

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Option : Biotechnologie microbienne



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de l'activité antibactérienne des
alcaloïdes d'un mélange de
*Phoenix dactylifera et Matricaria pubesens***

Présenté par :

Allaoua Narimane & Lamriben Hafsa

Soutenu le : 22 - 06 - 2017

Devant le jury composé de :

Mr Nouri Hamid	M.C.B	Président
Mme Zenati Karima	M.A.A	Examinatrice
Mr Amir Nadir	M.C.B	Promoteur
Mme Amir Hassiba	M.C.B	Co-promotrice

Année universitaire : 2016-2017

Remerciements

Nos remerciements les plus chaleureux, s'adressent à notre cher promoteur Mr AMIR, d'avoir accepté de nous encadrer. C'est un grand honneur pour nous d'être sous votre chaperonnage, toute notre gratitude, Monsieur, pour votre rigueur scientifique et vos conseils toujours judicieux ainsi que pour votre confiance, merci de nous avoir mis dans un environnement adéquat pour l'aboutissement de ce modeste travail dans de bonnes conditions.

A notre co-promotrice Mme AMIR pour votre soutien et vos encouragements, pour votre gentillesse et pour le savoir que vous nous avez transmis.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à Mlle AMIR pour votre présence à nos côtés et l'aide que vous avez portée afin d'accomplir à bien notre travail.

Nos remercions vivement Mr NOURI et Mme ZENATI les membres du jury d'avoir examiné notre travail.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance à Mr BOUCHENOUA F., Mme RAHMANI D., Mme Yahyaoui S., Hassaini S et Mammasse H, pour leur gentillesse et leur aide précieuse durant notre travail au laboratoire.

Enfin, on tient à remercier, tout ceux et celles qui ont apporté aide ou soutien, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.

Je dédie ce travail ;

À MES CHERS PARENTS AUX PRUNELLES DE MES YEUX

Maman, Papa je ne saurais vous remercier pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mes premiers pas dans la vie jusqu'au jour d'aujourd'hui pour vos sacrifices et pour la confiance que vous me portez. J'espère être à la hauteur de vos attentes. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À MES ANGES GARDIENS,

Mes supers frères Sofian, Nafaa et Ghilas, je vous aime très fort. À mes sœurs adorées Samra, Kenza et Ronaida les chandelles qui illuminent ma vie. J'espère être pour vous un bon exemple de grande sœur. À ma belle sœur Lamou à qui je souhaite la bienvenue au sein de notre famille.

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

À MES CHERS ONCLES YUCEF ET MOUHAND ET LEURS EPOUSES

Je porte pour vous un amour d'une fille à ces parents, merci de me considérer comme telle et à MES DEUX TANTES FARJDA ET HAKIMA.

À MES TRÈS CHERS COUSINS ET COUSINES

Soraya, Sabiha et Kahina et leurs époux, Linda, Faiza et Meryam ; à Massi, Redouane, Juba et Missa. Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous. Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.

À mes tantes Nora et Djedfiga

Vous avez une place très particulière dans mon cœur. À leurs enfants : mouloud et Seltana j'aurai aimé votre présence en ce jour, à Syphax et à Yanis.

À MES GRANDS-MÈRES LOUIZA ET HALIMA

Qui m'ont accompagnée par leurs prières, leurs douceur, puisse Dieu leur prête longue vie et beaucoup de santé et de bonheur.

À la MEMOIRE DE MES GRAND-PÈRES

J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.

À MES AMIS DE TOUJOURS

Moumouh, Tamazighth, Amir, Hanane, Walid, Samir ET Zahir que je respecte. En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Une dédicace spéciale pour la personne avec qui l'élaboration de ce travail était une vraie partie de plaisir à mon adorable binôme et amie. A toi Narimane.

HAFSA

Je dédie cet humble travail :

A MES TRÈS CHERS PARENTS, les deux perles irremplaçables de ma vie

Pour vos mains qui ont tant travaillées ; pour votre amour qui m'a toujours bercée ; pour vos yeux qui furent parfois mouillés. Que ce travail soit le fruit de vos sacrifices tant donnés et l'achèvement tant espéré.

Puisse dieu Tous puissant leur accorder grâce et bénédiction et une longue vie pleine de santé.

A MES FRÈRES ET SŒURS, les vedettes du théâtre de ma vie

Rédha, Adlène, Selma, Lydia, Younes et Mellissa.

Pour leur participation à mon équilibre par leur présence et leur encouragement.

En témoignage de l'attachement et l'affection que je porte pour vous, je vous fais les vœux d'une vie pleine bonheur et de réussite.

Malgré les joies, les tristesses et toutes les péripéties de la vie, la famille reste le sanctuaire où l'on peut se ressourcer

Je vous aime très fort.

A TOUS MES ONCLES AINSI QU'À LEURS ÉPOUSES

A MES DEUX TANTES HMAMA ET LILA

Qui malgré la distance, m'ont toujours soutenue et ont cru en moi.

A MA CHÈRE GRAND-MÈRE

Ta bénédiction et tes prières m'ont été d'un grand secours pour arriver là où je suis aujourd'hui.

AUX MAMANS DE NIHAD, HOURIA, SAFA Et MOHAMED

Vous comptez comme une deuxième famille pour moi. Que dieu vous bénisse.

A mon inséparable AMIE et BINOME HAFSA

Tant de partages, de fous rires et de bons moments passés en ta compagnie. Que dieu te guide vers de nouvelles réussites dans la vie et te comble de bonheur.

Narimane

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

I. Antibiotiques	3
I.1 Résistance aux antibiotiques	3
II. Alcaloïdes	4
II.1 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes	5
II.2 Utilité et usages pharmacologiques des alcaloïdes	5
II.3 Propriétés antibactériennes des alcaloïdes	6
III. Présentation de <i>Matricaria pubescens</i>	6
III.1 Description morphologique et répartition géographique	6
III.2 Noms vernaculaires	7
III.3 Classification de <i>Matricaria pubescens</i>	7
III.4 Utilisation pharmacologique de <i>Matricaria pubescens</i>	8
III.5 Composition chimique de <i>Matricaria pubescens</i>	8
IV. Généralités sur les palmiers dattiers	8
IV.1 Palmier dattier en Algérie	8
IV.2 Description morphologique de <i>Phoenix dactylifera L</i>	9
IV.3 Nomenclature	9
IV.4 Classification de <i>Phoenix dactylifera L</i>	9
IV.5 Composition chimique de <i>Phoenix dactylifera L</i>	10
IV.6 Utilisation des fruits de <i>Phoenix dactylifera L</i>	10

Matériels et méthodes

I. Préparation du matériel végétal	11
II. Extraction des alcaloïdes totaux	11

II.1 Extraction par soxhlet avec le méthanol	11
III. Détermination du taux d'extraction.....	12
IV. Test phytochimique.....	12
V. Détermination de l'activité antibactérienne	12
V.1 Souches bactériennes utilisées.....	12
V.2 Préparation de la suspension bactérienne	13
V.3 Aromatogramme.....	13
V.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	13
V.5 Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique	14
V.6 Etude de la synergie entre extraits et antibiotiques	14

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction	15
II. Détermination de l'activité antibactérienne.....	17
II.1 Aromatogramme.....	17
II.2 Concentration minimale inhibitrice (CMI)	23
II.3 Etude de l'activité bactéricide ou bactériostatique.....	24
II.4 Etude de la synergie entre extraits et antibiotiques	25
Conclusion.....	29
Références bibliographiques	30
Annexes	

AMC : Amoxyclave.

AMK : Amikacine.

ATCC : American Type Culture Collection.

CAZ : Ceftazidime.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

GM : Gentamicine.

LEM : Laboratoire d'Ecologie microbienne.

MH: Gélose Muller-Hinton.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

TSA : Trypticase Soja Agar.

UFC : Unité formant colonies.

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Photographie de <i>Matricaria pubescens</i> .	07
2	photographies de grappes de dattes (<i>Phœnix dactylifera L.</i>).	09
3	Résultats du test phytochimique par le réactif de Dragendorff.	16
4	Taux d'extraction en alcaloïdes de <i>Matricaria pubescens</i> , <i>Phoenix dactylifera</i> et du mélange par méthanol.	16
5	Activité antibactérienne des extraits de <i>M.pubescens</i> , <i>P.dactylifera</i> et du mélange sur la souche SARM ATCC 43330.	19
6	Activité antibactérienne des extraits de <i>M. pubescens</i> , <i>P. dactylifera</i> et du mélange sur la souche <i>S. aureus</i> ATCC25923.	20
7	Activité antibactérienne des extraits de <i>M.pubescens</i> , <i>P.dactylifera</i> et du mélange sur la souche <i>E.coli</i> ATCC 25922.	21
8	Synergie entre les extraits et AMC (A) ; GM (B) ; AMK (C) et CAZ (D) sur la souche <i>E. coli</i> 25922.	26

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Activité antibactérienne des extraits de <i>Matricaria pubescens</i> , <i>Phoenix dactilyfera</i> et leur mélange.	18
II	Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) mg/ml.	23
III	Résultats du test de l'effet bactéricide ou bactériostatique.	24
IV	Résultats de l'antibiogramme sur les souches <i>E. coli</i> , <i>S.aureus</i> et SARM.	25
V	résultats des synergies extraits /antibiotiques sur <i>E. coli</i> 25922 (mm).	26
VI	Résultats des synergies extraits /antibiotiques sur <i>S. aureus</i> ATCC25923.	27
VII	Résultats des synergies extraits /antibiotiques sur SARM ATCC43300.	27

Introduction

Dans le Sahara algérien, la population est dispersée et une partie de cette dernière reste nomade. Les structures sanitaires ne sont pas très efficaces. Cependant, la population a recourt au savoir ancestral des remèdes de tous les jours (Hammiche et *al.*, 2006).

L'histoire de la médecine à base de plantes a été connue depuis l'antiquité. Presque toutes les cultures et civilisations de l'antiquité à ce jour, ont dépendu totalement ou partiellement de la phytothérapie pour son efficacité, son coût abordable, sa disponibilité, sa faible toxicité ainsi (Akharaiyi et *al.*, 2010).

Les plantes médicinales représentent une riche source d'antimicrobiens et d'antioxydants. Un certain nombre de plantes médicinales ont été consacrées pour traiter différentes maladies chez l'homme et les animaux (Siddiqui et *al.*, 2010) ; ceci est dû à la présence de molécules bioactives. Parmi ces composés bioactifs on trouve les alcaloïdes et les composés phénoliques (Hota et *al.*, 2007). Les plantes ont été utilisées d'abord sur une base folklorique et plus tard développées de manière scientifique en unique agent médicamenteux (Shuvanich et *al.*, 2012).

Les infections dues à des agents pathogènes à résistance multiple sont compliquées à traiter en raison des facteurs de virulence et d'un choix relativement limité des agents antimicrobiens. Ainsi, il est extrêmement important de trouver de nouveaux antimicrobiens qui sont efficaces pour le traitement des maladies infectieuses causées par des microorganismes résistant aux antibiotiques (Aiyegoro et *al.*, 2011). Une des possibilités est de combiner des antibiotiques avec des adjuvants ou des antimicrobiens choisis dans le réservoir des composés bioactifs dans la nature (Bush et *al.*, 2011).

Matricaria pubescens fait partie des plantes les plus utilisées en médecine traditionnelle dans le nord du Sahara, elle est mentionnée dans les enquêtes ethnobotaniques menées par Maiza, (1996) et Ould El Hadj, (2003) en Algérie. Cette plante endémique est très répandue dans le sud-ouest de l'Algérie.

