en dessous de la membrane basale qui sépare le derme de l'épiderme, Il tire son nom dû au fait que sa surface forme des saillies qui s'imbriquent entre les prolongements de l'épiderme. Il est richement vascularisé et innervé. Il possède aussi une matrice plus lâche alors que le derme réticulaire, qui est situé plus profondément et qui est en contact avec l'hypoderme. Le derme est constituer le lieu de résidence temporaire ou permanent de nombreuses cellules immunitaires [9].

c. L'hypoderme

Il est localisé juste en dessousdu derme (Fig 01), reliant celui-ci à la membrane fibro-élastique qui recouvre les muscleset les os (le fascia). L'hypoderme est composé de tissus conjonctifs aréolaires et de tissus adipeuxrichement vascularisés [9].

La peau est vascularisée et possède deux plexus de vaisseaux sanguins, dont l'un est dermique et l'autre sous-papillaire. Cet organe est également innervé par des fibres sensorielles ayant des extrémités libres ou couplées à un mécanorécepteur. D'autres structures sont également annexées à la peau comme les poils, les glandes sébacées et les glandessudoripares [9].

La peau exerce également des fonctions importantes au niveau immunitaire , constituant une première ligne de défense contre les pathogènes et participant à l'établissement de la tolérance immunitaire, qui permet de ne pas répondre agressivement à des antigènes inoffensifs. Elle permet aussi de conserver la température corporelle, de percevoir l'environnement par l'intermédiaire de la sensation du toucher et de détecter les dangers potentiels grâce à la perception de la douleur [9].

1.1.2. Définition et classification des plaies chroniques

Une plaie chronique se définie comme une plaie dont le délai de cicatrisation est allongé [2]. Elle est considérée comme chronique après quatre à six semaines d'évolution, selon son étiologie. Les causes de plaie chronique incluent notamment les ulcères de jambe, les escarres, les plaies du diabétique et les moignons d'amputation [10]. Les plaies chroniques sont pratiquement toujours colonisées par des bactéries dont la présence ne signe pas pour autant l'infection [11]. On peut classer des plaies chroniques selon le tableau I.

Tableau I : Classification des plaies chroniques [8].

Plaie chirurgicale	**Plaie non chirurgicale**
Désunion des sutures, éventration, infection.	contexte d'un processus pathologique local ou général : - Ulcère variqueux. - Ulcère artériel. - Ulcère mixte. - Ulcère diabétique. - -Ulcère de pression (escarre de décubitus). - Ulcère néoplasique.

1.1.3. Diagnostic des plaies chroniques

Le diagnostic est à l'heure actuelle essentiellement clinique. Des signes plus subjectifs peuvent être une modification de la coloration de la plaie, la friabilité du tissu de granulation, le retard de cicatrisation, la douleur, l'odeur nauséabonde et la dégradation rapide de la plaie.

La radiographie standard est un examen utile et facilement accessible pour le diagnostic d'ostéite sur plaie de contiguïté. Pouvant être faussement négative pour les ostéites débutantes ou corticales.

La microbiologie en soi ne pose pas le diagnostic de la présence ou absence d'une infection, mais il est surtout un outil aidant le clinicien à adapter son antibiothérapie. Un prélèvement ne doit être réalisé que si l'on suspecte une infection de la plaie (écouvillon simple, curetage-écouvillonnage, biopsie profonde, aspiration à l'aiguille, biopsie osseuse, hémocultures) [11].

1.2. Le microbiote cutané

1.2.1. Définition du microbiote

Le microbiote humain est défini comme les groupes de micro-organismes présents dans un tissu, qu'ils soient commensaux ou symbiotiques, pathogènes facultatifs ou obligatoires : bactéries, virus, parasites et espèces fungiques [8]. Les bactéries sont prédominant dans le corps humain et sont également appelées commensales ou flore normale pour les distinguer des bactéries pathogènes, qu'ils envahissent l'hôte en endommageant les organes par leur capacité unique à sécréter des toxines, à se multiplier dans les cellules de l'hôte et à induire une inflammation [12]. On distingue le microbiote des voies respiratoires (bouche, pharynx et poumons), celui du tractus digestif (estomac et intestin), celui de l'appareil urogénital et enfin celui de la peau [8].

1.2.2. Microbiote cutané

Le microbiote cutané également appelé **flore cutanée**, elle se situe au niveau de l'épiderme, et en quantité plus dérisoire au niveau du derme [13]. La peau d'un adulte héberge en moyenne 1000 milliards de bactéries, 1000 espèces de champignons, virus et arthropodes, le microbiote de la peau varie de manière quantitative et qualitative d'une personne à l'autre selon l'âge, le sexe, le siège, le système immunitaire et certains facteurs physico- chimiques tels que l'humidité, le pH et la température [8].

1.2.3. Types de microbiote cutané

On distingue deux types de microbiote cutané:

a. Flore cutanée résidente : est constituée de germes commensaux, qui colonisent l'organisme sans provoquer de maladie. La composition et la répartition de cette flore est relativement stable. Il est dominé par les espèces Gram + avec deux familles principales : les staphylocoques et les bactéries coryneformes aérobies (*Corynebacterium* spp.) et anaérobies (*Propionibacterium* spp.). Les staphylocoques à coagulase négative représentent les espèces les plus fréquemment trouvées dans la flore cutanée normale (Fig 03).

b. Flore transitaire : est composée de champignons, virus et bactéries pour la plupart saprophytes. Ce sont des germes inoffensifs qui se nourrissent de matières organiques en décomposition provenant de l'environnement, peut aussi être constituée de bactéries pathogènes opportunistes pouvant entraîner une maladie si les défenses de l'hôte viennent à défaillir [8] (Fig 03).

Flore résidente	Germe		
	Bactéries	Cocci Gram positif	Staphylocoques à coagulase négative - *S. epidermidis* - *S. hominis* - *S. haemolyticus*
		Germes corynébactériformes	- Corynebactéries - *Brevibacterium* - Propionibactéries - Micrococques
		Bactéries Gram négatif	- *Acinetobacter*
	Parasites	Acariens	- *Demodex*
	Levures		- *Malassezia*
	Virus		- Papillomavirus humains
Flore transitaire	Bactéries		- *Staphylococcus aureus* - Streptocoques - *Bacillus* - *Neisseiria*
		Bacilles Gram négatif	- *Pseudomonas*
	Levures		- *Candida albicans* - *Candida parapsilopsis*

Figure 03 : Différentes types de microbiote cutané [8].

1.2.4. Biofilm

1.2.4.1. Définition

La plupart des micro-organismes favorisent un mode de vie où la population bactérienne se trouve fixée sur un support (état sessile) et enrobée d'une matrice d'exo-polysaccharide, plutôt que libre et isolée dans le milieu environnemental (état planctonique). L'état planctonique pourrait se réduire au passage de la bactérie d'une surface à un autre. Après attachement sur un support, les bactéries vont mettre en place et développer une communauté organisée à laquelle **William Costerton** a donné le nom de « biofilm » [14].

Les biofilms sont définis comme des agrégats organisés de micro-organismes, pouvant contenir jusqu'à 100 millions (10^8) à 10 milliards (10^{10}) cellules par gramme de matière déshydratée [15]. Le biofilm est une « stratégie de survie » qui permet à la bactérie de s'installer et de coloniser un environnement.

À l'état naturel les biofilms sont des communautés bactériennes au sein desquelles on peut trouver de nombreuses espèces différentes. Au sein du biofilm, les microcolonies sont séparées par des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant, d'une part, d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfouies du biofilm, et, d'autre part, d'évacuer les déchets. Le matériel soluble peut diffuser à travers la matrice d'exopolysaccharide et être utilisé par les bactéries. Un gradient de nutriments et d'oxygène est observable depuis le sommet du biofilm jusqu'à sa base où l'on a un micro-environnement anaérobie [14].

1.2.4.2. Etapes de formation d'un biofilm

1) **L'adhésion initiale :** permet à quelques bactéries de se fixer aux surfaces [15]; les voies métaboliques qui déclenchent la formation du biofilm, et les facteurs d'adhérence impliqués, dépendent de l'organisme concerné et de l'environnement dans lequel il forme le biofilm [14].
2) **la phase de développement (dite précoce) :** au cours de laquelle les bactéries se divisent, synthétisent et sécrètent les composants de la matrice, ce sont le plus souvent des sucres, des protéines et de l'ADN.

La matrice des biofilms est également le siège d'échanges entre bactéries, via la mise en place de réseaux de communication, ainsi, par le biais de molécules dites de « quorum sensing ». La présence de cette matrice participe à l'organisation spatiale des bactéries au sein du biofilm, assure la stabilité du complexe, permet la mise en place de canaux internes

permettant la circulation des fluides, joue également le rôle d'interface avec le milieu extérieur et assure donc une fonction protectrice, mais également des fonctions nutritives, en tant que source d'eau, lieu de rétention de nutriments (calcium, fer,…) et siège d'activités enzymatiques extracellulaires.

3) **Maturation :** permet le développement d'une structure tridimensionnelle avec mise en place d'un environnement hétérogène, dans lequel, les bactéries évoluent et interagissent sous la forme de compétition ou de synergie.
4) **Dispersion :** c'est l'étape ultime avec détachement d'un certain nombre de bactéries du biofilm isolées, ou sous forme de microagrégats, susceptibles de coloniser d'autres surfaces [15].

Récemment, il a été proposé que la formation des pili conjugatifs était également un facteur déterminant pour la formation du biofilm proprement dit, le transfert horizontal de gènes est favorisé et les bactéries échangent leur matériel génétique à des fréquences très élevées [14].

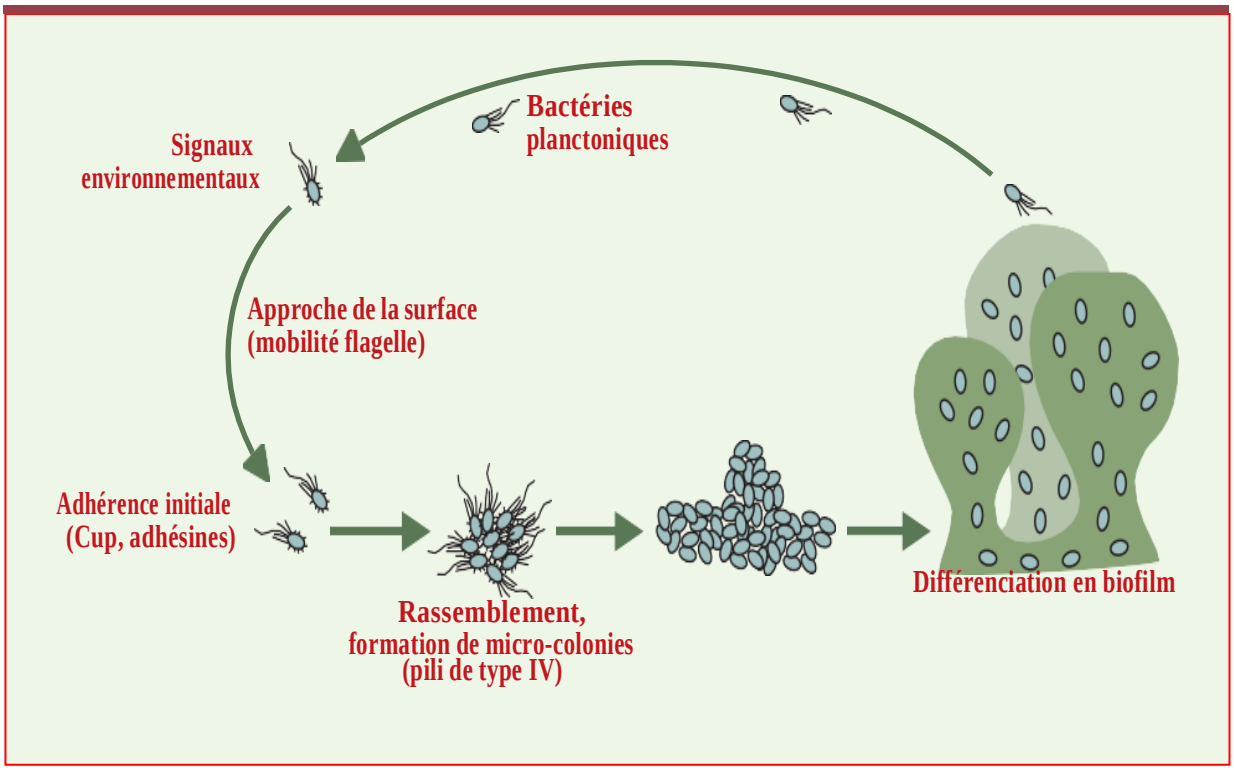


Figure 04 : Modèle de formation d'un biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* [14].

1.2.4.3. Biofilm et santé

Depuis quelques années, il est apparu que l'importance des biofilm dans le milieu médical est capitale, puisque 65 % des infections bactériennes chez l'homme impliquent des biofilms [14], ce qui favorise la survenue des formes chroniques et entraine des difficultés de traitement [15]. Les biofilms peuvent se former au niveau de cathéters ou d'implants (valves cardiaques, hanches artificielles) et attaquer des tissus corporels comme les dents, les yeux, les poumons, les oreilles ou le tractus urogénital. On peut citer des biofilms des bactéries à Gram positif, comme *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus epidermidis*, et des bactéries à Gram négatif comme *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* ou *P. aeruginosa* [14].

1.2.4.4. Biofilm et plaie chronique

Les biofilms étaient présents dans 60 % des prélèvements biopsiques de plaies chroniques, mais dans seulement 6 % de ceux de plaies aiguës. Les plaies chroniques sont souvent recouvertes de biofilms bactériens qui tolèrent très bien les cellules inflammatoires et les anticorps, ainsi que les antibiotiques, les antiseptiques et les désinfectants.

Ils causent un problème dans le domaine du soin des plaies:

• Le biofilm retarde l'épithélialisation de la plaie et prolonge la présence de sa source de nutriments « l'exsudat de l'hôte ».

• Il augmente la production de cytokines pro-inflammatoires, ce qui entraîne une inflammation chronique et une augmentation de la production de protéases et d'espèces réactives de l'oxygène.

• Les protéases et les espèces réactives de l'oxygène détruisent les protéines qui sont essentielles à la cicatrisation [16].

1.3. Cicatrisation des plaies

La guérison des plaies cutanées est un processus complexe et finement régulé dans le temps, permettant à la peau de se régénérer rapidement à la suite d'une lésion afin de recouvrer sa fonction de barrière [9].

1.3.1. Etapes de cicatrisation

Quelle que soit leur cause, toutes les plaies passent par des stades de cicatrisation qui pouvant être divisés en trois étapes :

a. Étape de détersion

Lors de l'étape initiale de cicatrisation, la plaie tente de se nettoyer des impuretés. Un exsudat de plaie est souvent présent et des signes d'infection peuvent apparaître (rougeur,

tuméfaction, douleur, chaleur, fonction altérée). Des soins localisés sur la plaie servent à soutenir ces processus et à accélérer le nettoyage [17].

b. Étape de granulation

Une plaie creuse se remplit de nouveaux tissus et les taux d'exsudat chutent [17]. Environ 4 jours après la blessure, le tissu de granulation commence à se former. Il est constitué d'une matrice extracellulaire lâche fournissant un support à la migration des cellules et dans lequel de nombreux capillaires se forment, lui donnant un aspect granuleux [9].

c. Étape d'épithélialisation

Les berges de la plaie se rapprochent, la surface de la plaie se couvre de cellules épithéliales et la fermeture de la plaie peut s'achever. Durant cette étape, les taux d'exsudat peuvent être minimaux ou nuls et il faut prendre soin des fragiles cellules épithéliales [17].

1.3.2. Facteurs de retard de cicatrisation

Des facteurs ralentissent ou inhibent la cicatrisation tels qu'une hypoxie tissulaire durable, des nécroses, des infections, une malnutrition, un trouble de l'équilibre hydrique, un excès de protéases et un déficit en facteurs de croissance [18], une insuffisance veineuse chronique, un artériopathie oblitérant des membres inférieurs, un état métabolique diabétique ou une pression chronique [18], l'âge et l'état physiologique de patient [4].

1.4. Le palmier dattier

1.4.1. Description botanique

Le botanique du palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L. (Fig 05), est dérivé du nom phénicien « Phoenix » qui signifie palmier dattier, et « dactylifera » est dérivé d'un mot Grec «daktulos » qui signifie doigt, illustrant la forme du fruit. Au niveau de la taxonomie, le palmier dattier est une plante de grande taille, monocotylédone, spadiciflore appartenant à la famille des palmaceae, Sous famille des coryphoideae, le genre ***Phoenix*** et l'espèce ***dactylifera*** [19]. Il constitue l'armature de l'écosystème oasien des régions sahariennes, il représente également une production agricole importante des régions arides et semi arides [1].

1.4.2. Classification de *Phoenix dactylifera* L.

Le palmier dattier appartient à la famille d'Arecaceae (Palmaceae) qui comprend 200 genres. Le genre *Phoenix* comporte au moins douze espèces, la plus connue est l'espèce *Phoenix dactylifera* L. [20]. La classification du palmier dattier dans le règne végétal est comme suit:

Règne: Plantae
Sous-règne: Tracheobionta
Division: Magnoliophyta
Classe: Liliopsida
Sous-classe: Arecidae
Ordre: Arecales
Famille: Arecaceae
Genre: *Phoenix*
Espèce: *Phoenix dactylifera* L. [20].



Figure 05 : *Phoenix dactylifera* L.

1.4.3. Répartition géographique du palmier dattier

1.4.3.1. Répartition dans le monde

La datte est l'un des fruits les plus importants dans le monde et spécialement dans les pays islamiques qui consomment beaucoup de dattes surtout au mois de Ramadan [20]. Le Palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen-Orient. L'Espagne est l'unique pays européen producteur de dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche. À l'Etats-Unis d'Amérique, le Palmier Dattier fût introduit au 18éme, sa culture n'a débutée réellement que vers les années 1900 avec l'importation des variétés irakiennes. Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie [21]. 70% de la production des dattes dans le monde est produite par l'Egypte, l'Iraq, l'Arabie Saoudite, Iran, Pakistan et l'Algérie [20].