Les dattes (*Phoenix dactylifera*) représentent un repas essentiel dans certaines régions arabes (Miller et *al.*, 2003 ; Al-Qarawi et *al.*, 2003). Ces fruits ont une place importante dans la religion ; ils sont utilisés pour rompre la journée de jeûne pendant le mois sacré du Ramadan en Islam. Pour les juifs, c'est l'un des sept fruits saints dans le monde (Baliga et *al.*, 2011 ; Ahmed et *al.*, 2016).

Dans certaines régions du Sahara, les dattes sont associées à d'autres plantes à valeur thérapeutique et la préparation est ainsi destinée pour le traitement de maux comme la toux, les allergies et les maladies infectieuses.

Le but de cette présente étude est d'explorer les remèdes traditionnels et les pratiques basées sur le savoir ancestral des populations sahariennes. On s'intéresse au mélange de dattes Deglet Nour (*Phoenix dactylifera L.*) et de la plante médicinale *Matricaria pubescens*, qui est une étude jamais entreprise.

L'étude est axée sur une synthèse bibliographique renfermant l'essentiel des informations sur le sujet et une étude expérimentale suivi des résultats et de leur discussion. Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- ✓ Extraction des alcaloïdes totaux à partir de *M.pubescens*, des dattes, ainsi que de leur mélange.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des puits de l'extrait méthanolique de *M .pubescens*, des dattes et du mélange sur diverses souches.
- ✓ La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ainsi que l'activité bactéricide ou bactériostatique.
- ✓ La détermination de la synergie entre les extraits et des antibiotiques.

Synthèse bibliographique

I. Antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique formée comme sous-produit métabolique dans les bactéries ou les champignons, qui tue (effet bactéricide) ou inhibe (effet bactériostatique) la croissance des bactéries, sans avoir un effet néfaste sur les cellules de l'hôte. Les antibiotiques appartiennent au groupe de composés antimicrobiens utilisés pour traiter les infections causées par des microorganismes, y compris les champignons ou les protozoaires.

Les antibiotiques peuvent être produits naturellement à l'aide de microorganismes ou synthétiquement dans les laboratoires (Chaudhary et *al.*, 2004 ; Meyer et *al.*, 2004) et peuvent être classés selon l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (Yala et *al.*, 2004).

Les antibiotiques agissent à de faibles concentrations et interagissent d'une manière spécifique au niveau d'une structure, d'une voie métabolique ou d'une enzyme, perturbant de ce fait la vitalité et inhibent la croissance microbienne (Meyer et *al.*, 2004).

I.1. Résistance aux antibiotiques

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. La résistance antibactérienne peut être atteinte à travers des mécanismes intrinsèques ou acquis. Les mécanismes intrinsèques sont spécifiés par les phénomènes naturels des gènes trouvés sur le chromosome de l'hôte (mutations chromosomiques). Les mécanismes acquis impliquent des mutations dans les gènes ciblés par l'antibiotique et le transfert des déterminants de la résistance (éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons)). Ces résistances peuvent conduire à une diminution du nombre d'options thérapeutiques, voire être à l'origine d'échecs thérapeutiques (Aleksun et Levy, 2007 ; Kempf et Zeitouni, 2012).

La résistance chromosomique ne concerne qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotiques. Les résistances plasmidiques peuvent concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant une multirésistance, et sont les plus répandues. Le transfert de mécanismes de résistance peut survenir d'une souche à l'autre ou d'une espèce à l'autre (Meyer et *al.*, 2004 ; Madhavan et Murali, 2011). Dans ce scénario, un sous-ensemble de cellules bactériennes dérivées d'une population sensible développe des mutations dans les gènes qui affectent l'activité du médicament, ce qui entraîne une survie cellulaire préservée dans la présence de la molécule antimicrobienne en modifiant la cible antimicrobienne, en diminuant l'absorption du médicament ou par

l'activation de l'efflux, mécanismes pour extruder la molécule nocive (Munita et Arias, 2016).

II. Alcaloïdes

Le terme «alcaloïde» a d'abord été mentionné en 1819 par W. Meissner. Il a observé que ces composés sont apparus "comme alkalis", et il les a donc nommés alcaloïdes (Clayden et *al.*, 2001). La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910 : un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins alcaline (de l'Arabe al kaly qui signifie soude, et du Grec eidos qui signifie aspect) (Bruneton, 1995). Les alcaloïdes sont doués de propriétés physicochimiques prononcées même à faible dose (Bruneton 1999 ; Zenk et Juenger, 2007).

Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques, la plupart du temps à partir des acides aminés tels que la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (Harborne, 1995 ; Dewick , 2001 ; Bhat ; 2005). Quelques structures sont relativement simples, par contre d'autres sont complexes.

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines (Krief, 2003).

Les alcaloïdes sont divisés en trois genres :

- ❖ **Les alcaloïdes vrais** qui dérivent de l'acide aminé partagent un cycle hétérocyclique avec l'azote. Ils sont en nombre limité d'espèces et de familles. Ces alcaloïdes sont des substances hautement réactives à activité biologique même à faible dose. La plupart sont des substances cristallines bien définies qui s'unissent avec des acides pour former des sels. Ils sont présents dans les plantes soit sous forme libre, de sels ou de N-oxyde (Aniszewski, 2007).

- ❖ **Les pseudo-alcaloïdes** qui présentent le plus souvent les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas dérivés des acides aminés. Les alcaloïdes stéroïdaux et les purines sont les représentants principaux de cette classe d'alcaloïdes. Il s'agit, dans la majorité des cas connus, de dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate.
- ❖ **Les proto-alcaloïdes** qui sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés. Ils sont souvent appelés «amines biologiques» et sont solubles dans l'eau (Bruneton 1999 ; Bruneton 2009 ; Maldonado 2012).

II.1. Propriétés physicochimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances azotées avec des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire (nicotine, sparténite, coniine) ; celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont normalement des solides cristallisables, rarement colorés. Ces derniers dévient la lumière polarisée et ont des points de fusion nets, sans décomposition et surtout au dessous de 200 °C. Les alcaloïdes bases, sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, solubles dans les alcools de titre élevé. La basicité des alcaloïdes est très variable, étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Des groupements électro-attracteurs adjacents à l'atome d'azote diminuent la basicité, des groupements électro-donneurs l'exaltent. La basicité est également influencée par des contraintes stériques, elle est un facteur d'instabilité pour ces molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière, à l'oxygène. (Bruneton, 2009).

II.2. Utilité et usages pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont recherchés pour leurs effets physiologiques constituant ainsi des substances particulièrement intéressantes pour les activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés.

Les différentes propriétés confèrent aux plantes alcaloïdiques une place de choix, tant traditionnelle que moderne, compte tenu d'un panel d'activités thérapeutiques (Badiaga, 2011).

II.3. Propriétés antibactériennes des alcaloïdes

Les activités antibiotiques sont communes aux alcaloïdes et quelques un sont même utilisés comme antiseptiques en médecine (Cordell, 1983).

Il faut mentionner que l'activité antimicrobienne des alcaloïdes a été largement étudiée même pendant les années 1940-1980. Ces études ont rapporté près de 50 stéroïdes différents et plus de 100 isoquinolizidines, et au moins 90 alcaloïdes indole terpénoïdes pour avoir une activité antimicrobienne. La recherche a relaté une grande diversité de l'activité antimicrobienne contre les bactéries, les levures et les champignons. Dans les années 1990, les alcaloïdes les plus connus et largement utilisés étaient la berbérine et la sanguinarine, en raison de leur activité antimicrobienne (Aniszewski, 2007).

La berbérine est douée de propriétés bactériostatiques à faible dose, bactéricides à dose plus élevée, elle est active sur de nombreux germes (staphylocoques, streptocoques, salmonelles, proteus, vibrions...) (Khalid et al., 2004).

En 1998, Caron et al., ont étudié 34 alcaloïdes de type indole en utilisant 8 microorganismes différents (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*). Il a été constaté que parmi les alcaloïdes étudiés, 31 ont une activité biologique contre ces microorganismes.

En 2005, Sawyer et ses collaborateurs ont démontré que les alcaloïdes indoloquinoline, cryptolépine provoquent la lyse cellulaire et des changements morphologiques sur *Staphylococcus aureus*, mais ces effets sont peut être dus à d'autres mécanismes puisque ce composé est connu pour être un agent intercalant de l'ADN et un inhibiteur de la synthèse d'ADN par inhibition de la topoisomérase (Bonjean et al., 1998; Dassonneville et al., 2000; Lisgarten et al., 2002 ; Guittat et al., 2003; Karou et al., 2006).

Dans une étude plus récente, Özçelik et al., (2011) ont rapporté un effet antibactérien très élevé de 10 alcaloïdes différents contre des souches standard et des souches isolées. Parmi les composé testés : la yohimbine, la vincamine, la scopolamine, l'atropine et la colchicine.

III. Présentation de *Matricaria pubescens*

III.1. Description morphologique et répartition géographique

Matricaria pubescens appartenant à la famille des Asteraceae, est une petite plante spontanée et endémique très connue en Afrique du Nord. C'est une plante annuelle de 10 à 20 cm de hauteur, plus rarement atteignant 40 cm. Elle possède de nombreuses tiges couchées, minces et très peu ramifiées de couleur vert foncé. Les feuilles sont légèrement

charnues, entre 10 et 20 mm de long, profondément découpées, présentant des lobes qui se terminent par une pointe blanche. Les fleurs sont tubulaires jaunes regroupées dans des têtes discoïdes hémisphériques. Les capitules de 5 à 8 mm de diamètre sont fixés à l'extrémité des tiges. Les fruits sont des akènes équipés de Pappus favorisant sa dispersion. La floraison a lieu au printemps dans le nord du Sahara algérien, et en tout temps après la pluie dans le centre du Sahara. Cette plante est commune au Sahara septentrional (Nègre, 1962 ; Quezel et Santa, 1963 ; Ozenda, 2004).



Figure 1 : Photographie de *Matricaria pubescens* Algérie - Tassili N'Ajjer - Oued Hell
<http://etudiants.touggourt.org/flores-doued-righ.html>

III.2. Noms vernaculaires

Le nom scientifique de la matricaire, *Matricaria pubescens*, dérive du latin, *Matricaria* dérive de Matrix désignant matrice ; *pubescens* signifiant velu.

Matricaria pubescens est appelée Guertoufa à El Goléa, Ainasnis à Tassili ; par contre à Béchar, elle est appelée Ouazouza ou Guertoufa Khadra (Maiza et *al.*, 1993).

III.3. Classification de *Matricaria pubescens*

La classification botanique de *Matricaria pubescens* est décrite par Ozenda (2004) comme suit :

- Embranchement : Angiospermes ;
- Classe : Dicotylédones ;
- Ordre : Astérales ;
- Famille : Asteraceae (Compositae) ;
- Genre : *Matricaria* ;
- Espèce : *pubescens* .

III.4. Utilisation pharmacologique de *Matricaria pubescens*

Matricaria pubescens est une herbe médicinale traditionnelle très appréciée par les habitants des régions sahariennes, utilisée comme remède contre les rhumatismes, les courbatures, la toux, les allergies, les affections oculaires, la dysménorrhée, les piqûres de scorpion et les troubles gastro-intestinaux. Chez les enfants contre la rougeole, les maux liés à la dentition, la fièvre et les dermatose (Maiza et *al.*, 2011).

III.5. Composition chimique de *Matricaria pubescens*

Les études pétrochimiques sur *Matricaria pubescens* ont permis de mettre en évidence différents types de composés chimiques : tannins, flavonoïdes (flavonoïdes aglycones et flavonoïdes glycosés), alcaloïdes, saponines, terpènes, stéroïdes, cardénolides (Djellouli et *al.*, 2013) et huiles essentielles (Boutagmane et *al.*, 2011 ; Makhloufi et *al.*, 2012).

IV. Généralités sur les palmiers dattiers

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L a été décrit pour la première fois par Linné en 1734. Le nom est composé de deux mots «*Phoenix* » qui signifie dattier chez les phéniciens et *dactylifera* dérive du terme grec «*dactulos* » signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit (Djerbi, 1994).

Le palmier dattier, *Phoenix dactylifera*, est parmi les espèces les plus importantes dans la famille des palmiers (Arecaceae), qui englobe environ 200 genres et plus de 2 500 espèces (El Hadrami et El Hadrami, 2009). C'est une plante de taille moyenne 15-25 m de hauteur, se développe seul ou forme des touffes avec d'autres tiges de la même racine (Bahmanpour et *al.*, 2006). Ses feuilles sont 4-6 cm de long ayant des épines sur les pétioles et pennées avec 150 folioles de 30cm de long et 2cm de large, portées sur des couronnes de 6 à 10 m. Les fruits sont ovales et cylindriques de 3 à 7 cm de long et 2 à 7 cm de diamètre (Ahmed et *al.*, 2016).

IV.1. Palmier Dattier en Algérie

Le Sahara algérien est le plus grand désert du monde au climat très chaud et offrant ainsi l'environnement adéquat pour le développement du palmier dattier. Sa culture s'étend des frontières marocaines aux frontières tuniso-libyenne, et allant de l'atlas saharien vers l'ouest Reggane, et Djanet à l'est passant par Tamanrasset au centre (Bougeudora et *al.*, 2010). Pour une superficie de 120 830 hectares, il est seulement cultivé au niveau de 17 wilayas (Messaid, 2008).

IV.2. Description morphologique de *Phœnix dactylifera L*

La dattes est le fruit du palmier dattier qui est constituée de deux parties, une partie comestible qui est la pulpe et la deuxième partie non comestible qui est le noyau. Le fruit est composé d'un mésocarpe charnu couvert par un épicarpe mince et endocarpe autour du noyau (Munier, 1973 ; Espiard, 2002).

La Deglet Nour (figure 2) est une dattes demi molle, d'une longueur moyenne de 6 cm ; le diamètre moyen est de 1.8 cm ; le poids moyen est de 12 g (Maatallah, 1970). Cette dattes est de forme fuselée, ovoïde, légèrement aplatie du côté périlanthe. Au stade Tmar, la dattes devient ombrée, avec un épicarpe lisse, brillant. Le mésocarpe est fin, de texture fibreuse, la plus succulente est la plus appréciée des dattes (Belguedj, 2002) (Figure 1).



Figure 2 : photographies de grappes de dattes (*Phœnix dactylifera L*) d'Algérie.

IV.3. Nomenclature

Dans les langages conversationnels, les dattes sont connues sous le nom de Sugar Palm (anglais), Nakhal (arabe), Khajur (Hindi et Urdu), Karchuram (Tamoul, Malayalam) et Karjura (Kannada) (Al-Shahib et Marshall, 2003; Zaid, 1999).

IV.4. Classification de *Phœnix dactylifera L*

Selon Djerbi (1994), la place du palmier dattier dans le règne végétal est comme suit :

Groupe : Spadiciflore.S ;

Embranchement : Angiospermes ;

Classe: Monocotylédones ;

Ordre: Palmales ;

Famille: Coryphoïdées ;

Tribu: Phoenixées ;

Genre: *Phœnix* ;

Espec: *Phœnix dactylifera L.*

IV.5. Composition chimique de *Phœnix dactylifera L*

Phytochimiquement, toute la plante contient des hydrates de carbone, alcaloïdes, stéroïdes, flavonoïdes, vitamines et des tanins. Le profil phénolique de la plante a révélé la présence d'acides principalement cinnamiques, glycosides de flavonoïdes et des flavanols (Seelig, 1974; Dowson, 1982; Biglari et *al.*, 2008).

IV.6. Utilisation des fruits de *Phœnix dactylifera L*

Depuis toujours les dattes ont été un élément très essentiel pour l'homme que ce soit pour son alimentation ou pour ses vertus thérapeutiques. Les dattes ont été utilisées comme détersives et astringentes pour les troubles intestinaux, traitement des maux de gorge, des rhumes, catarrhe bronchique, fièvre, gonorrhée, cirrhose du foie et des troubles abdominaux et contre l'intoxication alcoolique (Barh et Mazumdar, 2008).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

I.Préparation du matériel végétal

La plante ; *Matricaria pubescens* a été récoltée dans la région de Hassi Messaoud wilaya de Ouargla (Algérie) au mois d'avril 2015. Une fois ramenée au labo, la plante a été séchée dans un endroit sec à l'abri du soleil et de la lumière. L'échantillon a été broyé en poudre fine grâce à un broyeur électrique puis tamisé par le moyen de deux tamiseurs de granulométries différentes (500 μm et 250 μm). Les fractions obtenues sont conservées dans des boites en verre pour les préparations ultérieures.

Le matériel végétal a été authentifié par J.P.Lebrun (Museum National d'Histoire Naturelle, Paris). Un spécimen de la plante a été déposé au laboratoire d'Alger, Algérie.

Les fruits du palmier dattier *Phoenix dactylifera L.*, variété Deglet Nour ont été recueillis au stade Tamr (pleine maturité) dans le sud-est de l'Algérie dans la région de Touggourt wilaya de Ouargla au mois d'octobre 2016. Les fruits ont été transportés au laboratoire du département de biologie-physicochimique et maintenus à 10°C. La chair des dattes est séparée du noyau, découpée en petits morceaux puis congelée à une température de -80 °C. Après 24 heures de congélation, le matériel végétal est séché par lyophilisation puis moulu en poudre à l'aide d'un broyeur électrique puis tamisé afin d'avoir des particules de 250 μm de diamètre. La poudre obtenue est conservée dans des boites en verre, pour servir par la suite, pour la préparation des différents extraits.

II.Extraction des alcaloïdes totaux

Dans le but d'extraire le maximum d'alcaloïdes totaux, un protocole d'extraction dans un milieu alcoolique est utilisé et appliqué à l'ensemble du matériel végétal et le mélange des plantes.

II.1. Extraction par soxhlet avec le méthanol

Les alcaloïdes sont obtenus selon la méthode de Ross et Rain (1977), rapportée par Harborne (1998). La poudre délipidée par l'hexane (10 g) est extraite au soxhlet par 300 ml d'alcool (méthanol) pendant 8h. La solution extractive méthanolique est évaporée à sec et le résidu est repris par 50 ml d'eau distillée additionnée à une solution d'acide chloridrique à 5% mélangée avec de l'eau distillée au pH=4. 30 min après, la solution aqueuse est alcalinisée par l'ammoniac au pH=9. La fraction est reprise dans une ampoule à décanter pour l'extraction des alcaloïdes avec 50 ml de chloroforme. La phase organique

chloroformique est récupérée et évaporée à sec. Le résidu obtenu qui représente les alcaloïdes totaux est récupéré au DMSO puis conservé à 4 °C.

III. Détermination du taux d'extraction

Le rendement de l'extraction en alcaloïdes est déterminé par le calcul de la différence entre le poids du bécher plein et le poids du bécher vide. Le pourcentage d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0) / E] \times 100$$

P_0 : poids du bécher vide (g).

P_1 : poids du bécher après évaporation du solvant (g).

E : poids de l'échantillon initial (g).

IV. Test phytochimique

La présence des alcaloïdes est confirmée par un test phytochimique spécifique. Pour l'analyse, 1 ml de la solution méthanolique de l'extrait a été mélangée avec 1 ml de HCl et traité avec quelques gouttes du réactif Dragendorff. Dans ce test, le précipité orangé indique la présence d'alcaloïdes (Roberto et *al.*, 2016).

V. Détermination de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a consisté à déterminer l'efficacité du pouvoir antibactérien des extraits alcaloïdiques vis-à-vis des souches bactériennes. Différentes concentrations de l'extrait alcoolique (méthanol) sont soumises au test antibactérien selon la méthode des puits.

V.1. Souches bactériennes utilisées

L'activité antibactérienne des 5 concentrations de l'extrait méthanolique (5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml) de *M. pubescens*, *P. dactylifera* et du mélange est testée sur des souches référenciées obtenues auprès du laboratoire d'Ecologie Microbienne (LEM) incluant : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* méticilline résistant ATCC 43300 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Les souches sont maintenues sur bouillon nutritif à 4°C.

V.2. Préparation de la suspension bactérienne

Une colonie isolée de chaque souche a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur et homogénéisée dans 5 ml de bouillon nutritif puis incubée dans une étuve à 37 °C pendant 18 heures. Cette suspension bactérienne réalisée est évaluée à environ 10^8 UFC (Konaté et *al.*, 2012).

V.3. Aromatogramme

L'activité antibactérienne des différentes concentrations a été étudiée pour chaque souche à partir d'une culture de 18 heures. L'ensemencement de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après 15 min, des puits ont été découpés à l'aide d'une pipette Pasteur (l'extrémité épaisse de 6 mm de diamètre). Une goutte de la même gélose fondue a servi à obturer le fond des puits pour limiter la diffusion des extraits sous la gélose. Ces puits ont été ensuite remplis avec 50 µl de chaque extrait. La gentamicine est utilisée pour le test positif et le DMSO pour le test négatif. Après diffusion (2 heures à 4 °C), les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures et les zones d'inhibition sont mesurées et le diamètre du puit (6 mm) est inclus dans le tableau des résultats exprimés par la moyenne des 3 tests.

V.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 heures (Moroh et *al.*, 2008). La CMI est déterminée en utilisant la méthode de dilution en milieu solide gélosé (Mueller Hinton). Seul l'extrait ayant la meilleure activité sur chaque souche est testé. La solution mère subit une série de dilution allant de 1/2 à 1/64, donnant des concentrations de 25 mg/ml, 12.5 mg/ml, 6.25 mg/ml, 3.125 mg/ml, 1.562 mg/ml et 0.781 mg/ml.

Après ensemencement des boîtes à l'aide d'écouvillons, 50 µl de chaque dilution des extraits précédents sont répartis dans des puits de 6 mm de diamètre. Après diffusion de 2 heures à 4 °C, les boîtes sont par la suite incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

V.5. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique

Selon Lewus et *al.* (1992), l'activité bactéricide ou bactériostatique est déterminée en découpant un carré de la gélose à partir des zones d'inhibition obtenues. Le carré prélevé est re-suspendu dans 5 ml de bouillon nutritif.

La lecture des résultats est effectuée chaque jour, au bout d'une semaine d'incubation, les bouillons restant clairs ont été ensemencés en stries sur milieu TSA (Trypticase Soja Agar). La lecture est réalisée après une incubation de 18 à 24 heures à 37 °C.

Un témoin négatif (tube contenant du bouillon nutritif seul) et un témoin positif (tube contenant du bouillon nutritif et un carré de la gélose) sont pris pour test pour interpréter les résultats.

V.6. Etude de la synergie entre extraits et antibiotiques

Pour mettre en évidence la présence ou l'absence de l'effet synergique des extraits de *M.pubescens*, *P.dactylifera* et du mélange, les disques d'antibiotiques sont imprégnés avec 50 µl de chaque extrait de concentration de 50 mg/ml. Les antibiotiques testés sur les trois souches dans ce travail sont : la ceftazidime (CAZ), la gentamicine (GM), l'amoxyclave, (AMC) et l'amikacine (AMK).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction

La présente étude a été consacrée à l'extraction des alcaloïdes de la matricaire, des dattes et de leur mélange en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne de tous les extraits obtenus.

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (Quy Diem Do et *al.*, 2014). Elle est influencée par la nature chimique, la méthode utilisée, la taille d'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (Stalikas, 2005).