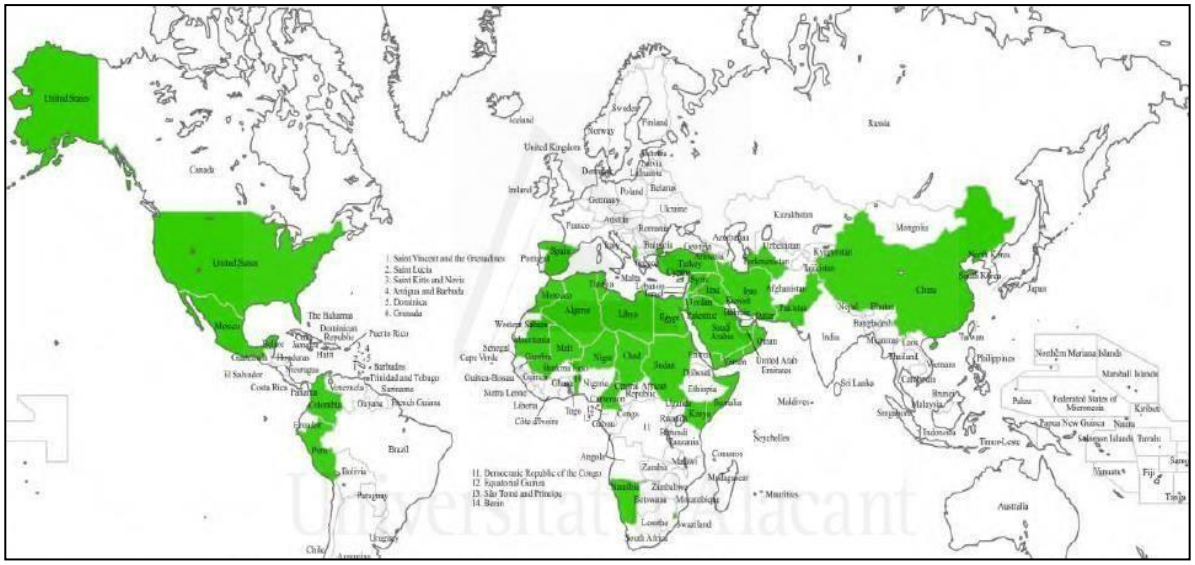


Figure 06: Distribution géographique du palmier dattier dans le monde (en vert) [21].

1.4.3.2. Répartition en Algérie

L'Algérie est un pays phoenicicole, classé au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de culture avec 160 000 ha, plus de 2 millions de jardins et production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes.

Le palmier dattier en Algérie est établi en plusieurs oasis réparties sur le Sud du pays où le climat est chaud et sec (zone saharienne). Sa culture s'étend depuis la frontière Marocaine à l'ouest jusqu'à la frontière tuniso-lybienne à l'est, et depuis l'Atlas Saharien au nord jusqu'à Reggane (sud-ouest), Tamanrasset (centre) et Djanet (sud-est) [22]. Les Principales régions productrices (wilayates) sont : Biskra (31% de production national), El Oued (27%) et Ouargla (19%) [23].

1.4.4. Fruit du palmier dattier

1.4.4.1. Définition

La datte, fruit du palmier dattier, est une baie généralement de forme allongée, oblongue ou arrondie, avec des dimensions très variables, de 2 à 8cm de longueur et d'un poids de 2 à 8g selon les variétés. Les dattes se présentent en différentes couleurs selon le stade de maturation et le type variétal [1], elles varient du blanc jaunâtre au noir [19] en passant par les couleurs ambres, rouges, brunes plus ou moins foncées [24]. Cette fruit contient un seul grain appelé noyau et la partie comestible appelé chair ou pulpe [1] (Fig 07).

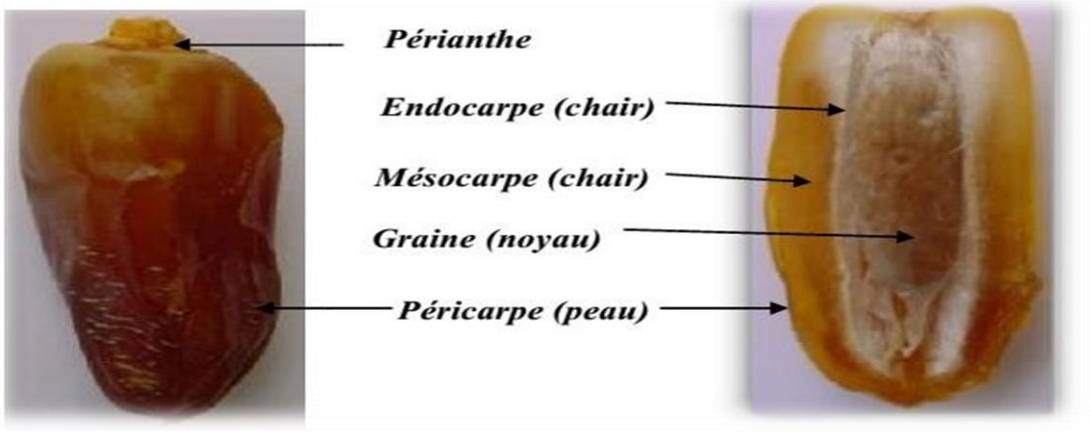


Figure 07: Datte entière (à gauche) et coupe longitudinale (à droite) (Variété Aharetan) [1].

Le noyau est la partie non comestible, ayant une consistance dure et présente 7 à 30 % du poids de la datte. Il est composé d'un albumen blanc, dur et corné, protégé par une enveloppe cellulosique [24].

La pulpe est constituée de (Fig 07):

- Péricarpe : un enveloppe cellulosique fine dénommée « peau ».
- Mésocarpe : il est généralement charnu, de consistance variable selon sa teneur en sucre et de couleur soutenue.
- Endocarpe : il est de teinte plus claire et de texture fibreuse, parfois réduit à une membrane parcheminée entourant le noyau [1].

1.4.4.2. Stades de maturation

La datte à cinq stades de maturation phénologique, sont:

1. **Stade Khalal :** C'est le stade qui suit immédiatement la pollinisation. La datte a une forme sphérique, de couleur crème. L'évolution du fruit est très lente. Ce stade dure 4 à 5 semaines après la pollinisation.
2. **Stade Blah :** La datte commence son développement, grossit et prend une teinte verte (vert pomme).Ce stade s'étend de juin à juillet, il constitue la phase la plus longue de l'évolution de la datte, et dure 4-7 semaines.
3. **Stade Bser :** Selon le descripteur du palmier dattier (IPIGRI), c'est le stade de développement de la datte durant lequel le fruit prend sa forme et sa taille finale, il passe de sa couleur verte à une couleur généralement jaune ou rouge, rarement verdâtre. La période de ce stade dure de trois à cinq semaines.

4. **Stade Rotab :** La datte passe du stade Bser à ce stade par l'apparition progressive de points d'amollissement. En général, ce changement de texture commence par la partie supérieure du fruit, puis il y a une homogénéisation de la couleur et de la texture.
5. **Stade Tmar ou Tamr :** C'est le stade final de maturation de la datte. La consistance du fruit à ce stade est comparable à celle du raisin et des prunes. Dans la plupart des variétés, la peau adhère à la pulpe et se ride à mesure que celle-ci diminue de volume [24].

1.4.4.3. Compositions biochimiques

La datte se compose essentiellement d'eau, de sucres réducteurs « glucose et fructose » et de sucres non réducteurs, « saccharose ». Les constituants non glucidiques représentent les protides, les lipides, la cellulose, les cendres (sels minéraux), les vitamines et les enzymes [25].

a. Composition biochimique de la partie comestible "Pulpe"

- **Eau :** sa teneur est en fonction des variétés, du climat et stade de maturation (l'humidité décroît des stades verts aux stades murs). D'une manière générale, la teneur moyenne en eau des dattes varie de 10 à 40% du poids frais, ceci la classe dans les aliments à humidité intermédiaire.
- **Sucres :** sont les constituants majeurs de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement la présence de trois types de sucres : le saccharose, le glucose et le fructose. Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion, tels que : le galactose, le xylose et le sorbitol. La teneur en sucres totaux est très variable et dépend de la variété et du climat. Elle varie entre 60 et 80% du poids de la pulpe fraîche.
- **Protéines et acides aminés :** La pulpe de la datte ne contient qu'une faible quantité de protéines. Le taux diffère selon les variétés et surtout selon le stade de maturité, il est en général de l'ordre de 1.75% du poids de la pulpe. il a été montré que le pourcentage de protéines présent dans les noyaux des dattes est plus important que celui de la pulpe. Les protéines de la datte contiennent 23 acides aminés dont certains ne sont pas présents dans certains fruits comme la banane, la pomme et l'orange.
- **Matières grasses :** La pulpe de la datte contient peu de matière grasse. Celle-ci est concentrée dans la peau (2.5 - 7.5%) et joue un rôle plus physiologique que nutritionnelle. Ce rôle se traduit par la protection du fruit.

- **Fibres :** La datte est riche en fibres, elle en apporte 8.1 à 12.7% du poids sec. les constituants pariétaux de la datte sont : la pectine, la cellulose, l'hémicellulose et la lignine.
- **Eléments minéraux :** le taux de cendres est compris entre 1.10 et 3.69 % du poids sec. La datte est l'un des fruits les plus riches en éléments minéraux, essentiellement le potassium, le magnésium, le phosphore et le calcium.
- **Vitamines :** En général, la datte ne constitue pas une source importante de vitamines. La fraction vitaminique de la datte se caractérise par des teneurs appréciables de vitamine de groupe B [24], mais peu de vitamine C [21].
- **Pigments :** Les principaux identifiés dans les dattes sont : caroténoïdes, anthocyanines, flavones, flavonols, lycopènes, flavoxanthine et lutéine dans certaines variétés égyptiennes.
- **Polyphénols :** les tanins constituent plus de 3% du poids de la datte l'un de ses principaux effets intervient lors du processus de maturation par la variation de leur solubilité (texture) ; les flavones sont essentiellement impliqués dans le phénomène de brunissement enzymatique qui est responsable de la coloration de la datte au cours de la maturation.
- **Acides organiques :** Le jus de datte est légèrement acide. Il est rapporté que les dattes mûres se caractérisent par une acidité moins importante avec un pH de 5.
- **Composés volatils (Flaveur) :** sont responsables de l'arôme spécifique aux dattes, peu connus et n'ont pas fait l'objet de beaucoup de recherches [24].

b. Composition biochimique de la partie non comestible "Noyau "

Les noyaux constituent un sous-produit intéressant. Des données analytiques sur la composition chimique du noyau de dattes montrent qu'il renferme plusieurs acides gras avec une proportion plus importante d'acides oléique et laurique [24].

Tableau II : Composition biochimique des noyaux des dattes irakiennes et tunisiennes[21].

Constituant	Teneur en %	
	Dattes irakiennes	**Dattes tunisiennes**
Eau	6,46	8.6 – 9.4
Glucides	62,51	81 – 83.1
Protides	5,22	5.17 – 5.56
Lipides	8,49	10.19 – 12.67
Cellulose	16,20	/
Cendres	1,12	1.12 – 1.15

1.4.4.4. Classification agro-alimentaire des dattes

Les dattes sont classées en trois catégories d'après leur consistance. Celle-ci dépend de la teneur en eau de la pulpe. La stabilité de la datte dépend de la proportion de sucres par rapport à la teneur en eau [19].

Les rapports (sucres totaux / eau) appelés aussi indices de qualité ou de dureté permettent de connaître le degré de stabilité et d'apprécier l'aptitude à la conservation des dattes [19]. On distingue:

- **Dattes sèches :** moins de 20% d'humidité et riche en saccharose : Degla Bida, Mech-Degla…
- **Dattes demi-molles :** de 20-30% d'humidité, datte à base de saccharose par excellence : Deglet-Nour, Mehjoul, Hadrawi…
- **Dattes molles :** taux d'humidité supérieur ou égal à 30%, elles sont à base de sucre invertis (fructose, glucose) : Ghars, Bafeggous, Khastaur... [25].

1.4.5. Principales cultivas des dattes en Algérie

En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes [25], les principales variétés cultivées sont: Deglet Nour, Ghars, Mech Degla, Tafezouine, Degla Beida [23] (tableau III).

Tableau III : Caractéristiques des principales variétés de dattes en Algérie.

Variété	Caractéristiques	Aspect morphologique [26]
Deglet-Noor (doigts de lumière)	Datte demie molle [25] (teneur en eau = 22.60% [27]), de couleur marron [28] et forme ovoide [26]. Elle est considérée comme étant la meilleure variété de datte (variété commerciale par excellence), du fait de son aspect, de son onctuosité et sa saveur. Cette variété est caractérisée par une maturation échelonnée sur un même régime qui fait qu'elle se subdivise en plusieurs classes : Dattes extra (1er choix), Dattes standards, Dattes marchandes [21]. Sa saveur présente 47% de la production nationale [20].	
Ghars	Datte de consistance très molle (teneur en eau = 25.40 % [27]), à maturité complète [21] et de couleur brun [28]. C'est une variété très rustique, elle se trouve dans la plus part des palmeraies algériennes (le fruit mûr). Le rendement varie entre 60 et 70 kg/arbre [21].	
Mech-Deglat	Datte sèche (teneur en eau = 13.70 % [27]) dont la chaire est fermée et résistante [11], de couleur jaune [23]. Son rendement varie entre 50 et 60 kg/arbre [21].	

Tafezouine	Originaire du M'Zab où il est fréquent, de consistance molle, de texture fibreuse et de forme sub-cylindrique légèrement arquée. Son goût est agréable. Datte excellente de commercialisation important [26].	
Degla Beida (Degla blanche)	Il s'agit d'une datte sèche dont 80% du poids constitue la pulpe [21]. Cultivar abondant dans toutes les palmeraies du Sud-est Algérien. Variété exportée principalement vers l'Afrique (Sénégal et Mali) [26].	

1.4.6. Technologie de transformation des dattes

La technologie de la datte recouvre toutes les opérations, qui de la récolte à la commercialisation, elle a pour objet de préserver toutes les qualités de fruits et de transformer ceux qui ne sont pas consommés, ou consommables, à l'état, en divers produits, bruts ou finis, destinés à la consommation humaine ou animale et à l'industrie [19] (Fig 08).

1.4.6.1. Transformation direct

Les industries de transformation directe produisent divers produits de dattes comme la pâte de dattes, sirop, miel, sucre, la confiture, farine ou poudre de dattes, etc [28].

1.4.6.2. Transformation indirect

Ce type de transformation s'intéresse généralement aux dattes abîmées et aux dattes de faible valeur marchande [27]. Ces dattes sont appelées aussi « les dattes perdues » qui ne sont pas consommées par les humains [29], ils se transforment en : biomasse et protéines unicellulaires, alcools, vinaigre, aliments de bétail, poudre des noyaux, etc [28].

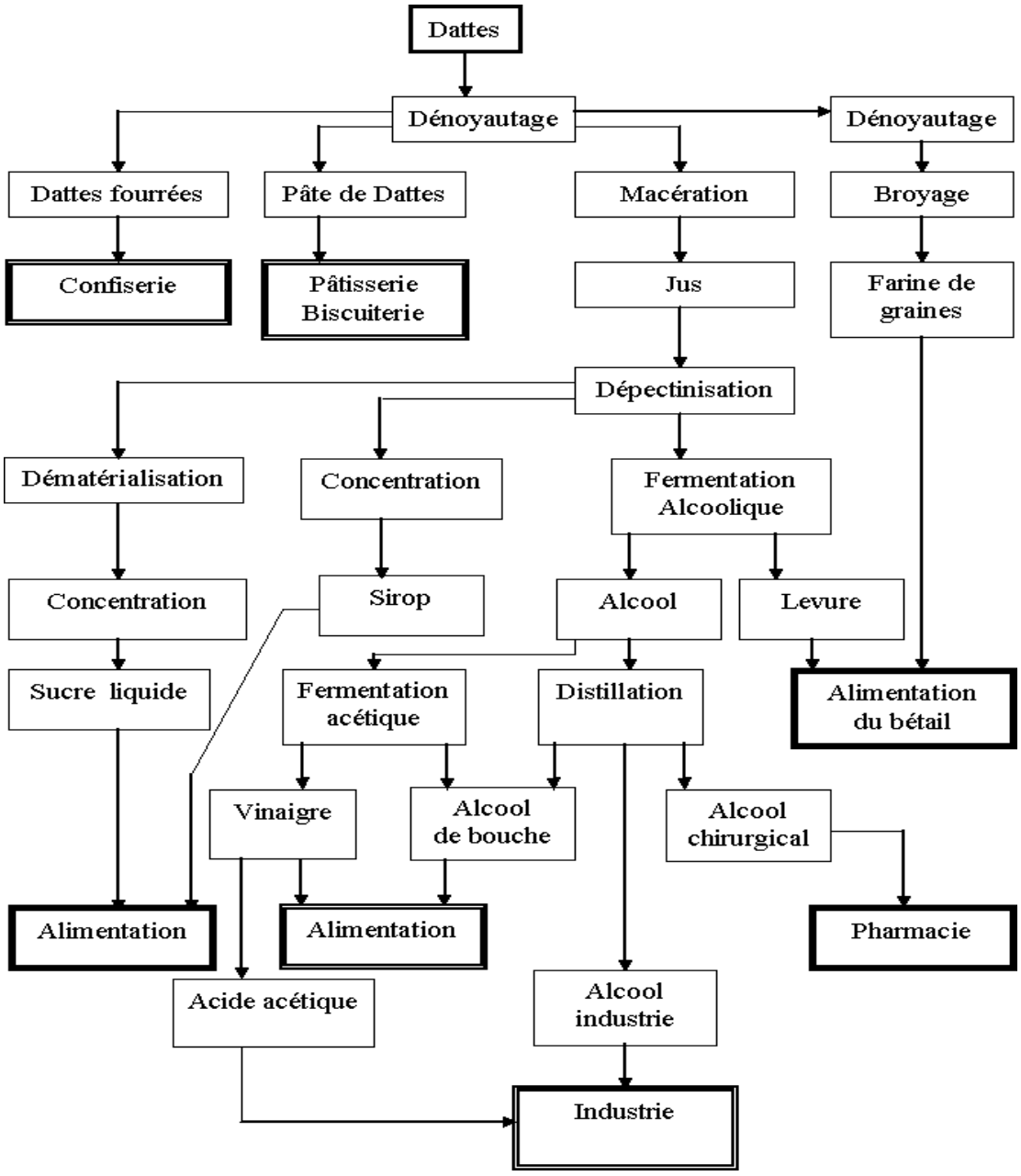


Figure 08: Opération de transformation des dattes [28].

1.5. Le sirop de datte

1.5.1. Définition

Le sirop de dattes, une denrée alimentaire de certaines variétés de dattes locales, connue localement comme «Rob AT-Tamr» (appellation impropre), ou «Dibs» dans le monde arabe [24], il est également appelé miel ou mélasse de datte [25]. Il est fabriqué à base de dattes saines car il est important d'éviter tout arrière goût de fermentation [28].

Le sirop de dattes est un produit sucré, épais, foncé de couleur marron, extrait à partir des dattes et typique de la cuisine Arabe. Son goût est plus doux que celui du sirop de saccharose,

il a une bonne saveur unique [21]. Il peut être considéré comme un sucre inverti naturellement, car il contient des proportions en glucose et fructose presque égales, et une faible quantité de saccharose, qui peut être inverti en sucres simples lors de l'extraction sous l'effet thermique et acidité du milieu [28].

1.5.2. Méthodes d'élaboration du sirop de dattes

1.5.2.1. Procédé par pressurage (méthode traditionnelle)

Le principe de ce procédé repose sur la méthode par tassement, elle s'effectue généralement dans sac en toile (Btana) qui constitue le moyen de conservation des dattes molles [21]. Après lavage de dattes à l'eau pour nettoyer les fruits et aussi augmenter le taux d'humidité, et sous l'effet du poids des dattes et de la température élevée, le miel attire. Leur rendement est très faible variant entre 10 à 15% du poids de la datte [21].