Dans le présent travail, il est procédé à l'extraction par soxhlet des alcaloïdes totaux à partir du matériel végétal.

Le taux d'extraction (l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant, contenant les alcaloïdes) a été déterminé par rapport à 10 g de matière végétale (broyat). C'est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant et la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : la période de récolte de la plante, l'âge de la plante, la procédure de séchage, le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (Eloff, 1998 ; Pinelo, 2005; Sipgno et *al.*, 2007; Badiaga, 2011 ; Quy Diem Do et *al.*, 2014). Ces paramètres sont susceptibles d'affecter l'activité antibactérienne des extraits.

Afin de confirmer la nature des composés extraits, un test phytochimique spécifique est réalisé. Après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Dragendorff, un précipité orangé est constaté pour l'ensemble des extraits, ce qui affirme la présence d'alcaloïdes.

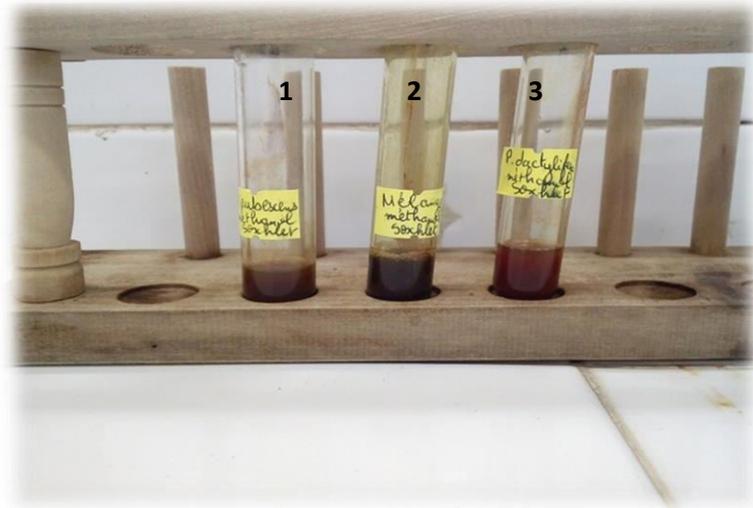


Figure 3 : Résultats du test phytochimique par le réactif de Dragendorff.

1 : extrait de *M.pubesens*, 2 : extrait du mélange, 3 : extrait de *P.dactylifera*.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans l'histogramme 1 (figure 4). Ces résultats, montrent que le rendement en alcaloïdes le plus important a été obtenu à partir de la matricaire suivi du mélange et enfin des dattes avec des valeurs de 3.2% ; 1.2% et 0.8% respectivement.

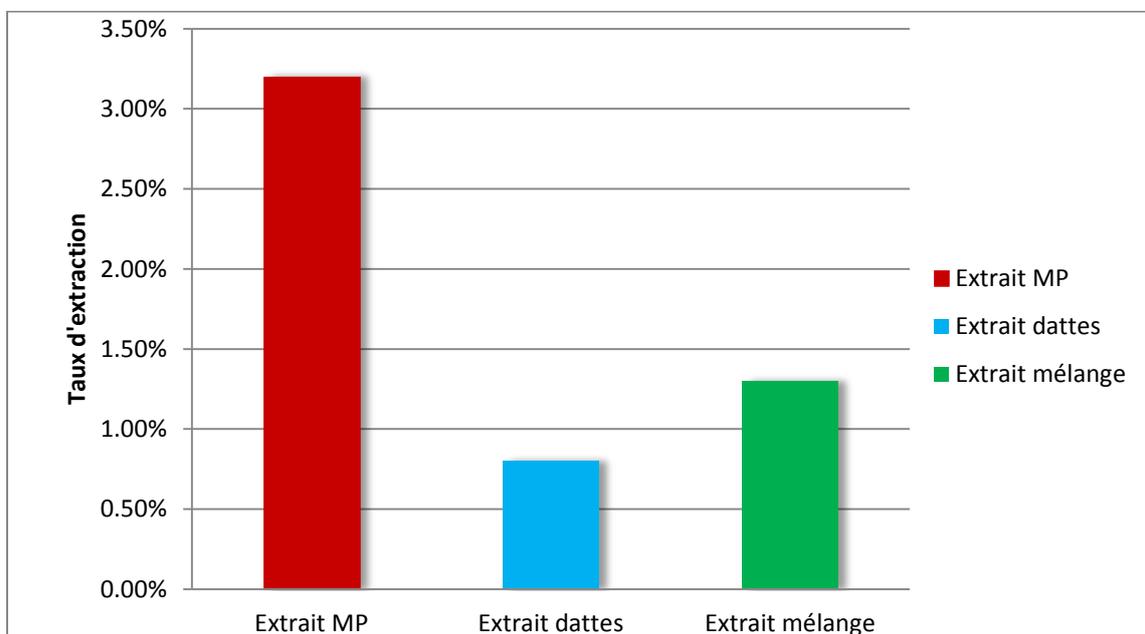


Figure 4 : Taux d'extraction en alcaloïdes de *Matricaria pubescens*, *Phoenix dactylifera* et du mélange par méthanol.

Les différences constatées entre les teneurs en alcaloïdes obtenues à partir de *M. pubescens*, *P. dactylifera* et le mélange pourraient être expliquées par la nature des alcaloïdes de la matricaire et des dattes et leur solubilité dans le solvant d'extraction.

Benhammou et ses collaborateurs, ont rapporté dans leurs travaux en 2013 sur *Anabasis articulata* un taux d'alcaloïdes de 5.47% pour l'extrait méthanolique. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus à partir de *M. pubescens*. Tandis que Maatalah et al. (2012), ont obtenu un rendement de 1.25 % pour la même plante.

II. Détermination de l'activité antibactérienne

II.1. Aromatogramme

La présente étude vise également à évaluer l'activité antibactérienne des alcaloïdes contenus dans chacun des trois extraits.

L'aromatogramme a révélé que tous les extraits testés avaient une activité contre toutes les souches étudiées (tableau I).

Les résultats montrent que les extraits méthanoliques de *M. pubescens*, *Phoenix dactylifera* et leur mélange, ont présenté des diamètres d'inhibition compris entre $10,6 \pm 0,57$ mm et $16,3 \pm 0,57$ mm, contre la souche SARM ATCC43300. Ces diamètres varient entre $11,3 \pm 0,57$ mm et $16 \pm 1,0$ mm sur la souche *S. aureus* ATCC25923 et entre $13 \pm 1,0$ et $16,3 \pm 1,15$ contre *E. coli* ATCC25923. Pour ces trois extraits, les diamètres d'inhibition obtenus présentent des différences significatives ($p < 0,05$) sur *S. aureus* ATCC25923 et SARM ATCC43300 (annexe 2). Toutefois ces trois extraits à différentes doses produisent sur *E. coli* ATCC25923 des diamètres d'inhibition qui ne sont pas statistiquement différents ($p > 0,05$).

Tableau I : Activité antibactérienne des extraits de *Matricaria pubescens*, *Phoenix dactilyfera* et leur mélange.

Extraits végétaux	SARM ATCC43300	<i>S.aureus</i> ATCC25923	<i>E.coli</i> ATCC25923
<i>M.pubescens</i> 5 mg/ml	10,6±0,57 ^a	11,3 ±0,57 ^a	-
<i>M.pubescens</i> 10 mg/ml	13,6±0,57 ^b	11,6 ±0,57 ^a	-
<i>M.pubescens</i> 15 mg/ml	14±1,0 ^b	12,3±1,15 ^{a,b}	-
<i>M.pubescens</i> 25 mg/ml	14,3±0,57 ^b	13,6±0,57 ^{b,c}	14,3±0,57 ^b
<i>M.pubescens</i> 50 mg/ml	16±1,0 ^c	15 ±1,73 ^c	16±1,0 ^c
<i>P.dactilyfera</i> 5 mg/ml	-	-	-
<i>P.dactilyfera</i> 10 mg/ml	11,3±2,08 ^b	10 ±0,0 ^b	-
<i>P.dactilyfera</i> 15 mg/ml	11,6±1,15 ^b	12,6 ±0,57 ^c	-
<i>P.dactilyfera</i> 25mg/ml	11,6±1,15 ^b	14 ±1,0 ^d	13±1,0 ^b
<i>P.dactilyfera</i> 50 mg/ml	14,6±0,57 ^c	14 ±1,0 ^d	15±0,0 ^c
MP/MD 5 mg/ml	10,6±1,52 ^a	10 ±1,0 ^a	-
MP/MD 10 mg/ml	13,3±1,15 ^b	11 ±0,0 ^a	-
MP/MD 15 mg/ml	13,3±1,15 ^b	12,6 ±0,57 ^b	-
MP/MD 25 mg/ml	14,3±1,15 ^{b,c}	14,6 ±0,57 ^c	14±0,0 ^b
MP/MD 50 mg/ml	16,3±0,57 ^c	16 ±1,0 ^d	16,3±1,15 ^c

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents.

MP/MD : le mélange *M. pubescens* / *P. dactilyfera*. -: aucune inhibition.

a, b, c et d sont des lettres portées en indice des moyennes pour le test de comparaison. Elles sont issues du test statistique appliqué. Ainsi, dans chaque colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas de différences significatives au seuil 5%.

Sur la souche SARM ATCC 43330, l'effet inhibiteur le plus fort a été trouvé avec l'extrait du mélange concentré à 50 mg/ml avec une zone d'inhibition de 16.3 mm suivi de l'extrait alcaloïdique et de *Matricaria pubescens* à la même concentration, avec un diamètre d'inhibition de 16 mm. Cependant une zone de 14.66 mm est observée avec l'extrait *P. dactilyfera* à la dose de 50 mg/ml. Les zones les plus faibles sont observées avec les concentrations les plus faibles de 5, 10 et 15 mg/ml (figure 5).

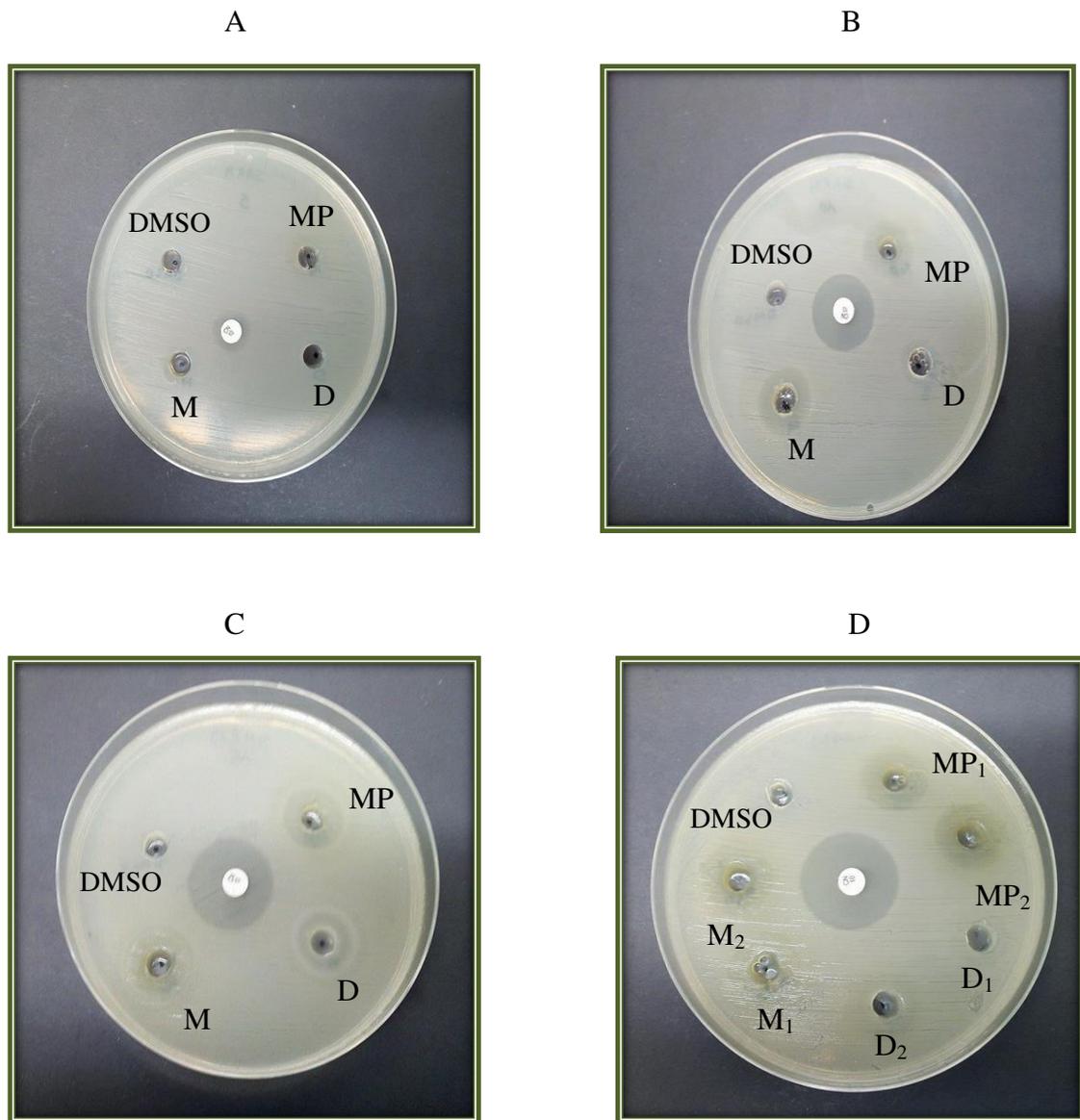


Figure 5 : Activité antibactérienne des extraits de *M.pubescens*, *P.dactylifera* et du mélange sur la souche SARM ATCC 43330 avec les concentrations de 5 mg/ml (A), 10 mg/ml (B), 15 mg/ml (C), 25 et 50 mg/ml (D).

MP : extrait de *M.pubescens* avec les concentrations (A), (B) et (C).

MP₁ : extrait de *M.pubescens* avec la concentration 25 mg/ml.

MP₂ : extrait de *M.pubescens* avec la concentration 50 mg/ml.

D : extrait de *Phoenix dactylifera* avec les concentrations (A), (B) et (C).

D₁ : extrait de *Phoenix dactylifera* avec la concentration 25 mg/ml.

D₂ : extrait de *Phoenix dactylifera* avec la concentration 50 mg/ml.

M₁ : extrait du mélange avec la concentration 25 mg/ml.

M₂ : extrait du mélange avec la concentration 50 mg/ml.

L'effet antibactérien le plus important vis à vis de *S.aureus* ATCC25923 a été obtenu avec l'extrait du mélange d'une concentration de 50 mg/ml avec une zone d'inhibition de 16 mm, alors que l'effet le plus faible a été constaté avec l'extrait des dattes et le mélange aux

concentrations respectives de 10 mg/ml et 5 mg/ml avec une zone d'inhibition de 10 mm (figure 6).

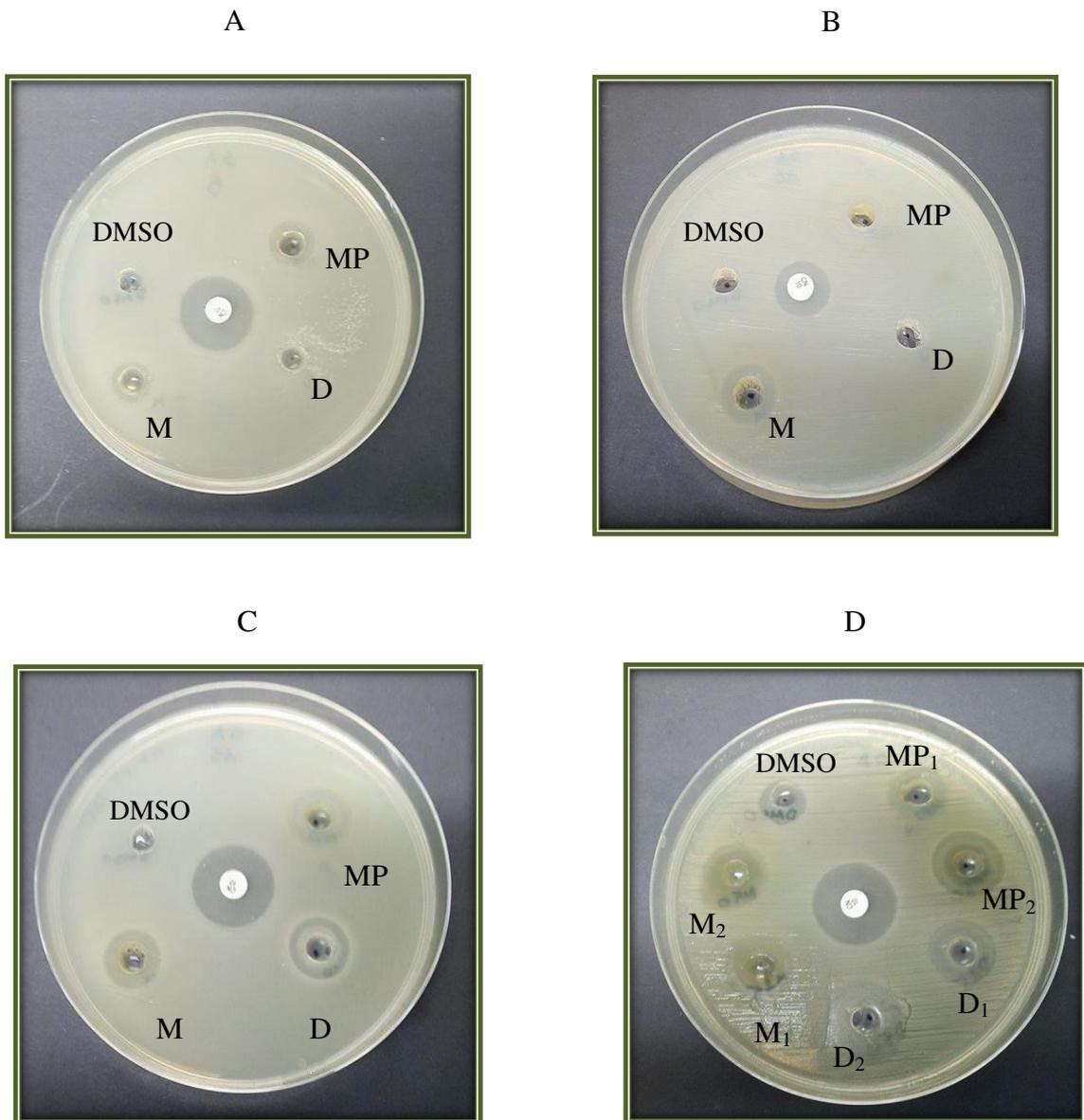


Figure 6 : Activité antibactérienne des extraits de *M. pubescens*, *P. dactylifera* et du mélange sur la souche *S. aureus* ATCC25923 avec les concentrations de 5 mg/ml (A), 10 mg/ml (B), 15 mg/ml (C), 25 et 50 mg/ml (D).

MP : extrait de *M. pubescens* avec les concentrations (A), (B) et (C).

MP₁ : extrait de *M. pubescens* avec la concentration 25 mg/ml.

MP₂ : extrait de *M. pubescens* avec la concentration 50 mg/ml.

PD : extrait de *Phoenix dactylifera* avec les concentrations (A), (B) et (C).

PD₁ : extrait de *Phoenix dactylifera* avec la concentration 25 mg/ml.

PD₂ : extrait de *Phoenix dactylifera* avec la concentration 50 mg/ml.

M₁ : extrait du mélange avec la concentration 25 mg/ml.

M₂ : extrait du mélange avec la concentration 50 mg/ml.

L'activité antibactérienne la plus élevée sur *E. coli* ATCC 25922 a été constatée en utilisant le mélange à une concentration de 50 mg/ml, avec une zone d'inhibition de 16,3 mm tandis que l'activité inhibitrice la plus faible a été observée en utilisant l'extrait de dattes à 25 mg/ml où la zone d'inhibition était de 13 mm. Les trois extraits de *Matricaria pubescens*, *Phoenix dactylifera* et leur mélange dont la concentration est inférieure à 25 mg/ml n'ont montré aucune activité sur cette souche (figure 7).

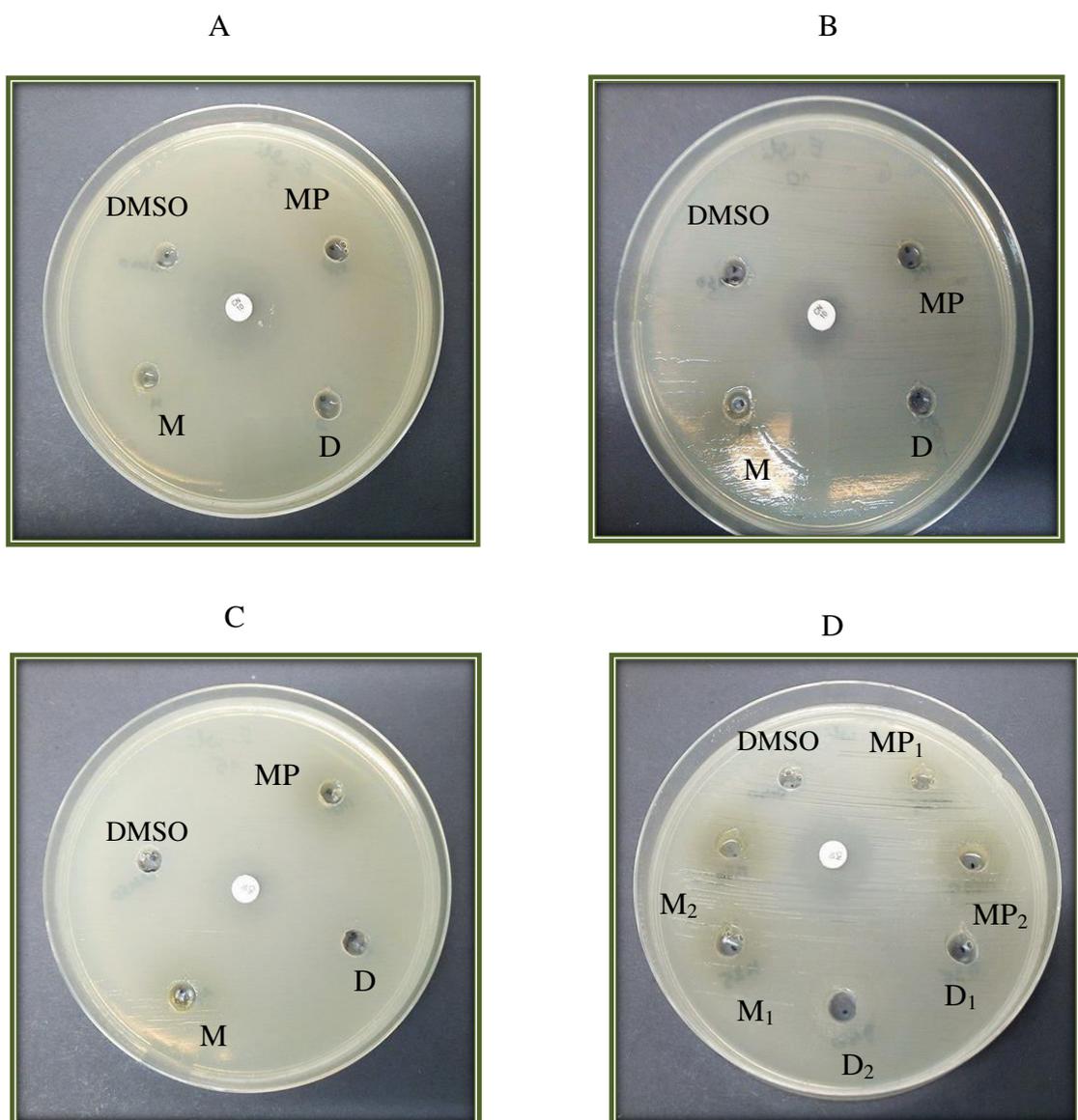


Figure 7 : Activité antibactérienne des extraits de *M. pubescens*, *P. dactylifera* et du mélange sur la souche *E. coli* ATCC 25922 avec les concentrations de 5 mg/ml (A), 10 mg/ml (B), 15 mg/ml (C), 25 et 50 mg/ml (D).