1.5.2.2. Procédé par trempage dans l'eau à basse température

Les dattes sont mises à tremper dans de l'eau tiède pendant plusieurs heures. L'extrait résultant, après filtration et élimination des fibres et des noyaux, est mis au chauffage de nouveau sur un feu doux, pour faire évaporer l'eau et augmenter sa concentration. L'inconvénient de cette technique réside dans le fait que le jus qui n'a pas toujours la même concentration. En plus, celle-ci est souvent faible, d'où le risque de fermentation [21].

1.5.2.3. Procédé par trempage dans l'eau à haute température

Cette méthode est la plus utilisée, particulièrement en Irak. Elle consiste à tremper les dattes dans l'eau portée à haute température (jusqu'à 90°C) en utilisant directement ou indirectement la vapeur d'eau, le chauffage permet une extraction plus poussée. Après la filtration de l'extrait, le jus obtenu renferme des impuretés qui sont séparées de la solution de sucre par carbonatation [21].

1.5.2.4. Extraction avec enzymes (cellulase et pectinase)

Elle est basée sur le trempage d'une pâte de dattes dans l'eau puis maintenue en ébullition, après la filtration la solution subit un traitement enzymatique (cellulase et pectinase) pour la clarification [21].

1.5.2.5. Extraction par diffusion

Cette méthode est basée sur la macération de dattes dans l'eau maintenue à 80°C durant 24 heures. Le principe est basé sur le passage, selon les lois de diffusion par transport passif, le jus est ensuite récupéré après décantation et passage à travers une gaze. Une condensation du jus est alors effectuée pour obtenir un produit concentré ayant un degré de Brix

compris entre 72 – 75° Brix, la température 60°C est choisie pour éviter la déstabilisation des sucres [21].

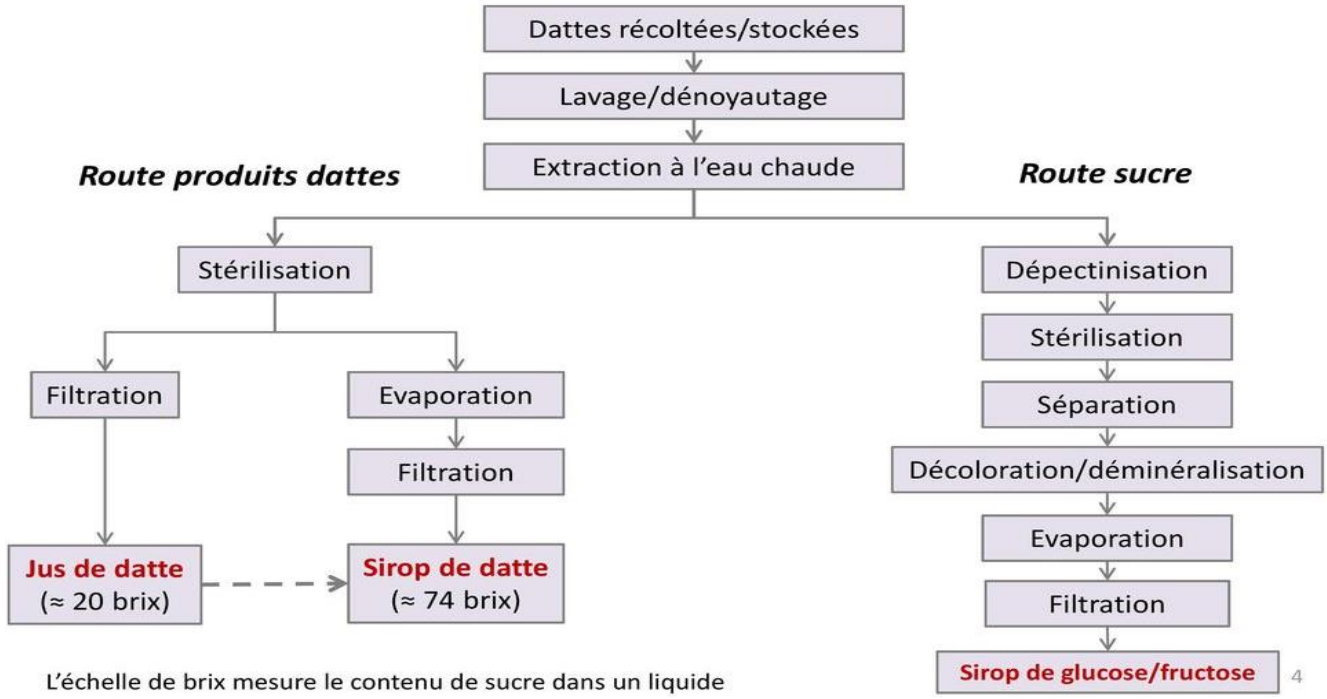


Figure 09: Etapes de fabrication de sirop de datte [30].

1.5.3. Valeur nutritionnelle du sirop de dattes

Le pH de sirop est compris entre 6 à 6.5 et le degré Brix compris entre 73 à 75 %, ce qui permet sa conservation au-delà de deux ans sans risque d'altération [27]. Il est extrait naturel 100% de dattes sélectionnées bio. Il ne contient pas de colorants ou de conservateur chimiques [25].

Le sirop de dattes est un aliment à haute énergie riche en glucides, une bonne source de minéraux, de fibres solubles et insolubles, d'acides aminés et organiques, mais il contient également un mélange très complexe d'autres polysaccharides, des polyphénols et des caroténoïdes. Il est riche en vitamines du groupe B (B2, B3, B5, B6) et vitamine C [21].

Tableau IV : Composition biochimique des quelque sirops des variétés des dattes « Deglat-Nour, Mech-deglat, Ghars » commercialisées à la wilaya de Biskra.

Paramètres	Sirop de datte		
	Mech-deglat (SALEM. 2020)	**Deglat-Nour (DATTMINE. 2020)**	**Ghars (TAMARAT ELNAKHIL. 2020)**
Teneur en eau (%)	20.6	/	/
pH à 1%	6.6	/	4.6
Glucides totaux (%)	74.9	62,45	74.2
Protéines (%)	1.8	1,26	12.3
Lipides (%)	3.6	/	4.2
Magnesium (mg/100g)	/	0.74	0.72
Potassium (mg/100g)	/	32.33	30.9
Fer (mg/100g)	/	29.45	26.3
Calcium (mg/100g)	/	9.28	12.02
Sodium (mg/100g)	/	91.88	/
Zinc (mg/100g)	/	1.07	1.11
Vitamins C/E/B6/B5 (mg/100g)	/	41.1/ 15 / 0.13	38 ,1/ 17/ 0.18/ 0.068

1.5.4. Utilisations du sirop de datte

La forte teneur en sucre de ce sirop devrait justifier leur utilisation comme source importante en sucre liquide approprié à de nombreux produits alimentaire tel que des confitures d'oranges, des boissons concentrées, la crème glacé au chocolat, des bonbons et des produits de boulangerie [3] (des gâteaux, des biscuits, pains sucrés, une utilisation directe sur crêpes) [21]. Il est également utilisé comme agent aromatisant pour les produits laitiers à savoir le lait fermenté [3].

Les quantités significatives de minéraux présents dans les dattes en font un super aliment pour renforcer les os, notamment le calcium et le fer qui jouent un rôle important à savoir le traitement de l'anémie et l'enrichissement de la ration alimentaire en calcium [21]. Ainsi, les antioxydants sont considérés comme bénévoles pour la santé humaine, ils réduisent le risque de maladies dégénératives et de certains types de cancers par la réduction du stress oxydatif et

l'inhibition de l'oxydation des macromolécules [21].

1.6. Les composés phénoliques

1.6.1. Définition

Les composes phénoliques ou polyphénols, sont des phyto-micronutriments [32], ou, des molécules organiques spécifiques du règne végétal, sont des produits du métabolisme secondaire des plantes [16]. Ils sont dans la plupart des cas glycosylés avec des sucres simples ou complexes [3]. Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules divisées en une dizaine de classes chimiques qui ont une caractéristique commune : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique a 6 carbones et peut porter un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Fig 10) [3]. Ils sont caractérisés, comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes généralement de haut poids moléculaire [3].

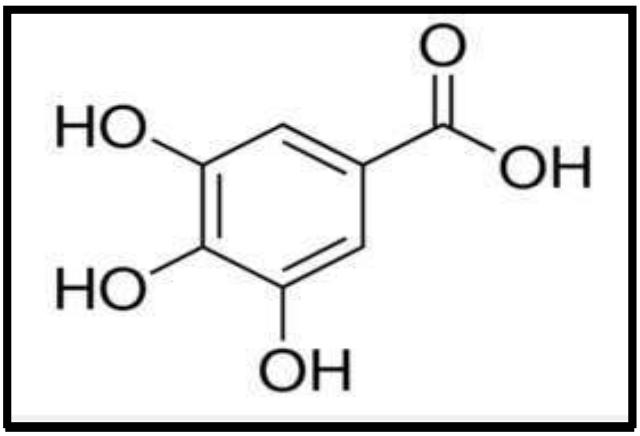


Figure 10: Exemple d'un composé phénolique (Acide gallique) [3].

1.6.2. Classification

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle, ainsi que, des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside…) [32]. La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux [20], mais, Les composés phénoliques sont commodément classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Les classes principales les plus identifiées des polyphénols sont : les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins [2].

1.6.2.1. Phénols simples

Ce sont des dérivés en C_6 du noyau benzénique, rare à l'état naturel et issus de la décarboxylation de l'acide shikimique. L'hydroquinol, le pyrocaténol et le phloroglucinol sont classés parmi les phénols simples [33].

1.6.2.2. Acides phénols

Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Il existe deux classes des acides phénoliques : les dérivés de l'acide benzoïque ou acides hydroxy benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique ou acides hydroxy cinnamiques [33].

a. Acides hydroxybenzoïques

Ils existent fréquemment sous forme d'ester ou de glucoside. Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type $C_6 - C_1$, dérive tous de l'acide benzoïque, leur diversité structurale est due aux hydroxylation et/ou méthylation de noyau aromatique en diverses position (2, 3 et 4) [33].

b. Acides hydroxycinnamiques

Ils représentent une classe très importante dont la structure de base ($C_6 - C_3$) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique [33].

1.6.2.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B), qui sont reliés entre eux par une chaîne en C_3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Fig 11), il existe 5 types de flavonoïdes : Flavonones, Flavones, Flavonols, Flavanols, anthocyanes [33].

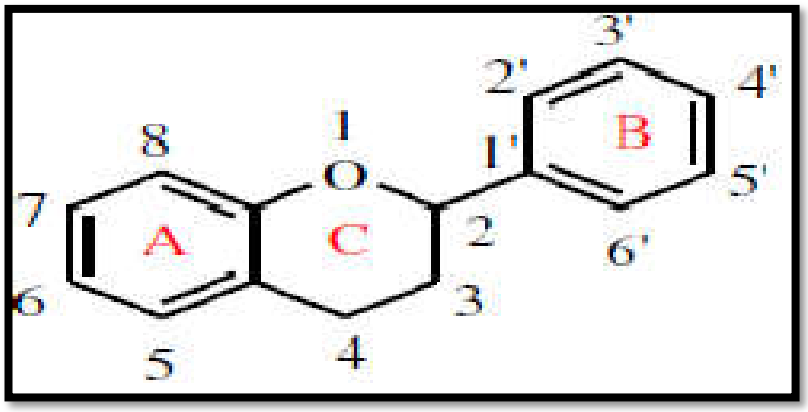


Figure 11: Squelette de base des flavonoïdes [33].

a. Flavonones : Ils se caractérisent par l'absence de double liaison entre C_2-C_3, et ils sont présents dans les plantes sous forme de trace.

b. Flavones : Ils dérivent des flavonones par une oxydation, qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle. Dans plus de 90%, le cycle (A) (Fig 13) est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C_5 et C_7.

c. Flavonols : Ils sont caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C_3. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal, leur couleur varie du blanc au jaune. Les flavonols qui s'accumulent dans les tissus végétaux sont presque toujours sous la forme conjuguée glycosylé.

d. Flavanols (flavan-3-ols): Ces molécules sont toujours hydroxylées en C_3 et se caractérisent par l'absence du groupe carboxyle en C_4. Elles sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols ou tanins condensés. Les flavan-3-ols sont très abondants dans les fruits comme les abricots, les cerises, les raisins...

e. Anthocyanes : sont des pigments naturels colorés qui se trouve dans les plantes vasculaires. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baie, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner [33].

1.6.2.4. Tanins

Les tannins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines. Chez les végétaux supérieurs ils existent deux groupes de tanins de structure différente: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (tanins condensés) [33].

a. Tanins hydrolysables : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique. Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase).

b. Tanins condensés (ou proanthocyanidines) : sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C_4 et C_8 ou C_4 et C_6 [20], ils sont formés par condensation des molécules de flavonoïdes entre elles [33]. En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence

caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc...), de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc.) et de l'amertume du chocolat [20].

1.6.3. Rôles des phénols

Il a été rapporté que la consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies. Les polyphénols ont été décrits comme étant des antioxydants, des antimicrobiens, des anti-agrégants plaquettaires, des anti-inflammatoires, des anti-thrombotiques et des anti-tumoraux [20].

1.6.3.1. Activité antioxydant

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Les composés phénoliques, et plus particulièrement les acides phénols et les flavonoïdes, permettent de ralentir le phénomène d'oxydation qui favorise le vieillissement cellulaire en interrompant le passage du stress oxydatif et interceptant le message de l'apoptose (mort cellulaire programmé) [25].

1.6.3.2. Activité antimicrobienne

Dans la famille des acides phénols, les composés les plus décrits dans la littérature pour leur activité antimicrobienne sur bactéries à Gram positif (*Staphylococccus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*) et Gram négatif (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*) confondues sont les acides parahydroxybenzoïque, les acides hydroxybenzoïques (protocatéchique, vanillique, gallique), les acides hydroxycinnamiques (caféique, férulique, chlorogénique) et les acides paracoumarique (acide parahydroxycinnamique) [20]. Contrairement aux phénols simples, l'activité antimicrobienne de ces composés est moins connue et il est plus difficile d'établir un classement global d'efficacité. Il a néanmoins été rapporté plusieurs fois que l'acide gallique était moins efficace que d'autres acides hydroxybenzoïques [34].

1.6.4. Mécanisme d'action antimicrobien des phénols

L'effet antimicrobien des produits polyphénoliques est dû partiellement à une perturbation des fractions lipidiques de la membrane plasmique des micro-organismes, qui en résulte une altération de la perméabilité de la membrane et la perte (fuite) de ses organites intracellulaires, en plus, des caractéristiques physicochimiques des composés polyphénoliques (la solubilité dans l'eau et la lipophile) peuvent influencer sur ce effet antibactérien [25].

1.6.4.1. Pénétration des composés phénoliques jusqu'au cytoplasme

Certains composés phénoliques, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, peuvent traverser la membrane bactérienne et atteindre le cytoplasme [34], dans le cytoplasme plusieurs phénomènes peuvent se produire par lui :

a. Acidification du cytoplasme

Les acides phénols pourraient agir comme des acides faibles, lorsque leur forme indissociée traverse la membrane et atteint le cytoplasme bactérien, elle se dissocie en libérant un proton. Cette acidification du cytoplasme entraîne une altération des fonctions enzymatiques et/ou des molécules structurelles ainsi qu'une perte d'énergie nécessaire à l'efflux des protons [34].

b. Perturbation du métabolisme

Concernant les flavonoïdes, deux principaux mécanismes d'action antimicrobiens ont été rapportés en plus de la perturbation de l'intégrité membranaire : l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques et l'inhibition du métabolisme énergétique [34].

1.6.4.2. Effets indirects des composés phénoliques

a. Chélation des métaux

Les métaux, comme le zinc et le cuivre, sont des micronutriments essentiels à la croissance des bactéries. Certains composés phénoliques ont des propriétés chélatrices de métaux bien connues (structures ortho-diphénoliques), ce qui pourrait être un des mécanismes antimicrobiens indirects des composés phénoliques [20]. Néanmoins, ce type de mécanisme reste peu probable dans un environnement alimentaire où les nutriments ne manquent pas [34].

b. Atténuation de la virulence bactérienne

Il a été rapporté que certains flavonoïdes seraient capables d'atténuer la virulence de certaines bactéries pathogènes via l'inhibition de récepteurs impliqués dans les signaux de quorum-sensing, enzymes telles que la sortase et l'uréase, via la neutralisation de toxines bactériennes, ou encore, via l'inhibition de la sécrétion de facteurs de virulence [34].

1.6.5. Propriétés thérapeutiques des composés phénoliques

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé [30]. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neuro-dégénératives [3]. Parmi les antioxydants végétaux, les composés phénoliques apparaissent parmi les plus efficaces quant à leurs effets protecteurs dans l'organisme [32].

Des études ont démontré qu'une consommation importante d'antioxydants phénoliques (vitamine E, quercétine...) pouvait être corrélée avec une baisse significative des décès par athérosclérose, en diminuant l'oxydation des LDL. Les polyphénols pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormonodépendantes, telle que l'ostéoporose, en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes [25].

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique [25], Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [3]. L'acide salicylique (acide hydroxybenzoïque), en particulier, a des propriétés antiseptiques en plus. Les composés phénoliques interviennent dans la digestibilité des aliments et dans l'utilisation physiologique des protéines (avec lesquelles les tanins se combinent) [25].

Chapitre 02 :

Matériel et Méthodes

2.1. Matériels utilisés

2.1.1. Matériels biologiques

2.1.1.1. Choix des variétés des dattes

Dans cette étude, on a utilisé des variétés de dattes les plus connus et les plus utilisé dans la fabrication des sirops des dattes dans la wilaya de Biskra et de Oued- souf :
Deglet-Noor, Mech-Deglat, Ghars (Fig 12).