MP : extrait de *M.pubescens* avec les concentrations (A), (B) et (C).

MP₁ : extrait de *M.pubescens* avec la concentration 25 mg/ml.

Mp₂ : extrait de *M.pubescens* avec la concentration 50 mg/ml.

D : extrait de *Phoenix dactylifera* avec les concentrations (A), (B) et (C).

D₁ : extrait de *Phoenix dactylifera* avec la concentration 25 mg/ml.

D₂ : extrait de *Phoenix dactylifera* avec la concentration 50 mg/ml.

M₁ : extrait du mélange avec la concentration 25 mg/ml.

M₂ : extrait du mélange avec la concentration 50 mg/ml.

La gentamicine a montré un effet plus puissant que les extraits testés avec des zones d'inhibitions de 21 mm, 19 mm, 17 mm sur SARM, *S. aureus*, *E. coli* respectivement.

Dans cette étude, l'évaluation de l'activité antibactérienne de *M. pubescens*, *Phoenix dactylifera* et leur mélange sur des germes responsables de nombreuses infections bactériennes a été réalisée à partir des extraits alcaloïdiques de ces plantes. Les résultats montrent que ces extraits sont actifs sur les souches étudiées ce qui est en accord avec les études menées par Clark (1981) et Mather et Gonzalez (1982) sur l'inhibition de la croissance bactérienne par plusieurs composés tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins.

Les résultats d'Ayachi et *al.* (2009), ont montré que les extraits des fruits de dattes ont un faible pouvoir antibactérien contre *E. coli*, où le diamètre d'inhibition ne dépassait pas 9.5 mm. Des études plus récentes de Soad Al-daihan et Ramesa Shafi Bhat (2012), ont montré que la zone d'inhibition de l'extrait méthanolique brut des dattes sur *E. coli* n'était que de 11 mm et que *S. aureus* est plus sensible par rapport à *E. coli* avec une zone de 16 mm. Cependant dans notre présente étude les résultats s'avèrent différents ; l'extrait alcaloïdique du fruit de dattes est plus actif sur la souche *E. coli* ATCC 25922 (zone d'inhibition de 15 mm), qui est probablement due à la dose élevée d'alcaloïdes présente dans l'extrait utilisé ; tandis que pour *S.aureus* (zone d'inhibition de 14 mm), cette différence observée est peut-être causée par l'absence de certains composés tels que les flavonoïdes, les phénols et les tannins qui sont des métabolites bioactifs aux activités antibactériennes.

Makhloufi et *al.* (2012), dans leur travail sur l'activité antibactérienne de l'extrait brut de *Matricaria pubescens* ont rapporté que la souche *E. coli* ATCC25922 et *S. aureus* ATCC25923 étaient sensibles à l'extrait brut de la matricaire, ce qui concorde avec nos résultats.

L'analyse des résultats révèle que l'extrait du mélange *Phoenix dactilyfera* avec *Matricaria pubescens* a induit une amélioration de l'effet antibactérien sur toutes les souches testées, ce qui serait probablement due à la combinaison entre les alcaloïdes de la matricaire et des dattes.

Notre résultat montre également que la souche SARM présente un profil très similaire avec la souche *S.aureus*.

II.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée par la méthode de dilution sur milieu solide. Les trois extraits *M. pubescens*, *Phoenix dactilyfera* et leur mélange ont montré des activités antibactériennes vis-à-vis des trois souches testées. Les résultats sont résumés dans le tableau II.

Tableau II : Résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) mg/ml.

Bactéries	<i>M.pubescens</i>	<i>Phoenix dactilyfera</i>	<i>M.pubescens/P.dactilyfera</i>
<i>S.aureus</i> ATCC25923	5	12.5	0.781
<i>E.coli</i> ATCC25922	25	25	25
SARM ATCC43300	5	12.5	1.562

Perveen et al. (2012), ont rapporté que la souche *P. aeruginosa* est sensible à l'extrait brut de *Phoenix dactilyfera L* dont la CMI est de 1.3mg/ml. Cependant *S. aureus* ATCC 25923 (CMI=12.5 mg/ml), SARM ATCC 43300 (12.5 mg/ml) et *E.coli* ATCC 25922 (25 mg/ml) s'avèrent plus résistantes

Makhloufi et al. (2012), avaient obtenu avec l'extrait brut de *Matricaria pubescens*, une CMI de 8 mg/ml sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ; résultat qui n'est pas loin de celui obtenu dans la présente étude avec les alcaloïdes de la même plante, à savoir 5 mg/ml.

La meilleure activité inhibitrice est représentée par la plus faible CMI. Le meilleur effet inhibiteur a été observé contre la souche *S. aureus* et SARM exercé par l'extrait du mélange *M. pubescens* et *P. dactilyfera* avec des CMI respectives de 0.781 et de 1.562 mg/ml.

Sur *E.coli*, une même CMI de 25 mg/ml a été obtenue avec les extraits de *Matricaria pubescens*, *Phoenix dactilyfera* et leur mélange.

II.3. Effet bactéricide ou bactériostatique

Un agent antimicrobien, est un produit chimique qui tue ou inhibe la croissance des microorganismes. Cela s'applique également aux "antibiotiques", qu'ils définissent comme «une substance chimique produite par un microorganisme qui tue ou inhibe la croissance d'un autre microorganisme » (Madigan et *al.*, 2009). Les produits naturels antibactériens peuvent être classés selon une source biogénétique générale ; les terpénoïdes, les alcaloïdes, les flavonoïdes et les phénols simples (Chung et *al.*, 2011).

Tous les extraits de *Matricaria pubescens*, de *Phoenix dactilyfera* ainsi que leur mélange ayant montré une activité antibactérienne ont été soumis à l'étude pour tester l'effet bactéricide ou bactériostatique sur toutes les souches testées. Après 24h d'incubation un trouble est observé dans tous les tubes où les différents extraits exercent un effet bactériostatique sur les souches testées. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau III ci-dessous :

Tableau III : Résultats du test de l'effet bactéricide ou bactériostatique.

	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	SARM
MP 5 mg/ml	(-)	(-)	(-)
dattes 5 mg/ml	(-)	(-)	(-)
mélange 5 mg/ml	(-)	(-)	(-)
MP 10 mg/ml	(-)	(-)	(-)
dattes 10 mg/ml	(-)	(-)	(-)
mélange 10 mg/ml	(-)	(-)	(-)
MP 15 mg/ml	(-)	(-)	(-)
dattes 15 mg/ml	(-)	(-)	(-)
mélange 15 mg/ml	(-)	(-)	(-)
MP 25 mg/ml	(-)	(-)	(-)
dattes 25 mg/ml	(-)	(-)	(-)
mélange 25 mg/ml	(-)	(-)	(-)
Mp 50 mg/ml	(-)	(-)	(-)
mélange 50 mg/ml	(-)	(-)	(-)

(-) Bactériostatique (+) Bactéricide

Les résultats montrent que tous les extraits aux différentes doses présentent des effets bactériostatiques sur l'ensemble des souches testées.

II.4. Etude de la synergie entre extrait et antibiotiques

La synergie a été définie comme un phénomène dans lequel deux composés différents sont combinés pour améliorer leur activité individuelle. Si la combinaison entraîne un effet détérioré, on parlera alors d'antagonisme. L'effet moins synergique mais non antagoniste est appelé addition ou indifférence (Rani *et al.*, 2009).

Afin de pouvoir optimiser et améliorer l'effet antimicrobien d'un extrait, des associations ont été effectuées avec des antibiotiques, l'effet synergique peut fournir une thérapie efficace contre les bactéries résistantes.

Nous avons combiné chaque extrait d'alcaloïdes avec la ceftazidime, la gentamicine, l'amikacine et l'amoxyclave afin de déterminer d'une manière quantitative la capacité éventuelle des alcaloïdes d'augmenter l'effet antibactérien pour tous les extraits étudiés ; la concentration des extraits, était égale à 50 mg/ml.

Tableau IV : Résultats de l'antibiogramme sur les souches *E. coli*, *S.aureus* et SARM.

	<i>E. coli</i>	<i>S.aureus</i>	SARM
AMC	20	20	17
AMK	22	22	19
CAZ	12	20	20
GEN	23	20	21

Les antibiotiques testés ont inhibé la souche *E.coli* 25922 avec des zones d'inhibitions de 12, 23, 22 et 20 respectivement. Les résultats des synergies réalisées entre les extraits de *M. pubescens*, de *Phoenix dactilyfera* et de leur mélange avec les quatre antibiotiques testés sur *E.coli* 25922, révèlent une légère amélioration de l'effet antibactérien (Tableau IV) dont la meilleure récupération est de 5 mm de diamètre obtenue avec l'extrait alcaloïdique de *M. pubescens*, avec l'amikacine, suivie par celle de l'extrait de *Phoenix dactilyfera* et du mélange avec 3 mm de récupération avec l'amoxyclave. L'association du mélange avec la gentamicine a augmenté l'effet antibactérien de 3 mm.

Tableau V : résultats des synergies extraits /antibiotiques sur *E. coli* 25922 (mm).

	Extrait	Extrait + AMC	Différence	Extrait + GM	Différence	Extrait + AMK	Différence	Extrait + CAZ	Différence
Mp	16	20	0	22	-1	27	5	14	2
Pd	15	23	3	22	-1	23	1	ND	/
Mp/pd	16.33	23	3	25	3	22	0	ND	/

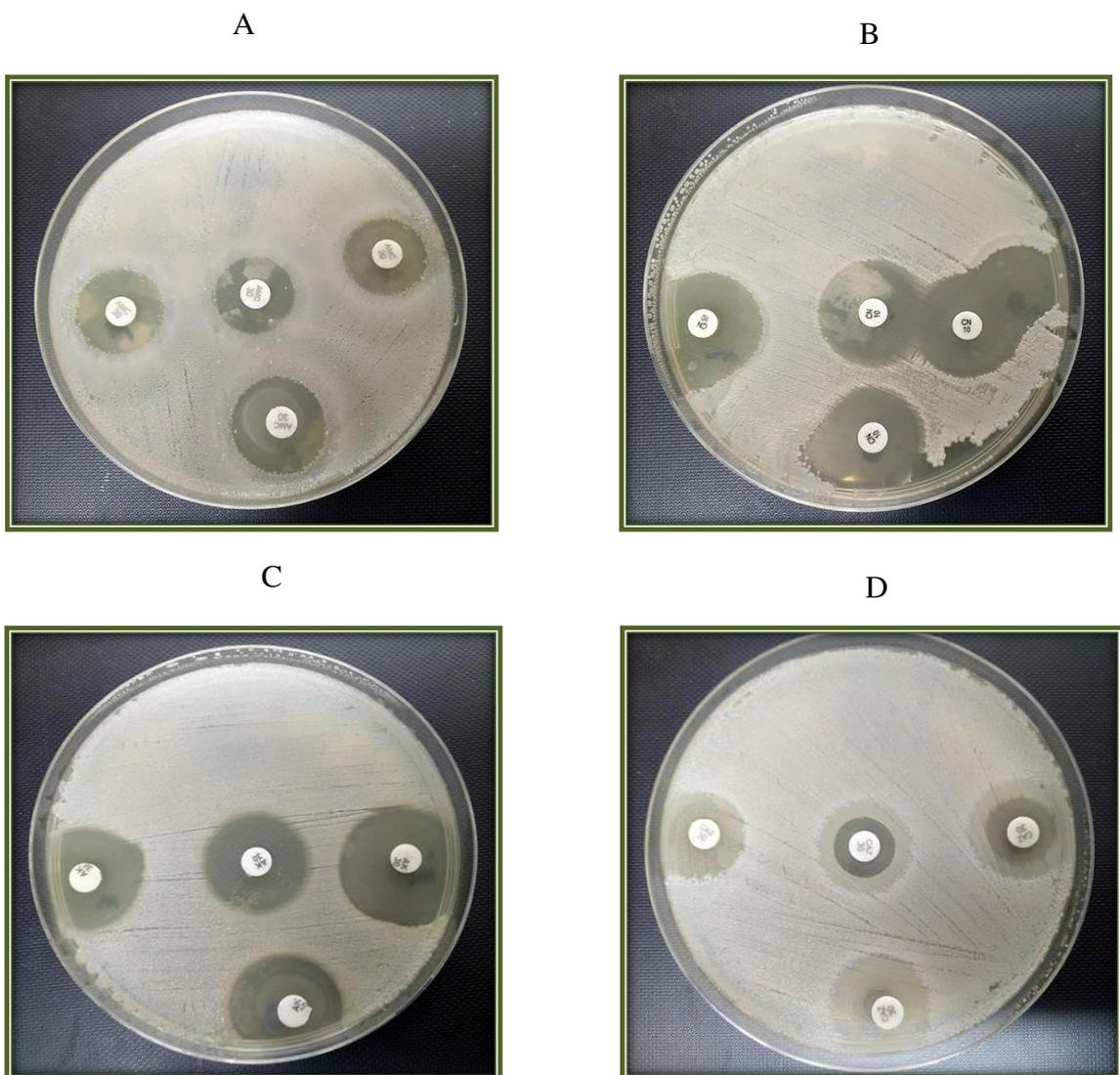


Figure 8 : synergie entre les extraits et AMC (A) ; GM (B) ; AMK (C) et CAZ (D) sur la souche *E. coli* 25922.

La zone d'inhibition obtenue avec l'amoxycylave, la gentamicine ainsi que la ceftazidime contre la souche *S. aureus* ATCC 25923 était de 20 mm, tandis que celui obtenu avec l'amikacine était de 22 mm.

Les résultats de la combinaison entre l'extrait du mélange *M. pubescens /Phoenix dactilyfera* avec l'amoxycylave et la gentamicine montrent une amélioration de l'activité antibactérienne d'une valeur de 4 mm de diamètre. Cependant l'extrait de datte a diminué l'effet antibactérien de la ceftazidime de 3 mm.

Tableau VI : Résultats des synergies extraits /antibiotiques sur *S. aureus* ATCC25923.

	Extrait	Extrait	Différence	Extrait	Différence	Extrait	Différence	Extrait	Différence
		+		+		+		+	
		AMC		GM		AMK		CAZ	
Mp	15	20	0	20	0	22	0	20	0
Pd	14	21	1	20	0	25	3	17	-3
Mp/pd	16	24	4	24	4	24	2	18	-2

Les zones d'inhibitions obtenues par l'amoxycylave, la gentamicine, l'amikacine et la ceftazidime contre SARM ATCC43300 sont : 17, 21, 19 et 20 mm, respectivement.

Les deux extraits *M. pubescens* et le mélange *M. pubescens/Phoenix dactilyfera* induisent la gentamicine et l'amikacine à augmenter leur efficacité qui se traduit par un gain de 4 mm avec la gentamicine, allant jusqu'à 6 mm associés à l'amikacine ; alors qu'un rétrécissement de 3 mm est obtenu avec ces derniers une fois combinés à la ceftazidime. L'extrait de *P. dactilyfera* a réduit l'activité inhibitrice de la ceftazidime de 7 mm.

Tableau VII : Résultats des synergies extraits /antibiotiques sur SARM ATCC43300.

	Extrait	Extrait	Différence	Extrait	Différence	Extrait	Différence	Extrait	Différence
		+		+		+		+	
		AMC		GM		AMK		CAZ	
Mp	16	17	0	25	4	25	6	17	-3
Pd	14.6	17	0	20	-1	20	1	13	-7
MP/Pd	16.3	19	2	25	4	25	6	17	-3

L'effet synergique peut être dû à la formation d'un complexe plus efficace dans l'inhibition d'une espèce particulière de microorganismes, soit par inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ou en provoquant la lyse ou la mort de ces microorganismes (Chanda et Rakholiya, 2011).

Ces combinaisons synergiques représentent une grande source inexploitée de nouveaux produits pharmaceutiques avec des mécanismes d'action nouveaux et multiples qui peuvent surmonter la résistance microbienne (Ncube et *al.*, 2008).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'utilisation des antibiotiques a constitué une révolution importante dans le traitement des maladies infectieuses. Cependant, de par leur utilisation excessive par les patients, il y'a eu l'accroissement des résistances aux antibiotiques, ce qui présente un réel problème dans le domaine de la santé.

Les chercheurs ont donc tourné le regard vers la médecine traditionnelle, particulièrement vers l'aromathérapie. Donc, plusieurs études ont été menées sur les composés de ces plantes dont les alcaloïdes, en étudiant plusieurs activités notamment l'activité antibactérienne, dans le but de confirmer l'utilisation traditionnelle des plantes dites médicinales et leur pouvoir guérisseur sur nombre infections, qui s'avère très efficace d'après les tradi-praticiens,

L'objectif de cette présente étude est d'extraire les alcaloïdes d'une plante médicinale *Matricaria pubescens*, des fruits *Phoenix dactilyfera L* et de leur mélange par soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction dont le but est la détermination de l'effet antibactérien des extraits obtenus contre les trois souches ; *S.aureus* ATCC 25923, SARM ATCC 43300 et *E.coli* ATCC 25922, et de mettre en évidence une éventuelle synergie par association à des antibiotiques. Les résultats se sont avérés positifs, tous les extraits possèdent un pouvoir antibactérien contre les trois souches testées. L'extrait alcaloïdique du mélange est plus actif sur *S. aureus* et SARM avec des CMI respectives de 0.781 et 1.562 mg/ml.

L'étude de la synergie entre les divers extraits et les antibiotiques s'avère également positive, une amélioration allant jusqu'à 6 mm est mise en évidence par deux extraits *M. pubescens* et le mélange *M.pubescens /P.dactilyfera* en combinaison avec l'amikacine sur la souche SARM ATCC 43300. Alors qu'un effet contraire est obtenu avec les alcaloïdes de *Phoenix dactilyfera*, un antagonisme qui se traduit par le rétrécissement du diamètre d'inhibitions de 7 mm associé à la ceftazidine sur cette même souche.

Il serait captivant de faire une étude de l'activité antibactérienne des alcaloïdes de *M. pubescens*, de *Phoenix dactilyfera* et de leur mélange contre les bactéries responsables de nombreuses maladies infectieuses traitées par ces deux plantes. Il serait intéressant également de faire un fractionnement des alcaloïdes totaux afin d'identifier le ou les principes actifs responsables du pouvoir antibactérien. L'étude de toxicité de ces alcaloïdes permettrait, de déterminer la dose efficace pour une utilisation thérapeutique.

Et enfin, l'utilisation des alcaloïdes en combinaison avec un antibiotique sur une souche résistante permettrait d'évaluer leur pouvoir de réversion de la résistance à l'antibiothérapie.

Références bibliographiques

Ahmed, A. Phytochemical and Therapeutic Evaluation of Date (*Phoenix dactylifera*). A Review. *Journal of Pharmacy and Alternative Medicine*, (2016), Vol.9, 10-17.

Aiyegoro, O., Adewusi, A., Oyedemi, S., Akinpelu, D., Okoh, IA. Interactions of antibiotics and methanolic crude extracts of *Azelaia africana* (Smith.) against drug resistance bacterial isolates. *International Journal of Molecular Sciences*, (2011), 12: 4477- 4487.

Akharaiyi, F.C. and Boboye, B. Antibacterial and phytochemical evaluation of three medicinal plants. *Journal of Natural Products*, (2010), 3: 27-34.

Al-daihan, S. et Bhat RS. Antibacterial activities of extracts of leaf, fruit, seed and bark of *Phoenix dactylifera*. *African Journal of Biotechnology*, (2012), 11(42), p. 10021-10025.

Alekshun, M. N., and S. B. Levy. 2007. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, (2007), 128:1037-1050.

Al-Qarawi, AA., Ali, BH., Al-Mougy, SA., Mousa, HM. Gastrointestinal transit in mice treated with various extracts of date (*Phoenix dactylifera* L.). *Food and Chemical Toxicology*, (2003), 41: 37-39.

Al-Shahib, W., & Marshall, R. J. The fruit of the date palm: Its possible use as the best food for the future. *International Journal of Food Science and Nutrition*, (2003), p. 54, 247–259.

Aniszewski, T. (2007). Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. 1ed edition. Kidlington, Oxford, p: 1-12.

Ayachi, A., Alloui, N., Bennoune O., Yakhlef, G., Daas Amieur, S, Bouzid ,W., Djemai Zoughlache, S., Boudjellal, K., Abdessedmed, H. Antibacterial activity of Some Fruits; Berries and Medicinal Herb Extracts Against Poultry Strains of *Salmonella* American- Eurasian *Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, (2009), 6(1): 12-15

Badiaga, M., 2011. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltées au Mali. Université de Bamako, ch1; p.9-30.

Bahmanpour, S., Panjeh Shahin, M.R., Talaei, T. et al. Effect of *Phoenix dactylifera* pollen on sperm parameters and reproductive system of adult rats. *Iranian Journal of Medical Sciences*, (2006), 31: 4.

Baliga, M.S., Baliga, B.R.V., Kandathil, S.M., Bhat, H.P., Vayalil, P.K. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International*, (2011), 44: 1812–1822.

Barh, D., Mazumdar, BC. Comparative nutritive values of palm saps before and after their partial fermentation and effective use of wild date (*Phoenix sylvestris* Roxb) sap in treatment of anemia. *Research Journal of Medical Sciences*, (2008), 3: 173-176.

Belguedj, M. (2002). Ressources génétiques du palmier dattier. Ed. I.N.R.A.A. Alger, p.298.