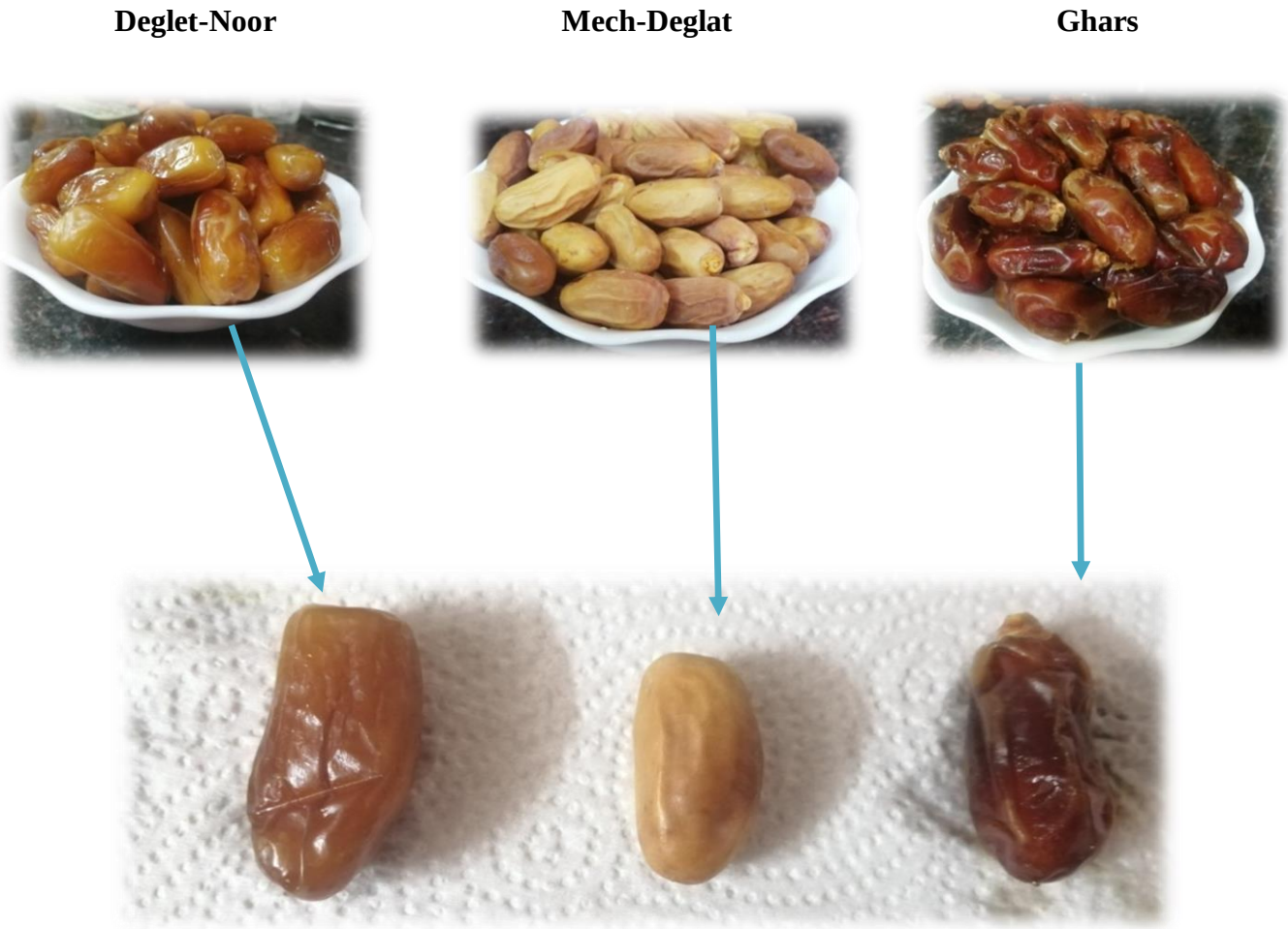


Figure 12 : Aspect général des fruits de trois variétés de *P. dactyliféra* L. utilisé dans l'expérimentation.

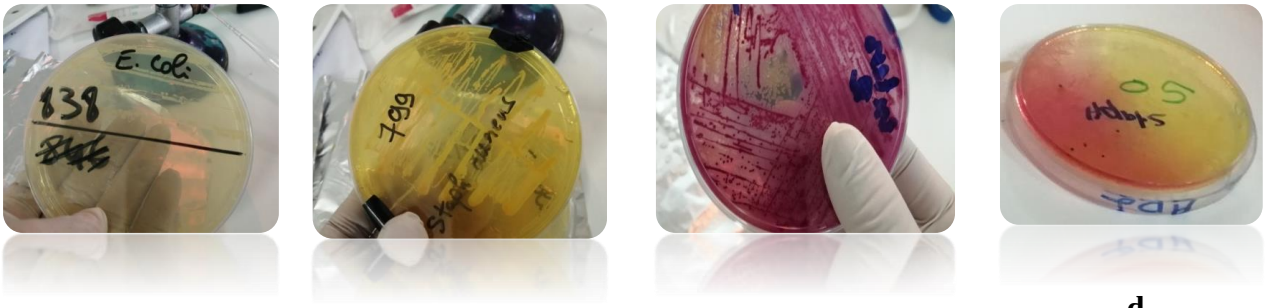
2.1.1.2. Souches microbiennes

On a choisi les bactéries les plus distingués dans la colonisation bactériennes des plaies chroniques [35], ses principales caractéristiques distinctives sont mentionnées dans le tableau V :

Tableau V: Principales caractéristiques distinctives des bactéries utilisées.

Bactérie	**caractéristiques**
Staphylococcus aureus	Famille : Staphylococcaceae ; Genre: *Staphylococcus* ; Espèce: *aureus.* Cocci à Gram^{+}, aérobie-anaérobie facultatif, diplocoques ou disposé en amas, coagulase^{+}, catalase^{+}, Nommé par staphylocoque doré. Habitat: peau, muqueuses e fosses nasales et le pharynx en majorité [36].
Staphylocoques à coagulase $^{-}$ (SCN)	Cocci à Gram^{+}, aérobie-anaérobie facultatif, diplocoques ou disposés en amas, coagulase^{-}, catalase^{+}. Habitat : La majorité sont des bactéries opportunistes, essentiellement responsables des infections nosocomiales (*S. epidermidis* est l'espèce la plus fréquemment isolée en milieu hospitalier) [37].
Entérobactéries	Bacille à Gram^{-}, aérobie-anaérobie facultatif, mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, réduisant les nitrates en nitrites, oxydase^{-}, catalase +. Les espèces qui composent cette famille sont soit : Parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis, Klebsiella sp*), saprophytes (*Serratia sp, Enterobacter sp*) [38].
Escherichia coli	Famille : Entérobacteriaceae ; Genre: *Escherichia*; Espèce : *coli*. Bacille en forme de bâtonnet à Gram^{-}, aérobie-anaérobie facultatif, des coliformes fécal. Habitat : microflore commensale intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et certaines souches peuvent être pathogènes entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies [39].

Les espèces *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont déjà isolé au niveau de laboratoire d'hygiène de l'établissement public de santé de proximité de Médéa, et les entérobactéries et staphylocoques (coagulase négatif) ont déjà isolé au niveau de laboratoire du contrôle de qualité (laboratoire AMRANE) en la wilaya de Biskra (Fig 13). Ces bactéries ont été manipulés dans des conditions de température (4°C) dès le prélèvement jusqu'à la conservation.



-a- **-b-** **-c-** **-d-**

Figure 13 : Bactéries adoptées pour faire le test d'antibiose (**a :** *E coli* ; **b :** *S. aureus* ; **c :** des entérobactéries ; **d :** SCN).

2.1.2. Réactifs chimiques, milieux de cultures et appareillage

- **Réactifs chimiques :** eau distillée, eau distillée stérile, eau physiologie stérile, acétone, Polyvidone iodée 10%, Sulfadiazine argentique 1%, Gentamicine (80mg/2ml), Amoxicilline/acide clavulanique (1g/125mg), eau oxygéné, alcool 90%, violet de gentiane, lugol, fuchsine, plasma de sang, huile d'immersion **(Annexe I).**
- **milieux de cultures :** Gélose nutritive (GN), gélose Chapman ou Mannitol salt agar (MSA), gélose Baird-Parker (BP), Violet red bile glucose agar (VRBG), Violet red bile lactose agar (VRBL) **(Annexe II).**
- **Appareillage :** Plaque chauffante, Balance de précision, Etuve, Agitateur magnétique chauffant, Agitateur de type vortex, Bain marie, Autoclave, Rota vapeur, Réfrigérateur, Spectrophotomètre, Microscope optique, Lamp loup **(Annexe III).**

2.2. Méthodes

2.2.1. Étapes d'extraction des sirops des dattes

On a choisi, pour les trois variétés, le procédé d'extraction de sirop par trempage dans l'eau à haute température (Fig 14).

1. Lavages en eau de robinet avec simple agitation par les mains.



2. Cuisson d'un volume de dattes avec 3 volumes d'eau, sur feu fort avec agitations en temps un temps.



3. Enlèvement de la première mousse formé (qui peuvent altérer la qualité de sirop).





4. Pressage.





5.Filtration avec pressage (pour enlever les noyaux et les fibres).



6.condensation : évaporation de filtrat (jus des dattes) à feu fort puis feu doux, avec agitation.



7. obtention d'un liquide visqueuse (sirop ou mélasse des dattes).



8. refroidissement de sirop en température ambiante puis réfrigérera.



Figure 14 : Étapes d'extraction des sirops des dattes.

2.2.2. Extraction des polyphénols

Pour l'analyse des polyphénols, l'extraction liquide-liquide et/ou solide-liquide sont les procédures les plus couramment utilisées. Les solvants d'extractions les plus communément utilisés sont les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther éthylique et l'acétate d'éthyle [40]. Cependant, pour les composés très polaires tel que les acides phénoliques (benzoïque, cinnamique) ne pouvant être extraits complètement avec les solvants organiques purs, les mélanges d'alcool-eau ou d'acétone-eau sont recommandés [41].

Le rendement d'extraction des composés augmente avec le temps de contact et l'augmentation de la température induit une diminution de la viscosité des solvants et par conséquent une meilleure diffusion et rendement meilleur des molécules d'intérêt [41].

2.2.2.1. Technique d'extraction

On a choisi la technique de **Taleb H et *al.* (2016) ([42])** avec quelques modifications (Fig 15):

1/- 200g de sirop des dattes a été macérés dans 200ml d'un mélange hydro-acétonique (acétone/eau = 4v/1v = 160ml/40ml) pendant 48 heures à une température ambiante et en obscurité.

2/- Filtration par papier Whatman.

3/- Un extrait hydro- brut a été obtenu.

4/- Evaporation de filtrat par la rota vapeur à 40°C.

5/- Un extrait phénolique a été conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

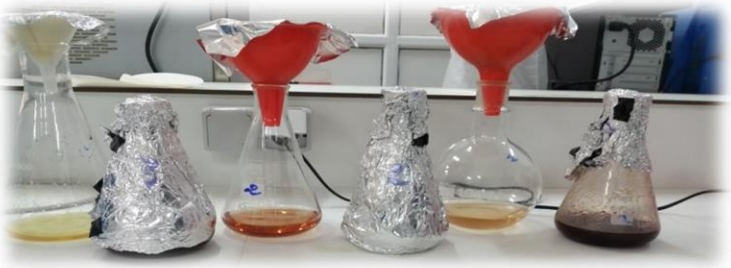
1-Macération



2-Filtration



3-Obtention d'un extrait brut



4-Evaporation



5-Obtention d'un extrait phénolique





Figure 15 : Technique d'extraction des polyphénols.

2.2.2.2. Calcul de rendement

Le calcul de rendement permet de déterminer l'efficacité d'une synthèse chimique [43]. Dans cette étude le rendement est le rapport entre le volume de l'extrait polyphénolique obtenus (en ml) et la masse du sirop de dattes utilisée (en gramme).

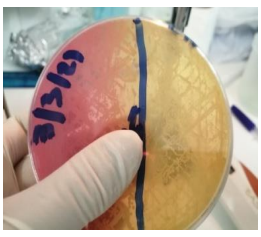
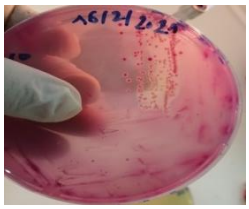
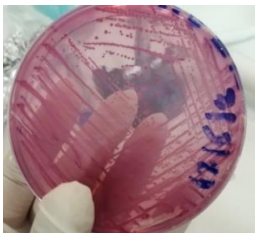
$$\mathbf{R\ (ml/g) = \frac{volume\ de\ l'extrait\ polyphénolique\ \ obtenu}{masse\ du\ sirop\ de\ dattes\ utilisée}}$$

2.2.3. Repiquage et confirmation des micro-organismes apportés

a. Purification

On a réensemencé chaque bactérie apporté en une boite de Pétrie contenant la gélose sélectif convenable et les incuber pendant 24 h, puis à partir de ses boites, on a repiqué une autre fois les bactéries dans des boites contenant les mêmes géloses utilisés précédemment (tableau VI) et les incuber pendant 24 h.

Tableau VI : Purification des microorganismes sélectionnés.

La souche	*Staphylocoques aureus*	SCN	Entérobactéries	*Escherichia coli*
Gélose sélectif	MSA	BP	VRBG	VRBL
Température d'incubation	37°C	37°C	37°C	37°C
Repiquage de bactérie				

b. Tests de confirmation

Les examens ont pour but de vérifier et conformer les micro-organismes sélectionnés :

b1.Examen à l'état frais : On a mélangé à une goutte de l'éosine aqueuse diluée (à la place de l'eau distillée), disposé sur la lame, une à deux colonies bactériennes. La lame a été recouverte par une lamelle, puis on a fait l'observation au microscope optique à objectif x100 avec huile d'immersion.

b2.Coloration de Gram

- Une goutte d'eau distillée stérile a été disposée sur une lame.
- mélangée bien avec une colonie isolée (prélevé stérilement à l'aide une anse de platine).
- la lame a été déplacée sur la flamme jusqu'à devient sèche (blanchâtre).
- inondée avec le violet de gentiane (pendant 1 minute) puis rincée par l'eau (sur les conteurs de la lame).
- Inondée avec le mordant lugol (1 min) puis rincée.
- décoloration par l'alcool (10 second) puis rinçage.
- Inondation avec le contre-colorant la fuchsine (1 min) puis rinçage.
- séchage du lame par papier buvard puis l'observation en microscope optique à objectif x 100 avec huile d'immersion.

b3.Test de catalase : Une goutte de l'eau oxygéné (H_2O_2) a disposée sur lame et mélangée avec une à deux colonies bactériennes prélevé stérilement.

b4.Test de coagulase (pour les staphylocoques) **:** à l'aide de plasma du sang humain (sang des tubes EDTA) :

- Test de coagulase sur lame : une goutte de l'eau physiologique a été bien mélangée avec deux à trois colonies, puis une goutte de plasma a été ajoutée.

- Test de coagulase en tube : dans une tube à essai, on a mélangé 0,5 ml de plasma avec deux à trois colonies (prélevées stérilement), puis une incubation à 37°C/24h.

2.2.4. Test de l'activité antimicrobienne des polyphénols

Le but est de tester l'efficacité thérapeutique des polyphénols des sirops de trois variétés des dattes sur les bactéries testés : *Staphylococcus aureus*, staphylocoques à coagulase négatif, les entérobactéries et *Escherichia coli*.

Cette étude peut pratiquer soit sur milieu solide ou en milieu liquide, mais la plus économique est celle sur milieu solide, qui permet de tester plusieurs souches bactériennes en

même temps.

Parmi les méthodes qui existent en microbiologie, la méthode de diffusion étant la plus utilisée (antibiogramme), qui repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien (ici les polyphénols) sur la cible (bactéries) est apprécié par la mesure des zones d'inhibition et en fonction de l'indice d'inhibition qu'il est calculé à partir du diamètre d'inhibition. Dans cette méthode il y a une compétition entre la croissance de la bactérie et la diffusion du produit à tester.

2.2.4.1. Détermination l'indice d'inhibition (Ii)

a. Préparation des dilutions de polyphénols

On met 2 mL de l'extrait phénolique dans un tube à essai pour réaliser une dilution de 10%, puis on a répétée cette méthode jusqu'à la cinquième dilution. Donc, on a préparé six solutions avec des concentrations différentes pour chaque PPH (trois PPH). Les tubes ont été recouverts par sac noir et conservées à 4°C. La Fig 16 et le tableau VII représentent les différentes étapes de la dilution de polyphénols.

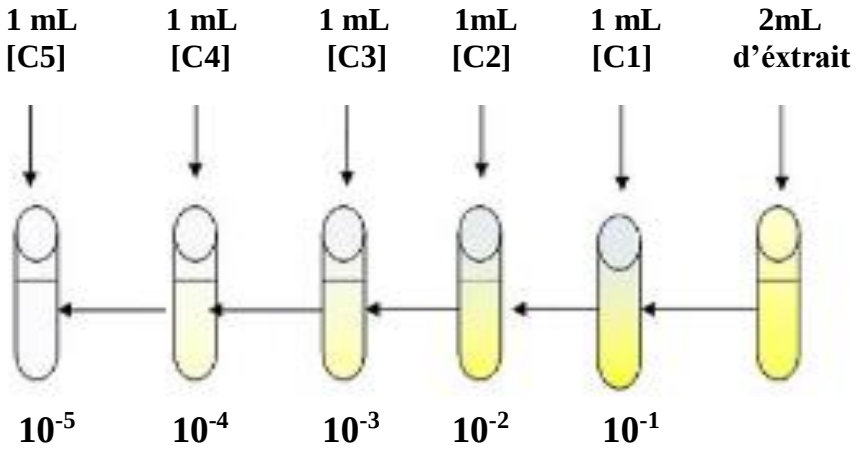


Figure 16 : Dilutions des PPH des sirops des dattes.

Tableau VII : Concentrations des dilutions des PPH utilisées dans l'examen de l'activité antimicrobienne.

Concentration [C]	C1	C2	C3	C4	C5	C6
v de polyphénols	2mL	1 mL [C1]	1mL [C2]	1 mL [C3]	1 mL [C4]	1 mL [C5]
v d'H_2O	0 mL	9 mL	9 mL	9 mL	9 mL	9 mL

b. Préparation des suspensions bactériennes

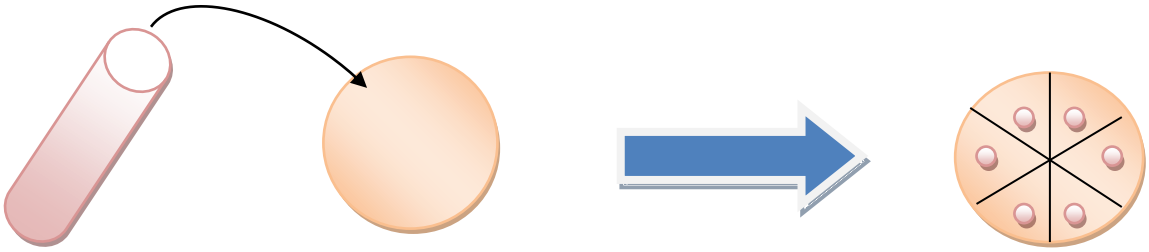
À partir des boites n°2 de repiquage, les cellules bactériennes ont été cultivées dans des milieux solides (gélose nutritif) et incubées à 37°C/ 24h, puis des suspensions de chaque bactérie ont été préparées dans des tubes à essai contenant 5 ml d'eau physiologique stérile. Les tubes ont été subi une agitation pour obtenir des liquides homogènes.

c. Quantité d'inoculum utilisé

Nous avons utilisés une concentration homogène d'inoculum pour tous les bactéries, 0.5 Mc Farland standard qui correspondant à une concentration bactérienne de 1 à 2.10^8 UFC/ml, en utilisant une numération spectrophotométrique directe où D.O = 0,1/ 625nm de chaque suspension.

d. Application de la technique des disques

A l'aide d'une pince stérile, on a placé des disques (de 6 mm de diamètre) préalablement imbibés d'extrait polyphénolique sur les boites de pétri (GN), après faire l'ensemencement des suspensions. On a refait l'opération pour les autres cinq dilutions de chaque extrait (Fig 17).



Suspension bactérienne avec une concentration de 1à 2.10^8 germes/mL étalée sur milieu de GN.

Figure 17 : Application des disques

e. Antibiogramme

L'antibiogramme est une analyse permettant de déterminer la sensibilité d'une bactérie à divers antibiotiques. Ce test consiste à l'application des disques imprégnés d'antibiotiques sur une gélose préalablement ensemencée par des bactéries. L'antibiotique va diffuser dans la gélose avec une concentration décroissante.

e.1. Médicaments testés (antibiotiques et antiseptiques)

Les antibiotiques sont des molécules possédant la propriété de tuer (bactéricide) ou de limiter la propagation (bactériostatique) des bactéries [44] ; Les antiseptiques sont des substances chimiques que l'on applique sur la peau pour interrompre ou prévenir le développement de bactéries ou d'autres micro-organismes [44].

- **Septidine dermique :** C'est un antiseptique à base d'iode qui est utilisé pour l'antisepsie des plaies ou des brûlures superficielles et peu étendues. Ce désinfectant, à base de **povidone iodée (10%)**, est également employé pour le traitement local d'appoint des affections de la peau et des muqueuses infectées ou risquant de s'infecter, aussi, pour l'antisepsie du champ opératoire [45].

- **Sulfadiazine argentique (Sulfadiazine) :** C'est un sulfamide (ATB) local antibactérien. Les sulfamides inhibent la dihydroptéroate synthétase (DHPS), précurseur de l'acide dihydrofolique, et par ailleurs jouent le rôle de faux substrat en se substituant à l'acide para-amino-benzoïque (de structure chimique proche) [46]. L'acide para-amino-benzoïque est un facteur de croissance pour les bactéries dont l'effet est antagonisé par les sulfonamides [47]. On considère que la sulfadiazine argentique libère peu à peu l'ion argent dont le pouvoir bactéricide s'associe au pouvoir bactériostatique de la sulfonamide libérée [48].

- **Gentamicine :** C'est un antibiotique de la famille des aminosides (aminoglycosides). Son activité bactéricide est basée principalement sur l'inhibition de la synthèse des protéines, altérant ainsi la perméabilité de la membrane cellulaire, entraînant la rupture progressive de l'enveloppe cellulaire puis éventuellement la mort de la cellule [49]. La gentamicine se lie avec la sous-unité 30S des ribosomes bactériens et bloque la première étape de la synthèse protéique, à savoir l'initiation. Elle possède une action bactéricide à des concentrations égales ou légèrement supérieures aux concentrations inhibitrices. La gentamicine est utilisée sous forme de sulfate en solution injectable, par voie parentérale [49].

- **Amoxicilline/Acide clavulanique (Amoclan):** L'amoxicilline est une pénicilline semisynthétique (antibiotique de la famille de bêta-lactamines, qui inhibe une ou plusieurs enzymes de la voie de biosynthèse des peptidoglycanes bactériens et conduit à un affaiblissement de la paroi cellulaire, souvent suivi par la lyse et la mort cellulaire [50]. L'acide clavulanique est un Bêta-lactamine structurellement liée aux pénicillines,

il inhibe certaines enzymes Bêta-lactamases (dégradent l'amoxicilline et produites par les bactéries résistantes) et évite l'inactivation de l'amoxicilline [50].

e.2. Préparation des dilutions des médicaments

Le tableau VIII et la Fig 18 représentent les différentes concentrations des médicaments utilisés :

Septidine dermique 10% (**PVI**), Sulfadiazine pommade 1% (**SAG**), Gentamicine injectable 80mg (**GM**), Amoclan (Amoxiciline/acide clavulinique 1g/125 mg) (**AMC**).

Tableau VIII : Concentrations des médicaments utilisées dans l'examen de l'activité antimicrobienne.

	Concentration			
médicament	**PVI**	**SAG**	**GM**	**AMC**
	1mL	1 g	1mL	1 g
v d'H_2 O	0 mL	9 mL	0 mL	9 mL



-a- **-b-**

Figure 18: Dilutions des médicaments testés: **a (F:** Sulfadiazine **; G :** Gentamicine **; B:** Septidine dermique**) ; b (**Amoclan**)**.

e.3. Recherche d'effet synergique entre les polyphénols et médicaments utilisés

Le terme « synergie » est utilisé en pharmacologie et en écologie. On parle de synergie lorsque deux médicaments associés ont un effet supérieur que la somme de leurs effets pris séparément [44].

Dans cette étude, on a fait les mélanges ci-dissous pour chercher s'il y a un effet synergique entres les polyphénols des sirops des dattes et les médicaments utilisées :

- Mélange de mêmes volumes (50/50) de la Septidine et la concentration d'extrait polyphénolique, de chaque variété, de la meilleure activité antimicrobien sur chaque bactérie.
- Mélange de mêmes volumes (50/50) de solution de la Sulfadiazine pommade et la concentration d'extrait polyphénolique, de chaque variété, de la meilleure activité antimicrobien sur chaque bactérie.
- Mélange de mêmes volumes (50/50) de la Gentamicine et la concentration d'extrait polyphénolique, de chaque variété, de la meilleure activité antimicrobien sur chaque bactérie.
- Mélange de mêmes volumes (50/50) de solution de l'Amoxicilline-acide clavulinique et la concentration d'extrait polyphénolique, de chaque variété, de la meilleure activité antimicrobien sur chaque bactérie.

e.4. Application des disques

On a placé les disques (de 6 mm de diamètre) préalablement imbibés des solutions des médicaments sur les boites de pétri (GN), à l'aide d'une pince stérile, après faire l'ensemencement des suspensions. On a fait l'opération pour les quatre médicaments (ses dilutions) et les mélanges (Fig 17).

f. Incubation

Les boites de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 48h pour tous les bactéries testées. La duré d'incubation choisi (48h) est la période préférentiel in vivo entre deux traitement successives de la plupart des plaies.

g. Lecture

Elle consiste à mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée. La formation d'un halo clair autour un disque a été considéré comme indicateur de l'activité d'inhibition de la croissance bactérienne. L'indice de d'inhibition (Ii) est déterminé par la formule suivante:

$$\mathbf{Ii\%} = \frac{\mathbf{Diamètre\ halo\ (mm) - Diamètre\ disque(mm)}}{\mathbf{Diamètre\ halo\ (mm)}}\ \mathbf{X\ 100}$$

2.2.4.2. Traitement statistique des données

Pour chaque série d'analyse, la moyenne ($\overline{\mathbf{x}}$) **,** l'erreur standard **(ε),** l'intervalle de confiance (**IC**), l'écart type (**σ)** et le degré de liberté **d.d.l** ont été calculés **(Annexe IV)**. La comparaison des moyennes s'applique par le "**test de Student"**, test qui nous avons permet de comparer entre l'activité antimicrobienne des polyphénols des sirops des dattes et des médicaments, et ses mélanges (effet synergique).

Chapitre 03 :

Résultats et discutions

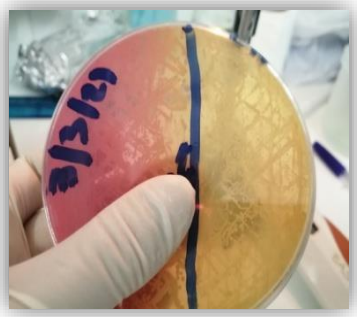
3.1. Evaluation du rendement quantitatif en polyphénols

Les rendements obtenus en polyphénols (PPH) à partir des sirops des trois variétés de palmier dattier *Phoénix dactylefera* L. ont montrés un meilleur rendement de la variété Ghars (**0.125 ml/g**) par rapport aux deux autres variétés testées, Mech-Degla (**0.075 ml/g)** et Déglet-Nour (**0.06 ml/g)**.

3.2. Examens appliqués aux germes (Tests de confirmation)

3.2.1. Examens macroscopiques

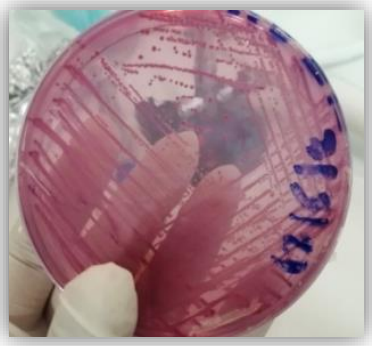
Les caractéristiques macroscopiques sont obtenues à partir des cultures bactériennes sur milieux gélosé (Fig 19), les caractères examinés sont représentés dans le tableau IX :



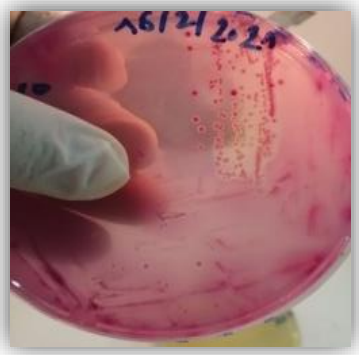
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 19 : Observation macroscopique des colonies, **a** : *S. aureus* dans un milieu MSA (culture jeune d'or opaque), **b** : SCN dans un milieu BP (culture jeune d'or opaque), **c** : *E. coli* dans un milieu VRBL (culture rose), **d** : Entérobactéries dans un milieu VRBG (culture rose rougeâtre).

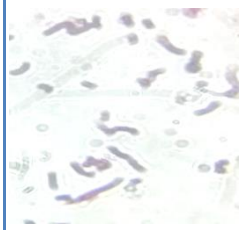
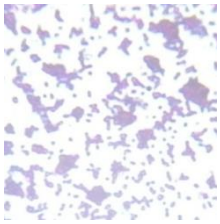
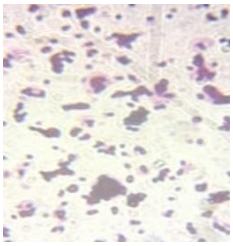
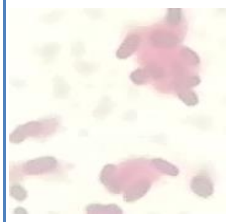
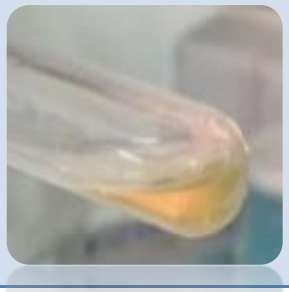
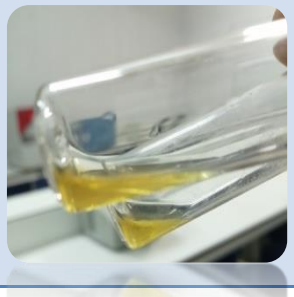
Tableau IX: Caractéristiques macroscopiques des colonies des bactéries testées.

Bactéries / Critères morphologiques	*E. coli*	*S. aureus*	SCN	Entérobactéries
Forme	Ronde	Ronde	Ronde	Ronde
Relief	Plate	Plate	Plate	Plate
Contour	à bord régulier	à bord régulier	à bord régulier	à bord régulier
Diamètre	1 à 2 mm	1 à 2 mm	0.5 à 1 mm	0.5 à 2 mm
Taille	Petite	petite	Petite	Petite
Surface	Lisse	Lisse	Lisse	Lisse
Couleur	Rose	Jaune d'or opaque avec une halo clair	Jaune d'or opaque	Rose rougeâtre

3.2.2. Examen microscopique

L'observation microscopique, a permis de noter le Gram, la mobilité, la forme et le mode d'association de chaque bactérie, et les résultats des tests effectués (catalase et coagulase) sont représentés dans le tableau X.

Tableau X: Caractéristiques microscopiques des bactéries étudiées.

Critères microscopiques	**Bactéries**			
	E. coli	*S. aureus*	SCN	Entérobactéries
Gram	Négative (-) Coloration rose 	Positive (+) Coloration violet 	Positive (+) Coloration violet 	Négative (-) Coloration rose 
Forme	Bacille	Coque	Coque	Bacille
mobilité	Mobile avec des flagelles péritriche	Immobile	Immobile	Immobile ou Mobile avec des flagelles péritriche.
Mode d'association	Cellules séparées	Grappe de raisin	Diplocoques et des grappes de raisin	Cellules séparées
Catalase	+	+	+	+
Coagulase	/	+ 	- 	/

3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols

Le traitement des infections bactériennes, on général, se base principalement sur l'usage des antibiotiques, mais la prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multi-résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches

vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine [51]. C'est pourquoi un test d'activité antagoniste entre PPH et les bactéries pour la détermination de l'effet antibactérien.

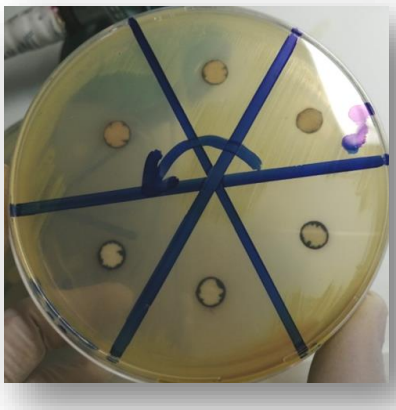
3.3.1. Effet antibactérien des PPH extrait du sirop de DN

La méthode que nous avons utilisée est celle de diffusion sur un milieu gélosé par l'évaluation de l'indice d'inhibition de la zone de croissance microbienne. Les résultats obtenus pour les différentes concentrations de l'extrait PPH sont présentés sur le tableau XI et les Fig (20, 21).

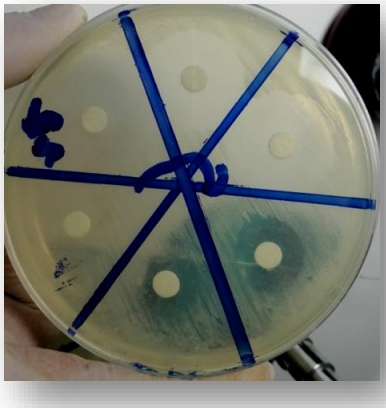
Au bout de **2 jours** d'incubation sur un milieu solide, une action inhibitrice exercée par l'extrait des (PPH) vis-à-vis de la croissance bactérienne de *S. aureus*, *E. coli*, les SCN et les Entérobactéries a été observée.

Le taux d'inhibition de *S. aureus* (Ii) enregistré a été de **66.038 ± 13.771 %** avec la concentration **1** de PPH du sirop de Deglet-Nour, en présence de la même concentration (Ii) pour les SCN est de **66.972 ± 25.786 %**, selon la transcription statistique a montré que *S. aureus* et les SCN sont sensibles au traitement par ces PPH, mais la sensibilité des SCN est plus significative (jusqu'au **78.182 ± 6.753 %** par **C3** de PPH DN) que celle de la bactérie *S. aureus*. Par contre, le taux d'inhibition des Entérobactéries et *E. coli* a été nul, avec toutes les concentrations de PPH du sirop de DN.

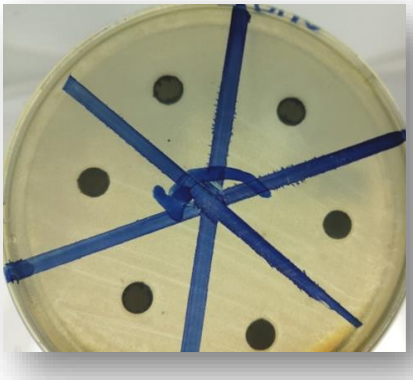
D'après ces résultats, il apparaît que les PPH du sirop de DN ont un effet antimicrobien sur les bactéries à Gram+ (*S. aureus*, SCN) par comparaison avec les bactéries à Gram- (Entérobactéries, *E. coli*), ceci peut être attribué, probablement, à la différence de la structure entre les bactéries $Gram^+$ et les bactéries $Gram^-$.



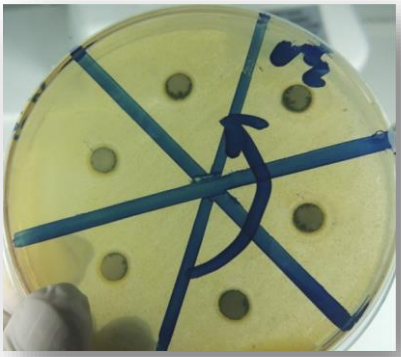
S. aureus



SCN



E. coli



Entérobactéries

Figure 20 : Quelques exemples de l'effet antimicrobien des PPH du sirop de DN sur les bactéries testées.

Tableau XI: Activité antimicrobienne des PPH du sirop de DN; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		C1	C2	C3	C4	C5	C6
S. aureus	**Ii (%)**	**66.038** ±13.771	**51.351** ±2.552	**0**	**0**	**0**	**0**
SCN	**Ii (%)**	**66.972** ±25.786	**78.182** ±1.014	**78.824** ±6.753	**65.385** ±5.105	**29.412** ±7.100	**18.182** ±1.171
Entérobactéries	**Ii (%)**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
E. coli	**Ii (%)**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**

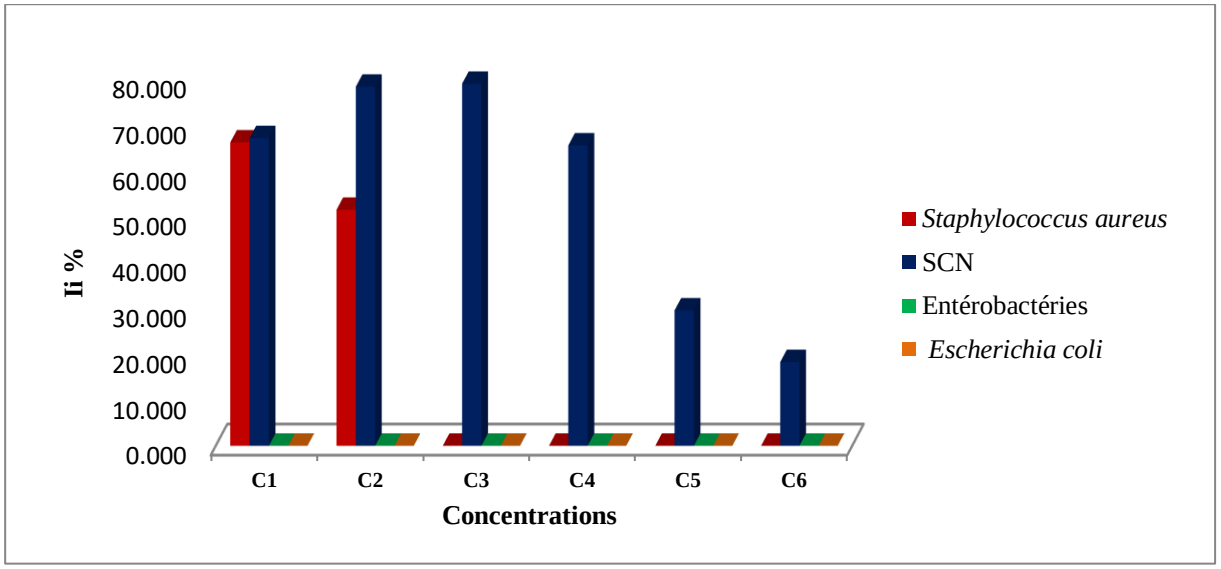
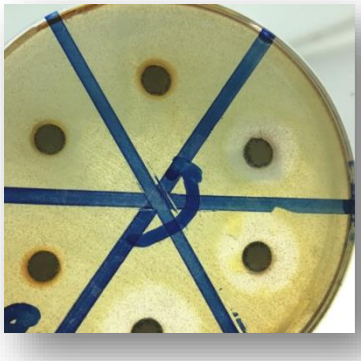


Figure 21 : Effet antimicrobien des PPH du sirop de DN sur les bactéries : *S. aureus*, *E. coli*, les SCN et les Entérobactéries; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

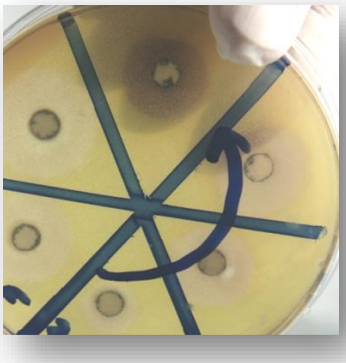
3.3.2. Effet antibactérien des PPH extrait du sirop de MD

Les tests de l'activité antibactérienne des PPH MD ont été effectuées sur les bactéries pour déterminer ses sensibilités à cet extrait, les résultats obtenues dans le tableau XII et les Fig (22, 23) montrent que l'activité antibactérienne des différentes concentrations de PPH du sirop de la variété MD sur la bactérie *S. aureus*, les entérobactéries et les SCN est toujours

forte que celle de la bactérie *E. coli,* sauf dans la concentration **6** qu'elle a été inhibitrice pour *E. coli* (**29.412 ± 0.00 %**). La valeur la plus significative (**63.265 ± 6.114 %)** a été trouvée sur les entérobactéries avec **C3**.



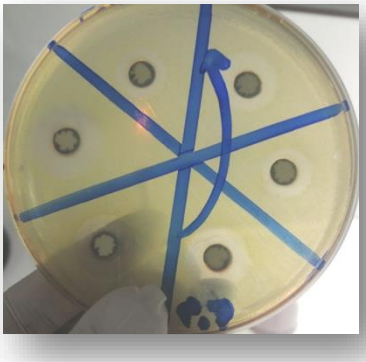
S. aureus



SCN



E. coli



Entérobactéries

Figure 22 : Quelques exemples de l'effet antimicrobien des PPH du sirop de MD sur les bactéries testées.

Tableau XII : Activité antimicrobienne des PPH du sirop de MD; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		C1	C2	C3	C4	C5	C6
S. aureus	**Ii(%)**	**53.846** ±1.757	**47.059** ±0.586	**55** ±1.171	**0**	**0**	**0**
SCN	**Ii(%)**	**56.627** ±1.549	**47.059** ±0.586	**29.412** ±2.683	**5.263** ±1.171	**0**	**0**
Entérobactéries	**Ii(%)**	**61.290** ±7.314	**59.551** ±4.099	**63.265** ±6.114	**45.455** ±8.842	**0**	**0**
E. coli	**Ii(%)**	**26.531** ±0.586	**0**	**0**	**0**	**0**	**29.412** ±0.00

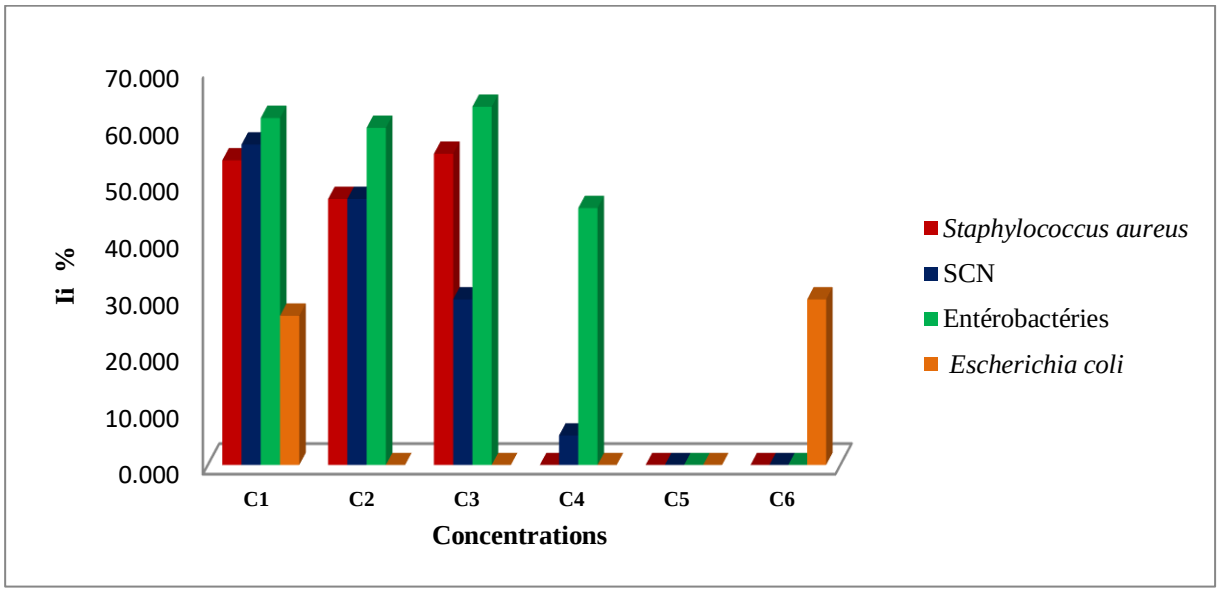
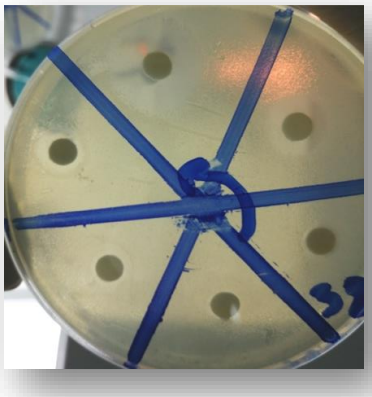


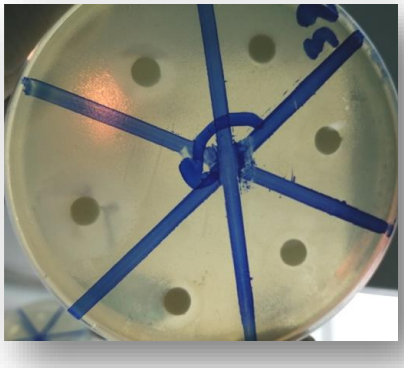
Figure 23 : Effet antimicrobien des PPH du sirop de MD sur les bactéries : *S. aureus*, *E. coli*, les SCN et les Entérobactéries; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

3.3.3. Effet antibactérien des PPH extrait du sirop de GH

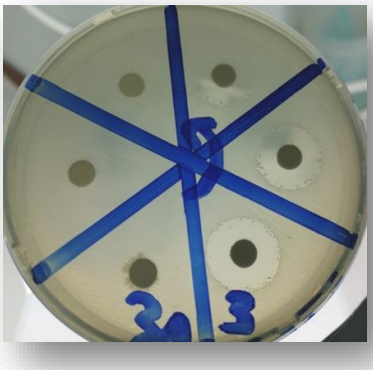
Les valeurs représentées dans le tableau XIII et les Fig (24, 25) permettent d'observer que l'activité antibactérienne de **C1** de ces PPH sur *S. aureus* et les entérobactéries est presque similaire par rapport au celle sur les SCN, où elle a été plus fort (**80.220 ± 5.856 %**), et que l'effet inhibitrice (Ii) est moyennement faible avec *E. coli* (**34.545 ± 1.549%**), où la moyenne est reste toujours non significatif au seuil de 5%.



S. aureus



SCN



E. coli



Entérobactéries

Figure 24: Quelques exemples de l'Effet antimicrobien des PPH du sirop de GH sur les bactéries testées.

Tableau XIII : Activité antimicrobienne des PPH du sirop de GH; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		C1	C2	C3	C4	C5	C6
S. aureus	**Ii(%)**	**62.5** ±1.014	**7.692** ±1.757	**0**	**0**	**0**	**0**
SCN	**Ii(%)**	**80.220** ±5.856	**79.070** ±5.856	**56.098** ±12.227	**29.412** ±4.421	**16.279** ±3.126	**0**
Entérobactéries	**Ii(%)**	**63.636** ±11.697	**41.935** ±3.840	**25** ±1.757	**29.412** ±2.683	**28** ±2.552	**0**
E. coli	**Ii(%)**	**34.545** ±1.549	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**

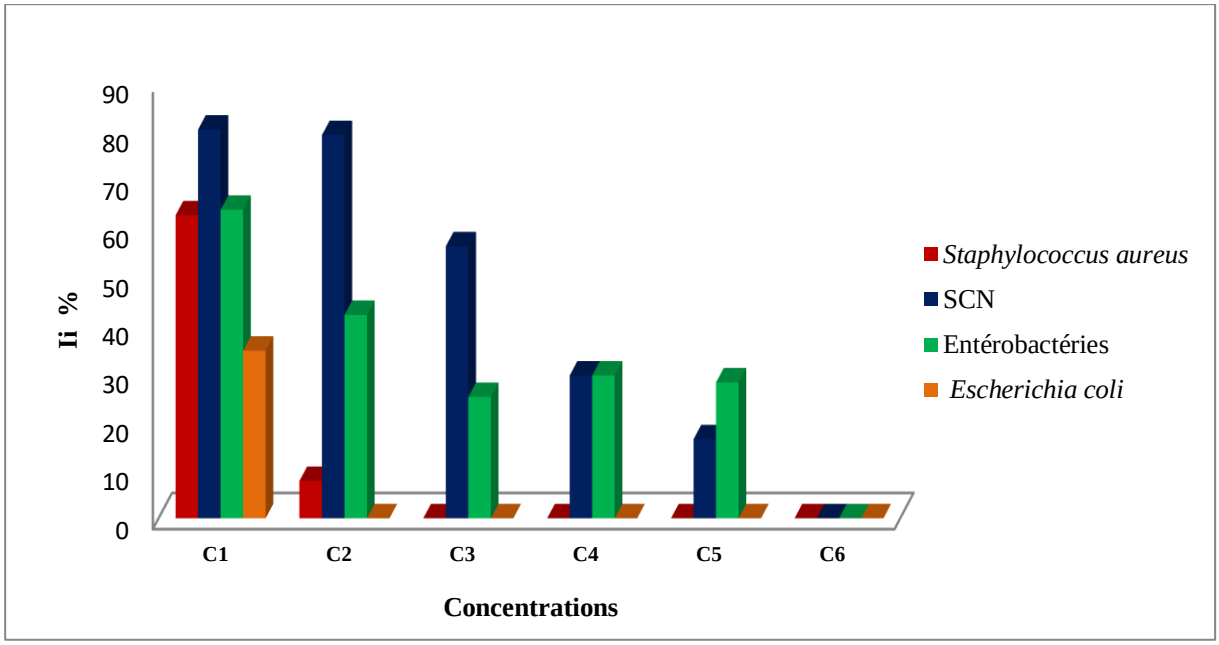


Figure 25 : Effet antimicrobien des PPH du sirop de GH sur les bactéries : *S. aureus*, *E. coli*, SCN et Entérobactéries; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

3.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne des médicaments (antiseptiques et antibiotiques) et ses effets synergique avec polyphénols sur les bactéries utilisées

3.4.1. Effet antimicrobien des médicaments (antiseptiques et antibiotiques)

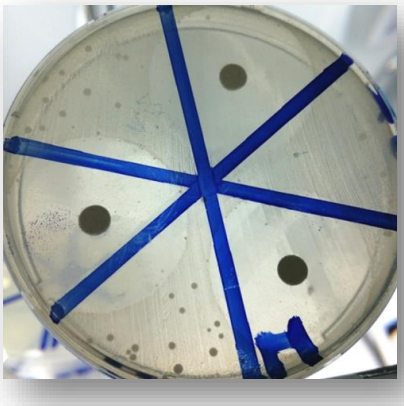
Les tests antimicrobiens des médicaments ont fait pour le but de rechercher l'activité antimicrobienne de l'antiseptique (PVI) et de chaque antibiotique (SAG, GM, AMC) vis-à-vis de différents micro-organismes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, les SCN et les Entérobactéries.

La Fig 26 montre l'apparition des zones d'inhibition suivit d'un arrêt de la croissance bactérienne selon la bactérie et le traitement utilisé (médicament).



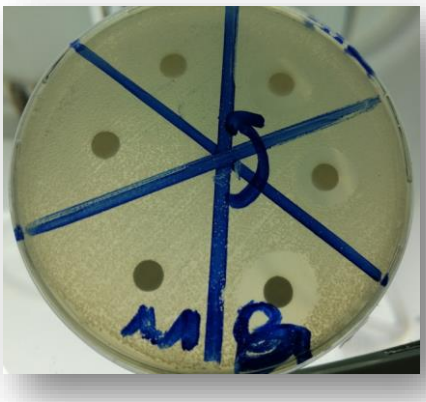
S. aureus

(B : PVI, G : GM)



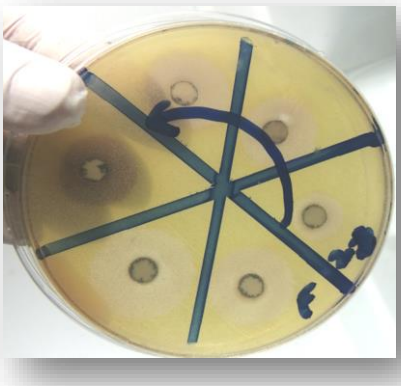
SCN

(M : AMC)



E. coli

(B : PVI)



Entérobactéries

(F : SAG)

Figure 26 : Quelques exemples de l'effet des médicaments utilisés sur les bactéries testées.

L'étude de l'effet inhibitrice de l'AMC sur les bactéries testées a permis de montrer que (**Ii)** situe en [**76.774 ± 2.111**, **83.410 ± 0.586] %** reste efficace sur les isolats étudiés. Le plus fort pouvoir inhibiteur a été attribué à l'espèce *E. coli,* presque le même effet de GM sur les quatre germes testés (Fig 27 et tableau XIV).

Pour PVI et SAG, ses effets inhibitrices sont presque les mêmes pour *S. aureus* et les Entérobactéries d'une part, et d'*E. coli* et les SCN d'autre part (Fig 27 et tableau XIV).

Tableau XIV : Activité antimicrobienne du traitement par médicaments (antiseptiques et antibiotiques) sur les bactéries testées; les différentes moyennes sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		PVI	SAG	GM	AMC
S. aureus	**Ii (%)**	**71.875** ±7.124	**79.310** ±1.014	**82.857** ±2.029	**82.692** ±3.099
SCN	**Ii (%)**	**55** ±3.260	**52.632** ±5.943	**84.348** ±5.856	**83.256** ±1.549
Entérobactéries	**Ii (%)**	**72.519** ±1.549	**70.732** ±5.071	**81.443** ±2.342	**76.774** ±2.111
E. coli	**Ii (%)**	**59.551** ±2.111	**56.098** ±4.099	**83.019** ±1.171	**83.410** ±0.586

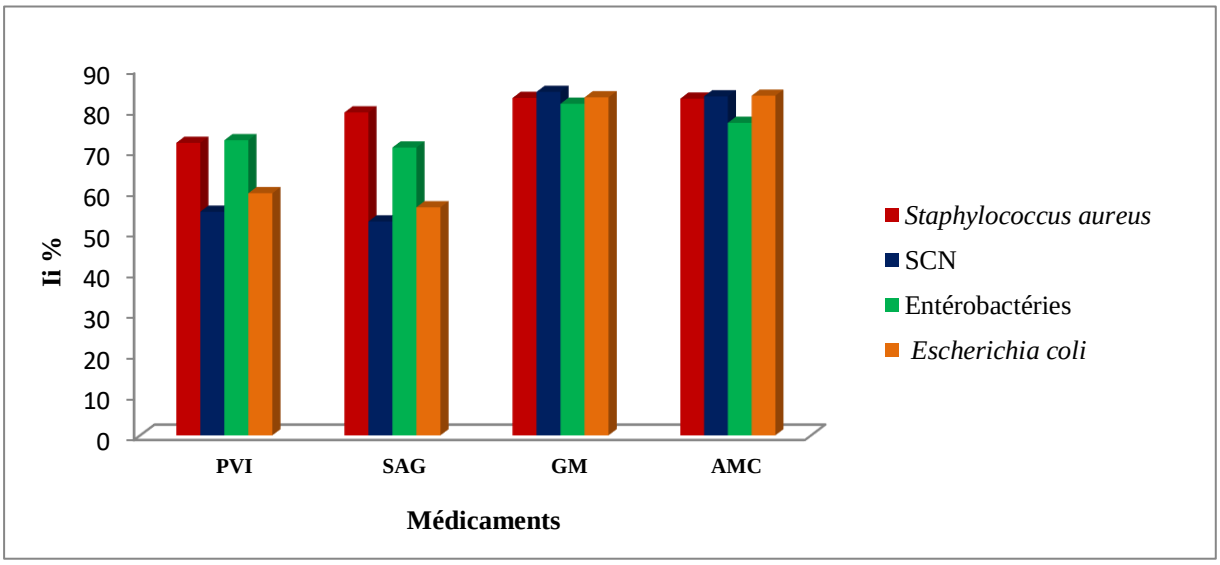


Figure 27 : Effet antimicrobien des médicaments (antiseptiques et antibiotiques) sur les bactéries : *S. aureus***,** *E. coli*, SCN et Entérobactéries; les moyennes sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

3.4.2. Effets synergique (polyphénols – médicaments) sur les bactéries utilisées

En vue de connaître si l'effet antibactérien des différents traitements (PPH et médicaments), autrement dit si les substances antibactériennes sont inhibitrices, nous avons jugé leur efficacité à la fois (effet synergique) sur les micro-organismes étudiés.

a. Effet synergique de l'extrait phénolique du sirop de la variété DN - médicaments

Les tests comparatifs des traitements *in vitro* par l'utilisation des PPH et des traitements par GM à l'égard de *S. aureus et* les SCN a permet de constater que ses souches sont fortement sensible aux traitements combinés (PPH DN + GM), mais n'ont pas de propriété synergique (tableau XV et Fig 28).

En recherchant de nouvelle potentialité des PPH DN pour l'effet antibactérien, les valeurs moyennes de (Ii) ont montré que ces essais ont révélé une inhibition de la croissance des SCN avec des pourcentages proches, qui varient de **78.824** ± **6.753** % avec PPH DN (tableau XI), **84.348 ± 5.856** % par la gentamicine (tableau XIV) et de **83.333 ± 2.029** % avec PPH DN + GM.

Pour les autres mélanges PPH DN + (PVI/ SAG/ AMC), ils n'ont pas d'effet synergique sur *S. aureus* et les SCN.

Tableau XV: Effet synergique de PPH DN – médicaments; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		PPH DN+PVI	**PPH DN+SAG**	**PPH DN+GM**	**PPH DN+AMC**
S. aureus	**Ii (%)**	**20** ±1.014	**38.983** ±3.099	**82.524** ±3.260	**79.661** ±1.014
SCN	**Ii (%)**	**44.615** ±2.342	**35.714** ±2.111	**83.333** ±2.029	**73.723** ±6.753
Entérobactéries	**Ii (%)**	/	/	/	/
E. coli	**Ii (%)**	/	/	/	/

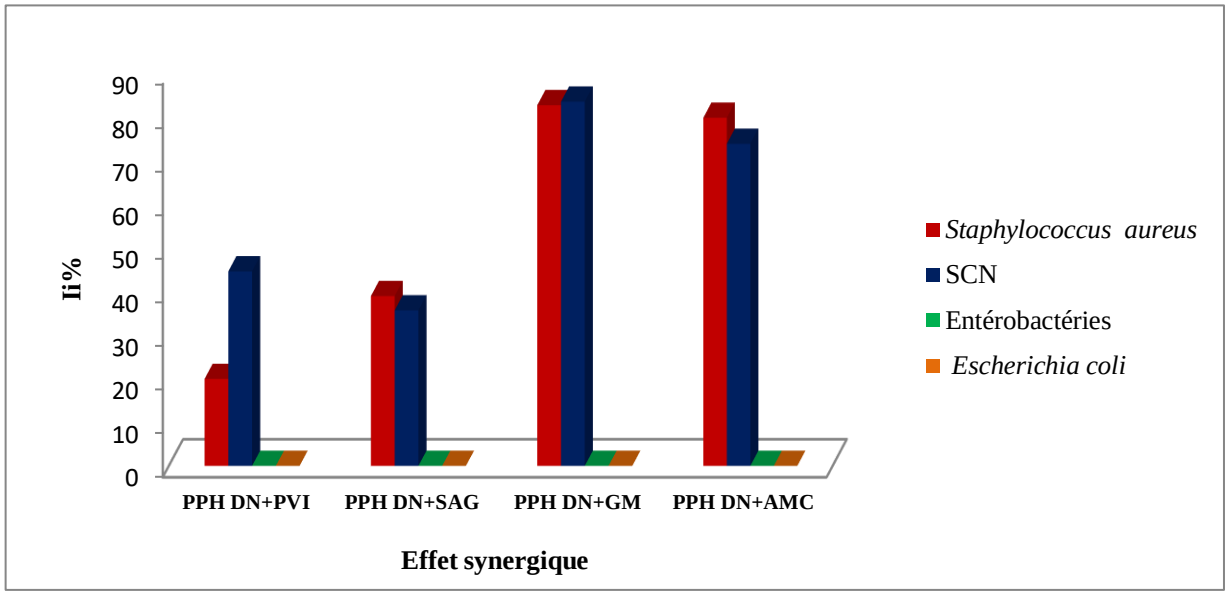


Figure 28 : Effet synergique de PPH DN - médicaments; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

b. Effet synergique de l'extrait phénolique du sirop de la variété MD - médicaments

Des valeurs proches de l'indice d'inhibition des médicaments (GM, AMC) et ses mélanges (PPH MD + GM/ AMC) ont été enregistré par les quatre germes testées, qui expliqué par un fort pouvoir inhibiteur exercé vis-à-vis de ces germes cibles (tableau XVI et Fig 29).

En comparaison entre les valeurs a été enregistrée dans le tableau XVI, l'activité antimicrobienne de PPH (MD) et les médicaments, séparément, on constaté qu'il n'y a pas d'effet synergique de PPH MD + médicaments sur les bactéries testées, sauf dans l'action PPH MD + GM sur *S. aureus* (**83.333 ± 2.029 %**) [**55 ± 1.171 %** par **C3** de PPH MD et **82.857 ± 2.029%** par la GM].

Tableau XVI: Effet synergique de PPH MD – médicaments; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		PPH MD+PVI	PPH MD+SAG	PPH MD+GM	PPH MD+AMC
S. aureus	**Ii (%)**	**58.140** ±8.861	**62.105** ±3.099	**83.333** ±2.029	**82.266** ±2.111
SCN	**Ii (%)**	**12.195** ±1.171	**29.412** ±9.677	**84.141** ±5.205	**75.676** ±0.586
Entérobactéries	**Ii (%)**	**42.857** ±3.043	**40.984** ±0.586	**80.749** ±2.928	**67.568** ±3.657
E. coli	**Ii (%)**	**36.842** ±1.757	**42.857** ±1.014	**81.152** ±6.441	**80.220** ±3.099

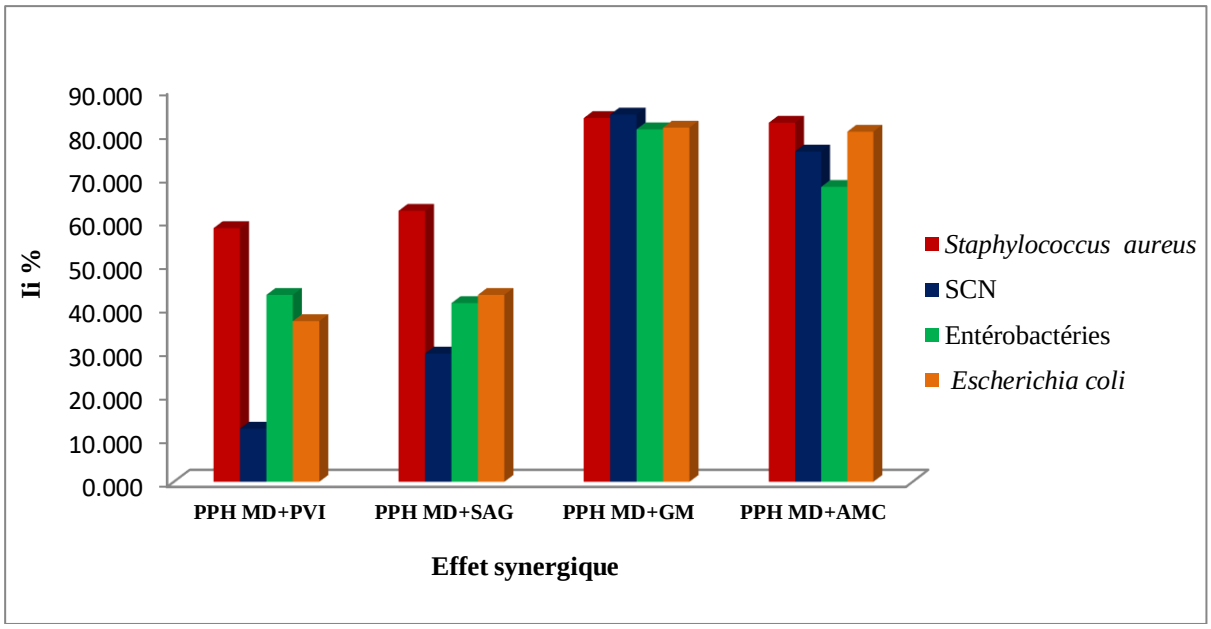


Figure 29 : Effet synergique de PPH MD – médicaments; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

c. Effet synergique de l'extrait phénolique du sirop de la variété GH - médicaments

Les tests de l'activité antibactérienne des médicaments couplés avec le PPH (GH) ont été effectuées sur les bactéries pour déterminer la sensibilité de ces bactéries sur ces molécules, les résultats obtenues dans le tableau XVII et la Fig 30 montrent que l'activité antibactérienne des différentes couples des molécules est toujours significatif par rapport a l'effet de PPH (GH) seul, à l'exception de l'action de PPH GH + (PVI/ SAG) sur les SCN et les entérobactéries, et PPH GH + PVI sur *E. coli*.

Pour l'effet synergique, selon le tableau XVII et la Fig 30, et en comparaison avec les résultats trouvés précédemment de l'action séparé de PPH GH et des médicaments sur les quatre bactéries testées, seulement la combinaison de PPH GH + GM sur *S. aureus* qu'elle a un effet presque positif [**62.5 ± 1.014 %** (PPH GH), **82.857 ± 2.029 %** (GM), **82.938 ± 2.111 %** (PPH GH+GM)].

Tableau XVII: Effet synergique de PPH GH – médicaments; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

		PPH GH+PVI	**PPH GH+SAG**	**PPH GH+GM**	**PPH GH+AMC**
S. aureus	**Ii(%)**	**63.636±** 1.014	**70±** 1.014	**82.938±** 2.111	**80.328±** 4.648
SCN	**Ii(%)**	**46.269±** 1.549	**40.984±** 2.111	**83.178±** 3.099	**80.749±** 4.574
Entérobactéries	**Ii(%)**	**32.075±** 1.549	**65.049±** 3.562	**78.947±** 1.014	**71.2±** 2.111
E. coli	**Ii(%)**	**33.333±** 2.683	**48.571±** 1.171	**80.328±** 2.683	**80.645±** 2.029

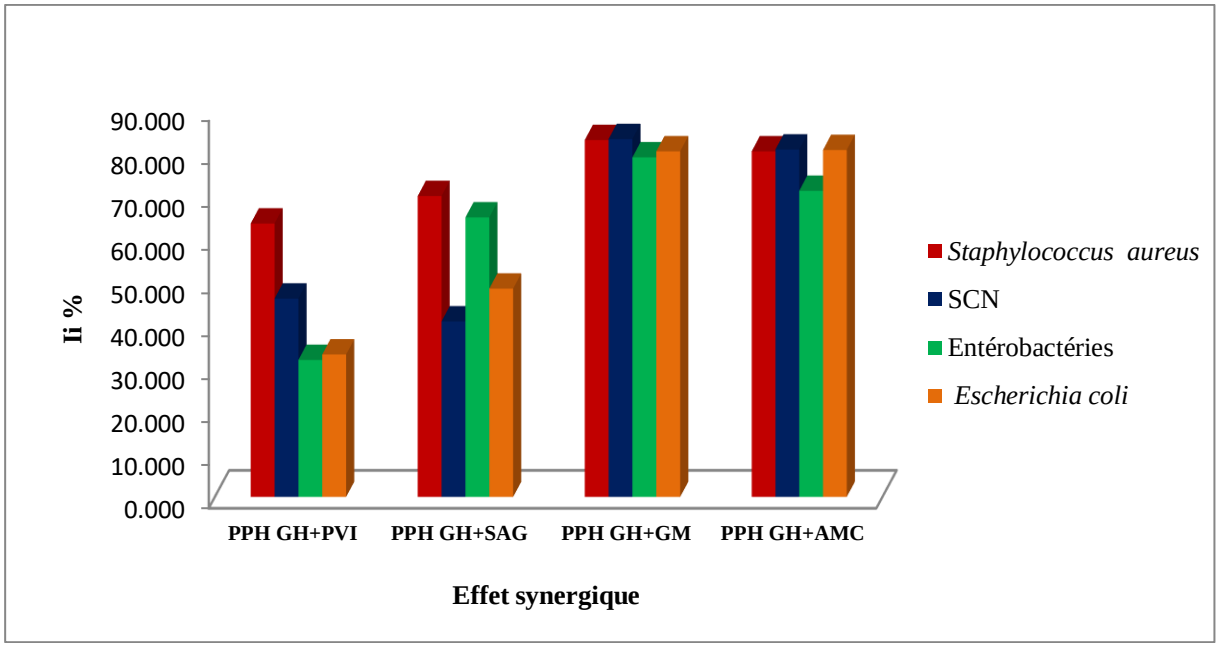


Figure 30 : Effet synergique de PPH (GH) – médicaments; les différentes moyennes de (Ii) obtenues sont calculées à partir de trois répétitions et les intervalles de confiance sont donnés à 95% (au seuil de 5%).

3.4.3. Effet antibactérien des différents traitements

A la lumière des résultats récapitulés dans les tableaux XVIII, nous pouvons conclure que le traitement antibactérien par les PPH du sirop de dattes de quelques variétés a donné, en général, à des effets positifs.

En ce qui concerne l'indice de la zone d'inhibition (Ii), on considère que lorsque **Ii > 80%**, la substance est très inhibitrice de la cible (**la bactérie est très sensible :TS**) ; lorsqu'il est > **50%**, la substance est inhibitrice (**la bactérie est sensible :S**) ; **Ii < 50%** inhibition modéré (**la bactérie est moyennement sensible :M**) ; **Ii = 0%** quand aucune zone d'inhibition n'apparaît, la substance n'a aucun effet sur le germe testé (**la bactérie est résistante :R**). Pour les PPH, on prend en considération seulement les indices d'inhibition les plus élevé de chaque PPH sur chaque microorganisme.

Tableau XVIII: Effet antibactérien des différents traitements effectués sur les bactéries testées.

Bactéries	Traitements effectués																		
	PPH			Médicaments				Effet synergique											
	PPH (DN)	PPH (MD)	PPH (GH)	PVI	SAG	GM	AMC	PPH(DN) +				PPH(MD) +				PPH (GH) +			
								PVI	SAG	GM	AMC	PVI	SAG	GM	AMC	PVI	SAG	GM	AMC
S. aureus	S	S	S	S	S	TS	TS	M	M	TS	S	S	S	TS	TS	S	S	TS	TS
SCN	S	S	TS	S	S	TS	TS	M	M	TS	S	M	M	TS	S	M	M	TS	TS
Entérobact-éries	R	S	S	S	S	TS	S	/	/	/	/	M	M	TS	S	M	S	S	S
E. coli	R	M	M	S	S	TS	TS	/	/	/	/	M	M	TS	TS	M	M	TS	TS

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les polyphénols du sirop de la datte ont été choisis car ce sont un extrait d'une plante la plus cultivée et demandée au monde, et plus particulièrement en Algérie, elle représente, à la fois, un enjeu économique et sanitaire important, et un terrain d'étude remarquable.

Ce travail de recherche apporte des nouvelles données sur l'effet que peut avoir ces polyphénols sur l'inhibition de croissance des bactéries pathogènes les plus colonisés des plaies chroniques.

Les tests de l'activité antibactérienne montre que :

- Les polyphénols de ces sirops possèdent un pouvoir inhibiteur contre tous les bactéries étudies, sauf les polyphénols de sirop de la variété Deglet-Nour qui n'exercent aucune effet inhibitrice sur Entérobactéries et *Escherichia coli*.
- L'activité antimicrobienne de ces polyphénols est variée selon ses concentrations et la bactérie testée.
- L'activité inhibitrice de tous les extraits polyphénoliques sur les SCN est mieux que celle de PVI et SAG, et presque similaire de celle de GM et AMC.
- L'effet synergique entre les polyphénols des sirops des variétés choisi et les médicaments (Septidine, Sulfadiazine, Amoclan, Gentamicine) est absent, sauf dans le cas de PPH MD et PPH GH avec GM sur *Staphylococcus aureus*.

L'étude de la pouvoir antimicrobien des polyphénols des sirops de dattes des variétés « Deglet-Nour, Mech-Deglet, Ghars », *in vitro*, nous a amené à les recommande d'utiliser comme une stratégie pour lutter et limiter la pathogéniécité des bactéries «Staphylocoques à coagulase négatif, *Staphylococcus aureus*, Entérobactéries, *Escherichia coli* », et par conséquent, à la cicatrisation des plaies chroniques dues par ces bactéries.

De ce fait, les perspectives envisagées pour cette étude sont les suivantes:

1- Application *in vivo* sous forme des pansements des extraits obtenus, pour avoir l'efficacité des polyphénols de sirops de ces trois variétés sur la cicatrisation des plaies chroniques, notamment avec l'extrait de la variété Ghars qui enregistré la meilleur activité antimicrobienne.

2- Caractérisation des biomolécules impliquées dans les effets antibactériens observés des polyphénols qui inhibent la croissance des pathogènes à l'aide d'outils moléculaires (méthodes de séparation biochimiques) tel que les techniques : HPLC, Maldi-Tof et FTIR.

3- la recherche s'il y a des effets synergiques entre les différents types des extraits polyphénoliques entre elles.

4- L'extraction des biomolécules pures à partir des extrait essentielles de palmier dattier dont le but d'obtenir les meilleurs résultats *in vitro* et de cerner l'effet de ces molécules sur l'expression de fonctions microbiennes.

5- Etude de l'activité antimicrobienne des autres traitements traditionnelle, l'extraction des molécules responsables de cette activité et la connaissance de la voie appropriée pour leurs bonnes utilisations.

6- la recherche des biomolécules qui peuvent remplacer totalement le médicament chimique, ou, au moins réduire son utilisation comme un moyen thérapeutique des maladies.

Références bibliographiques

[1] : Boulala A. (2017). Contribution à l'étude de la microflore des dattes conservées par des méthodes traditionnelles (Btana), et valorisation des dattes de faible valeur marchande. Thèse de Doctorat en biologie (Microbiologie Fondamentale et Appliquée). Université d'Oran1. Oran.

[2] : Adkhis A, Lamrani H. (2015). Etude in vitro du pouvoir antimicrobien de quelques substances d'origine végétale, animale et synthétique testées individuellement et en association. Mémoire de Master en Sciences biologiques (Microbiologie Appliquée). Université Mouloud Mammri. Tizi Ouzou.

[3] : Madani R, Seddiki R. (2019). Comparaison des differents types d'extraction de sirop de datte. Mémoire de Master en Sciences et génie de l'Environnement (Génie des procédés de l'Environnement). Université Kasdi Merbah. Ouargla.

[4] : Mégie MF. (2015). L'ABC des plaies chroniques. Le Médecin du Québec, 50(3), 25-30.

[5] : Daphne E. (2018). Effet indésirable des médicaments (effets néfaste des médicaments). Manuel MSD [En ligne]. Disponible en : https://www.msdmanuels.com/fr/professional/pharmacologie-clinique/effets-ind%C3%A9sirable-des-m%C3%A9dicaments/effets-ind%C3%A9sirables-des-m%C3%A9dicaments (consulté le 26/05/2021).

[6] : Werth BJ. (2020). Présentation des antibiotiques. Manuel MSD [En ligne]. Disponible en : https://www.msdmanuels.com/fr/acueil/infections/antibiotiques/pr%C3%A9sentation-des-antibiotiques (consulté le 26/05/2021).

[7] : Ray MC. (2017). Les antibiotiques réduiraient l'efficacité des cellules immunitaires. En futura-sciences [En ligne].Disponible sur : https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/medecine-antibiotiques-reduiraient-efficacite-cellules-immunitaires-69434/ (consulté le 26/05/2021).

[8] : Goetz A. (2016). Micobiote cutané. Monographie d'Etudes superieures spécialisées en Cosmétologie. Université du Québec à Chicoutimi. Canada.

[9] : De Serre-Bérard T. (2019). Développement d'un modèle de peau reconstruite par génie tissulaire à partir de cellules diabétiques pour l'étude des plaies chroniques cutanées.

Mémoire de Maitre ès sciences (M.SC.) en Biologie cellulaire et moléculaire. Université Laval. Québec, Canada.

[10] : Allain AA, Chopin A, Le Bihan L. (2018). La détersion des plaies chroniques par l'infirmière. Actusoins [En ligne]. Disponible sur : https://www.actusoins.com/314444/la-détersion-des-plaies-chroniques-par-infirmiere.html/ (consulté le 23/01/2021).

[11] : Masson R, Vuagnat H, Uçkay I, Toutous-Trellu L, Prendki V. (2017). Infection de plaies chroniques : particularités chez la personne âgée. Revue Médicale Suisse, ISSN: 1660-9379 [En ligne]. Disponible sur : https://www.revmed.ch/RMS/2017/RMS-N-582/Infection-de-plaies-chroniques-particularites-chez-la-personne-agee (consulté le 23/01/2021).

[12] : Di Domizio J, Pagnoni A, Huber M, Hohl D, Gilliet M. (2016). Revue Médicale Suisse. ISSN: 1660-9379 [En ligne]. Disponible sur : https://www.revmed.ch/RMS/2016/RMS-N-512/Le-microbiote-cutane-le-poids-lourd-sort-de-l-ombre (consulté le 23/01/2021).

[13] : https://www.pileje.fr/revue-sante/le-microbiote-cutane (consulté le 23/01/2021).

[14] : Filloux A, Vallet I. (2003). Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. M/S : médecine sciences, 19(1), 77-83.

[15]: Aumeran C, Balestrino D, Forestier C. (2020). Biofilms bactériens et santé. Encyclopédie de l'Environnement, ISSN : 2555-0950 [en ligne]. Disponible sur: http://www.encyclopedie-environnement.org/?p=11013(consulté le 27/05/2021).

[16]: Rose GW, Schultz G. (2012). Les biofilms : une énigme clinique Reconnaissance et prise en charge des plaies recouvertes d'un biofilm. Soins des plaies Canada, 10(1), 39-40.

[17] : https://www.hartmann.info/fr-be/articles/6/5/management-of-chronic-wounds (consulté le 25/01/2021)

[18] :https://www.bbraun.ch/fr/produkte-und-therapien/wundmanagement/chronische-wunden.html (consulté le 23/01/2021).

[19] : Arfa D. (2008). Suivi des caractéristiques microbiologiques et physico-chimiques des jus des dattes conservés par irradiation Gamma. Rapport de projet de fin d'étude en technicien supérieur en industries agro-alimentaires. Tunisie.

[20] : Elkotbi Y, Moula Yhassan M. (2018). Etude quantitative des composés phénoliques des extraits de cinq cultivars de dattes du *Phoenix dactylifera* L. Mémoire de Master en Chimie de l'environnement. Université Ahmed Draïr. Adrar.

[21] : Gheraissa T , Hamidani I. (2018). Etude de quelques caractéristiques physico-chimiques du sirop traditionnel des dattes de deux variétés (Ghars et Tinissine). Mémoire de Master en Sciences biologiques (Biochimie Appliquée). Université Hamma Lakhdar. Eloued.

[22] : Aberlenc-Bertossi F. (2010). Biotechnologies du palmier dattier. Marseille : IRD Éditions. pp. 15-22.

[23]: Benziouche S E, Cheriet F. (2012). Structure et contraintes de la filière dattes en Algérie. New Medit, N.4, p 49-57.

[24] : Djoudi I. (2013). Contribution à l'identification et à la caractérisation de quelques accessions du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans la région de Biskra. Mémoire de Magister en sciences agronomiques (Agriculture et environnement en régions arides). Université Mohamed Kheider. Biskra.

[25] : Abaibia H., Rachedi H., (2018). Caractérisation nutritionnels et morphologiques de trois variétés de dattes : Daglet-Noor, Mech-Degla, Ghars. Mémoire de Master en sciences agronomiques (Contrôle de qualité des aliments). Université Abdelhamid ibn Badis. Mostaganem.

[26] : Lakhdari F, Dakhia N, Benahmed K, Belguedj N, Elbar D. (2016). Orientations pour une meilleure conservation des dattes : Choix de l'emballage et de la température de stockage. Guide de bonnes pratiques. Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides Omar El-Bernaoui (C.R.S.T.R.A). Biskra.

[27] : Benahmed Djilali A. (2012). Analyse des aptitudes technologiques de poudres de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés rhéologiques, nutritionnelles et antibactériennes. Thèse de Doctorat en Génie des procédés (Technologie alimentaire). Université M'hamed BOUGARA. Boumerdes.

[28] : Slimani A, Harma M. (2018). Valorisation des différents produits secondaires des dattes cas de la wilaya d'ADRAR. Mémoire de Master en Sciences agronomiques (Systèmes de Production Agro-écologiques). Université Ahmed Draïr. Adrar.

[29] : Estanove P. (1990). Note technique : Valorisation de la datte. CIHEAM. OMA (11), p 301-318.

[30] : Ulrich M. (2013). Valorisation des dattes non comestibles en Algérie. GIZ/AFC Symposium «Valorisation des fruits dans les boissons». Algérie.

[31] : Boutouta A, Amroune O. (2016). Possibilité de fabrication d'un jus naturel diététique à base de sirop de datte et jus de grenade et détermination de sa qualité. Mémoire de Master en Sciences Biologiques (Qualité des produits et sécurité alimentaire). Université LARBI Tébessi. Tebessa.

[32] : Boucouka E. (2016). Extration des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes. Thèse de Doctorat en science (Phytochimie). Université BADJI MOKHTAR. Annaba.

[33] : Ghanemi F, Haggani L. (2017). Effet de séchage au micro-onde et à l'étuve sur la composition phénolique et l'activité antioxydante de *Pistacia lentiscus* L. Mémoire de Master en Sciences biologiques (Bioprocédés et technologie alimentaire). Université A.MIRA. Bejaia.

[34] : Pernin A. (2018). Action antioxydante et antimicrobienne de composés phénoliques dans les milieux modèles et des émulsions riches en lipides insaturés. Thèse de Doctorat en Génie des Aliments. Université Paris-Saclay. France.

[35] : Gaudin T. (2003). Etude de la colonisation bactérienne des ulcères des membres inférieurs en relation avec une technique de décontamination par laser CO_2. Thèse de Doctorat en Medecine. Université de Genève. Suisse.

[36] : https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/staphylocoque-dore (consulté le 01 / 02 / 2021).

[37] :http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.3.html (consulté le 31/03/2021).

[38] : Deberghes P. (1995). Contribution à l'étude de l'écologie des Enterobacteriaceae dans des unités de fabrication de Poudre de Lait. Thèse de Doctorat en Sciences de la vie et de la santé. Université de Lille. France.

[39]: http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.1.5.html (consulté le 09/02/2021).

[40] : Bessas A. (2008). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie (Contrôle de qualité et analyses). Université Djillali Liabes. Sidi Bel Abbes. [En ligne]. Disponible sur : https://www.memoireonline.com/07/08/1340/dosage-biochimique-composes-phenoliques-datte-miel-sud-algerie.htm (consulté le 26/01/2021).

[41] : Bouegou S, Serairi Beji R, Medini F, Ksouri R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 28(12): 1649-1655.

[42]: Taleb H, E.Maddocks S, Keith Mourris R, D.Kanekanian A. (2016). The antibacterial activity of date syrup polyphenols against S.aureus and E.coli. Frontiers in Microbiology, 7:198.

[43] : https://www.lachimie.fr/definitions/calcul-rendement.php (consulté le 26/01/2021).

[44] :https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/zoologie-synergie-9493/(consulté le 19/05/2021).

[45] :https://www.pharma-gdd.com/fr/betadine-dermique-10-125-ml(consulté le 09/02/2021).

[46] :https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/sulfamides-antibacteriens (consulté le 09/02/2021).

[47] : Pierre Allain. Acide folique. Pharmacorama [En ligne], [s.l.]. Disponible sur : https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-vitamines/acide-folique/ (consulté le 09/02/2021).

[48] :https://www.vidal.fr/medicaments/substances/sulfadiazine-argentique-3383.html (consulté le 09/02/2021).

[49] :https://www.vidal.fr/medicaments/substances/gentamicine-1610.html (consulté le 09/02/2021).

[50] :http://basedonneespublique.medicaments.gov.fr/affichageDoc.php?specid=63750773&typedoc=R#:~:text=L'acide%20clavulanique%20est%20une,un%20effet%20antibact%C3%A9rien%20cliniquement%20pertinent. (consulté le 03/04/2021).

[51] : Rahmouni K. (2019). Activité microbienne des extraits de datte des trois variétés de palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. de région de Boussaada. Mémoire de Master en Sciences biologiques (Biodiversité et physiologie végétal). Université MOHAMED BOUDIAF. M'sila.

Annexes

Annexe I (Réactifs chimiques)

- Huile d'immersion.
- Eau oxygénée (H_2O_2).

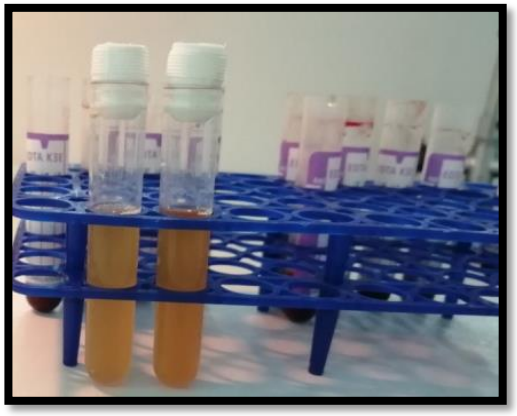
- Acétone (C_3H_6O).



- Violet de gentiane.
- Lugol.
- Rose de fuchsine.
- Alcool 90% [Ethanol (C_2H_6O)].



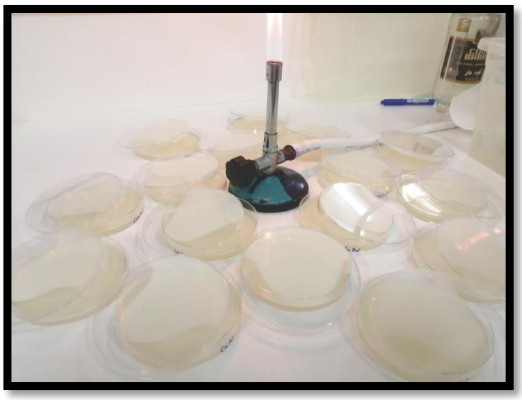
- Eosine.	
- Eau distillée stérile.	**a. Composition** -500mL d'au distillée. **b. Préparation** 1. 500 ml d'eau distillée 2. Autoclavage (121°c pendant 15 min)
- Eau physiologique stérile.	**a. Composition** - 2.5 g de NaCl. -500 mL Eau distillée. **b. Préparation** 1. Peser 2.5g de Na Cl 2. Ajouter le sel à 500ml d'eau 3. Agitation 4. Autoclavage (121°c pendant 15 min)

- Plasma de sang.	
- Polyvidone iodée 10% - Sulfadiazine argentique 1% - Gentamicine (80mg/2ml)	
- Amoxicilline/acide clavulanique (1g/125mg).	

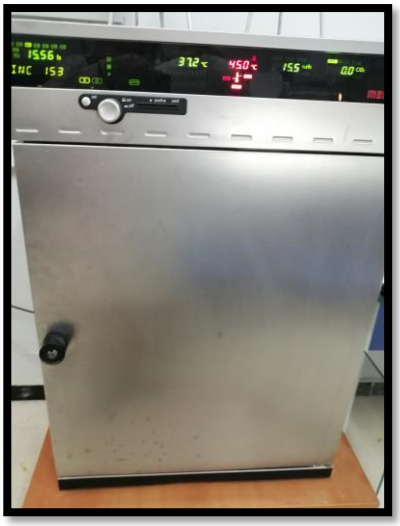
Annexe II (Milieux de cultures)

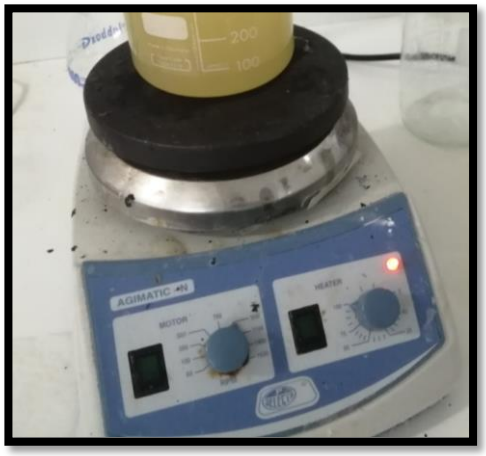
Ingrédients pour 1000mL d'eau distillée	Préparation
Gélose Chapman ou Mannitol salt agar - Peptone (10g). - Extrait de bœuf (1g). - Chlorure de sodium (75g). - Mannitol (10g). - Rouge de phénol (0.025g). - Agar-agar (15g). - pH = 7.4 ± 0.2	1. peser 5.55g de gélose. 2. Verser la poudre dans 50ml d'eau distillée. 3. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. 4. Stériliser à l'autoclave (121°C / 15min). 5. Laisser refroidir jusqu'à 50 - 45°C. 6. Couler les boites de pétri devant le bec benzène. Les boîtes de Pétri ainsi préparées doivent être conservées à 2-8°C.
Gélose Baird-Parker (BP) - Tryptone (10g). - Extrait de bœuf (5g). - Extrait de levure (1g). - Chlorure de lithium (5g). - Glycine (12g). - Pyruvate de sodium (10g). - Tellurite de potassium (0.1g). - Agar-agar (20g). - Emulsion de jaune d'œuf (50mL). - Eau distillée (1000mL). - pH = 6.8 ± 0.3	1. peser 3g de gélose. 2. Verser la poudre dans 50ml d'eau distillée. 3. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. 4. Stériliser à l'autoclave (121°C / 15min). 5. Laisser refroidir jusqu'à 50 - 45°C. 6. Couler les boites de pétri devant le bec benzène. Les boîtes de Pétri ainsi préparées doivent être conservées à 2-8°C.

Violet red bile glucose agar (VRBG) - Peptone (20g). - Lactose (10g). - Chlorure de sodium (5g). - Sels biliaires n°3 (1g). - Cristal violet (0.001g). - Rouge neutre (0.05g). - Agar-agar (15g). - Eau distillée (1000mL). - pH = 7.1	1. Peser 2.075g de gélose. 2. Verser la poudre dans 50ml d'eau distillée. 3. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. 4. Stériliser à l'autoclave (121°C / 15min). 5. Laisser refroidir jusqu'à 50 - 45°C. 6. Couler les boites de pétri devant le bec benzène. Les boîtes de Pétri ainsi préparées doivent être conservées à 2-8°C.
Violet red bile lactose agar (VRBL) - Peptone (7g). - Extrait de levure (3g). - Lactose (10g). - Chlorure de sodium (5g). - Sels biliaires N°3 (1.5g). - Cristal violet (0.002g). - Rouge neuter (0.03g). - Agar-agar (15g). - Eau distillée (1000mL). - pH = 7.4 ± 0.2	1. peser 2.075g de gélose. 2. Verser la poudre dans 50ml d'eau distillée. 3. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. 4. Stériliser à l'autoclave (121°C / 15min). 5. Laisser refroidir jusqu'à 50 - 45°C. 6. Couler les boites de pétri devant le bec benzène. Les boîtes de Pétri ainsi préparées doivent être conservées à 2-8°C.

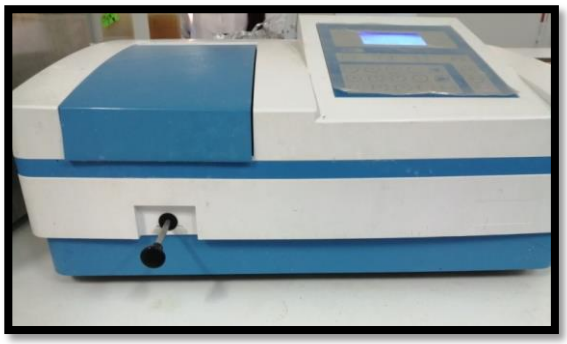
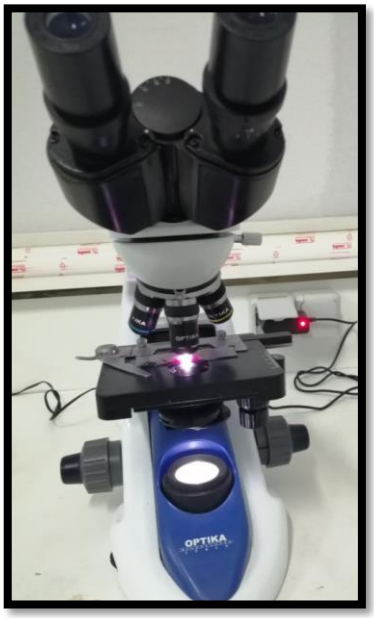
Gélose Nutritive (GN) - Tryptone (6 g). - Extrait de viande (1 g). - Extrait de levure (2 g). - Chlorure de sodium (5 g). - Agar-agar (12 g). - Eau distillée (1000 mL). - pH = 7.3 ± 0.2	1. peser 84g de gélose. 2. Verser la poudre dans trois litre d'eau distillée. 3. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. 4. Stériliser à l'autoclave (121°C / 15min). 5. Laisser refroidir jusqu'à 50 - 45°C. 6. Couler les boites de pétri devant le bec benzène (la photo en dessous). Les boîtes de Pétri ainsi préparées doivent être conservées à 2-8°C. 

Annexe III (Appareillage)

Instruments	Utilisation	Type d'appareillage
Plaque chauffante	Extraction de sirop de datte.	
Balance de précision	Pesage des géloses et réactifs.	
Etuve	Incubation des cultures de micro-organismes.	

Agitateur magnétique chauffant	Agitation, fonte et homogénéisation.	
Agitateur magnétique de type vortex	Agitation et homogénéisation.	
Bain marie	décongélation des milieux de culture.	

Autoclave	stérilisation á la vapeur d'eau des milieux de cultures, des quelques réactifs et matériels.	
Rota vapeur	Evaporation de la mélange hydro-acétonique.	
Réfrigérateur	conservation des polyphénols, des souches, des réactifs et des milieux de cultures.	

Spectrophotomètre	Lecture de la densité optique des suspensions.	
Microscope optique	Observation des micro-organismes (Gram et examen d'état frais).	
Lampe loupe	Observation des zones d'inhibition.	

Annexe IV

- Le diamètre (mm) : $\boldsymbol{D = \frac{d1+d2}{2}}$
- La moyenne (mm) : $\boldsymbol{\bar{x} = \frac{D1+D2+D3}{3}}$
- L'Indice d'inhibition (%) : $\boldsymbol{Ii = \frac{\bar{x}-6}{\bar{x}} \times 100}$
- L'Intervalle de confiance : **Ic = [x-ε, x+ε]**
- L'erreur standard : $\boldsymbol{\varepsilon = t\alpha \times \frac{\sigma}{\sqrt{n}}}$ / n=3, α=0.05, xi=D
- L'écart type : $\boldsymbol{\sigma = \sqrt{\frac{\sum(xi-x)^2}{n}}}$

Table statistique de t

La table donne la probabilité **P** pour que **t** égale ou dépasse, en valeur absolue, une valeur donnée, en fonction du nombre de degrés de liberté (**d.d.l**.).

P ddl	0.90	0.50	0.30	0.20	0.10	**0.05** ↓	0.02	0.01	0.001
1	0.158	1.000	1.963	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	636.619
2	0.142	0.816	1.386	1.886	2.920	**4.303**	6.965	9.925	31.598
3	0.137	0.765	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.924
4	0.134	0.741	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	0.132	0.727	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.869