- Benhammou, N., Ghambaza, N., Benabdelkader, S., Atik-Bekkara, F et Kadifkova Panovska, T. Phytochemicals and antioxidant properties of extracts from the root and stems of *Anabisis articulate*. International Food Research Journal, (2013), 20, 2057-2063.
- Bhat, S. V. ; Nagasampagi, B. A. ; Sivakumar, M. Chemistry of Natural Products. Narosa, New Delhi,India, (2005), Ch. 4, 237.
- Biglari, F., AlKarkhi, AFM. Azhar, ME. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. Food Chem., (2008), 107: 1636-1641.
- Bonjean, K., De Pauw-Gillet, M-C., Defresne, M-P., Colson, P., Houssier, C., Dassonneville, L., Bailly, C., Greimers, R., Wright, C., Quentin-Leclercq, J., Tits, M., Angenot, L. (1998). The DNA intercalating alkaloid cryptolepine nterferes with topoisomerase II and inhibits the primarily DNA synthesis in B16 melanoma cells. Biochemistry 37: 5136-5146.
- Bouguedora, N., Benkhalifa, A., Bennaceur, M. (2010). Biotechnologies du palmier dattier. Ed. IRD, Tunisie, p.16.
- Boutaghane, N., Kabouche, A., Touzani, R., Ahmad-Maklad., El-Azzouny A., Bruneau, C., Kabouche A. GC/MS Analysis and Analgesic Effect of the essential Oil Of *Matricaria pubescens* from Algeria. Natural Production Communications, (2011), 6 (2), 251-252.
- Bruneton, J. (1995). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, Paris, p.915.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 3^{ed}. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris, p. 783-785.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4^{ed}. Lavoisier, Paris, p : 783-785.
- Bush, K., Courvalin, P., Dantas G., et al. Tackling antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiolog, (2011), 9: 894–6.
- Caron, C., Hoizey, M. J., Le Men-Olivier, L., Massiot, G., Zeches, M., Choisy, C., Le Magrex, E. and Verpoorte, R. 1988. Antimicrobial and antifungal activities of quasi-dimeric and related alkaloids. Planta Medica, 409–412.
- Chanda, S., Rakholiya, K. (2011). Combination therapy : Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. Microbiol Book Series. 520-529.
- Chaudhary, U., Aggarwal, R. Extented spectrum beta-lactamase (ESBL) - An emerging threat to clinical therapeutc. Indian Journal of Medical Microbiology, (2004), 22: 75-80.
- Chung, PY., Navaratnam, P., Chung, LY. Synergitic antimicrobial activity between pentacyclic triterpenoids and antibiotics against *Staphylococcus aureus* strains. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, (2011), 10: 25.

Clark, WS. Antimicrobial Activities of pheroic constituents of *Mangolia gradiflora*, L. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, (1981), 10: 951.

Clayden, J., Greeves, N., Warren, S. and Wothers, P. (2001). *Organic Chemistry*. Oxford, New York, Oxford University Press.

Cordell, G.A. 1983. *Introduction to Alkaloids : A Biogenic Approach*, Wiley, New York.

Cowan, MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, (1999), 12: 564-82.

Dassonneville, L., Lansiaux, A., Wattelet, A., Wattez, N., Mathieu, C., Van Miert., S, Pieters., L, Bailly, C. Cytotoxicity and cell cycle effect of the plant alkaloids cryptolepine and neocryptolepine : relation to drug-induced apoptosis. *European Journal of Pharmacology*, (2000), 409: 9-18.

Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products*. Wiley, (2001), Ch. 6, 291.

Djellouli, M., Moussaoui A., Benmehdi., Ziane L., Belabbes A., Badraoui M., Slimani N., Hamidi N. (2013). Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (*Asteraceae* Family) from the region of south west Algeria. *Asian Journal of Applied Sciences*. 2(2), 159-165.

Djerbi, M. (1994). *Précis de phoeniciculture*. FAO, p 192.

Do, QD., Angkawijay, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Isadj S., et Ju, Y-H. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug analysis*, (2013), 1-7.

Dowson, VHW. Date production and protection. *FAO plant production and protection*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, (1982), p. 35.

El Hadrami, I. and El Hadrami, A. (2009). Breeding date palm. In: Jain S.M. and P.M. Priyadarshan (Eds.) *Breeding Plantation Tree Crops*, Springer, New York, p 191-216.

Eloff, JN. Wich extraction should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. *Journal of Ethnopharmacology*, (1998), 60, 1-8.

Espiard, E. (2002). *Introduction à la transformation industrielle des fruits*. TEC and DOC-Lavoisier, Paris.

Guittat, L., Alberti, P., Rosu, F., Van, Miert, S., Thetiot, E., Pieters, L., Gabelica, V., De Pauw, E., Ottaviani, A., Roiu, J-F., Mergny, J-L. (2003). Interaction of cryptolepine and neocryptolepine with unusual DNA structures. *Biochemistry*, (2003), 85: 535-541.

Hamiche, V., Maiza, K. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol*, (2006), 105:358-367.

Harborne, J. B., and Herbert B. (1995). *Phytochemical Dictionary: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. Bristol: Taylor & Francis.

Harbone, JB. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. (3rd Ed) London. Chapman & Hall. ISBN: 0-412-57270-2, p. 302.

Hota, B., Ellenbogen, C., Hayden MK., Aroutcheva, A., Rice, TW., Weinstein, RA. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections at a public hospital: do public housing and incarceration amplify transmission. *Archives of Internal Medicine*, (2007), 167:1026–33.

Karou, D., Savagado, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpoire, J., Colizzi et Traore, AS. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*, (2006). 5,198-198.

Kempf, I., Zeitouni, S. The cost of antibiotic resistance: analysis and consequences. *Pathologie Biologie* 60, (2012),e9–e1.

Khalid, A., Choudhay, MI., Ghayur, MN., Feroz, RA. et Gilani, AH. Cholinesterase inhibitory and spasmolytic potential of steroidal alkaloids. *Journal of steroidal Biochemistry and Molecular Biology*, (2004), 26, 477-484.

Konaté, K., Hilou, A., Mavoungou J-F., Lepengué A.N., Souza, A., Barro, N., Datté, J-Y., M'Batchi, B., Nacoulma, O.G. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba L.* (Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, (2012), 11: 5.

Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal*, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle, p.32.

Lewus, CB., Sun. S et Montville, TJ. Production of an Amylase-Sensitive Bacteriocin by Atypical *Leuconostoc parmesenteroides* Strain. New Jersey. *Applied and Environmental Microbiology*, (1992), p.143-149.

Lisgarten, JN., Coll, M., Portugal, J., Wright, CW., Aymami, J. (2002). The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nature Structural Biol.* 9: 57-60.

Maatalah BM., Bouzidi NK., Bellahouel S., Merah B., Foetas Z., Souliani R., Saidi S et Dourdour A. Antimicrobial activity of the alkaloids and saponin extracts of *Anabasis articulata*. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, (2012), 3, 54-57.

Maatallah, S. (1970). *Contribution la valorisation de la datte algérienne*, thèse Ing.Agr., .IN.A., Alger, p.120.

Madhavan, HN., Murali, S. Mechanisms of Development of Antibiotic Resistance in Bacteria Among Clinical Specimens. *Journal of Clinical and Biomedical Sciences*; 1(2), p.42-48.

Madigan, MT., Martinko, JM., Dunlap, PV., Clark, DP. (2009). Brock Biology of Microorganisms, 12th edn. Pearson Education International, New York.

Maissaid, H. (2008). Optimisation du processus d'immersion-réhydratation du système dattes sèches-jus d'orange, mémoire de magister, université M'hamed Bouguera Boumerdes.

Maiza, K., Brac De La Perrière, A., Hammiche, V. (1993). Pharmacopée traditionnelle saharienne Sahara septentrional. Médicaments et aliments : l'approche ethnopharmacologique. 24-27.

Maiza, K., De La, B., Perriere, R. A. & Hammiche, V. Pharmacopée Traditionnelle Saharienne : Sahara septentrional. Journal Médicaments et Aliments : L'Approche Ethnopharmacologique, (1996), 169.

Maiza, k., Hammiche, V., Maiza-Benadesslam, F. Traditional medecine in north Sahara : The 'Deffi '. Life Sciences leaflets, (2011), 16, 55-560.

Makhloufi, A., Moussaoui, A., Lazouni, HA. Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf) growing wild in Bechar, South west of Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, (2012), 6 (16), 3124-3128.

Mather, S., Gonzalez, L. Identification of Terpenoids from leaves of *Piptocarpha perctoca* and their biological activitie. Journal of Natural Products, (1982), 45: 495-496.

Meyer, A., Deina, J., Bernard, A., (2004). Agents antimicrobiens In: «Cours de microbiologie générale : avec problèmes et exercices corrigés». Wolters Kluwer France. 2^{ed}. DOIN éditeurs, p. 217-261.

Miller, CJ, Dunn, EV., Hashim, IB. The glycaemic index of dates and date/ yoghurt mixed meals. Are dates 'the candy that grows on trees'?. European Journal of Clinical Nutrition, (2003), 57: 427-430.

Moroh, j.-l. A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G., Guede-Guina, F. Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, (2008); Vol. 77, p. 44 - 61.

MUNIER, 1973. Le palmier dattier. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, p. 367.

Munita, JM., Arias, CA. Mechanisms of antibiotic resistance. Microbiol Spectrum 4(2): VMBF-0016-2015.

Nègre, R. (1962). Petite flore des régions arides du maroc occidental. TII. ED. CNRS, p.289.

Ncube, N.S., Afolayan, A.J., Okoh, A.I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. African Journal of Biotechnology. 7(12).

Ould El Hadj, M., Didi, Hadj-Mahammed, M. & Zabeirou H. Place Des Plantes Spontanées dans la Médecine Traditionnelle de la Région de Ouargla (Sahara Septentrional est). Journal Courrier du Savoir, (2003), n°03, p. 47-51.

Özçelik, B., Kartal, M. et Orhan, I. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids, *Pharmaceutical Biology*, (2011), 49:4,

Ozenda, P. (2004). Flora and vegetation of the sahara, Edition by CNRS, Paris, p.438.601-602.

Perveen, K., Najat A. Bokhari and Dina A. W. Soliman. Antibacterial activity of *Phoenix dactylifera L.* leaf and pit extracts against selected Gram negative and Gram positive pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, (2012), 6(2), p. 296-300.

Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., Jose, Nunez M., Nicoli, M.C. Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Food Chemistry*, (2005), 92: 109-117.

Quezel, P., Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edites by CNRS, Paris, p.982.

Rakotonanahary Maldonado, M. Peumus boldus M. : de la botanique à la thérapeutique : état des connaissances en 2012. *Sciences pharmaceutiques* , (2012), p16.

Rani, A., Jain, S., Dureja, P., Kumar, R., Kumar, A. Synergistic interaction between synthetic and natural products: a promising tool for the development of environmentally safe potent antimicrobial agents. *World Applied Sciences Journal*, (2009), 5(Special Issue for Environment):59-63.

Roberto, M.M., Jamal, C.M., Malaspina, O., Marin-Morales, M.A. Antigenotoxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system, (2016), *Genetics and Molecular Biology*, 39, 2, 257-269.

Sawer, IK., Berry, MI., Ford, JL. The killing effect on *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, (2005), 40: 24-29.

Seelig, RA. (1974). Fruits and vegetables facts and pointers. United fresh fruit and vegetable association, Washington, DC, USA.

Shuvasish, C., Parul, S., Manabendra, DC., Gauri, DS. Ethnomedicinal plants used by Chorei tribes of Southern Assam, North Eastern India. *Asian. Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, (2012), 2(1):141-147.

Siddiqui, MH., Mohamed Al-Whaibi, H., Mohammed Basalah, O. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma*, (2010), 248:447-455.

Spigno, G., Tarmelli, L., et de Faveri, D.M. Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, (2007), 81 (1): 200-208.

Stalikas, C.D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, (2007), 30, 3268–3295.

Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D., Ouar Korich, M.N. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, (2001), 91(1), 5-12. 396-402.

Zaid, A. (1999). Date palm cultivation. Rome: United Nations FAO Plant Production and Protection Paper.

ANNEXES

Annexe 1

➤ Composition des milieux

Bouillon nutritif (g/l)	Muller-Hintone(MH) (g/l)
Macération de viande (ou extrait de viande + eau distillée)....1litre	Infusion de viande de bœuf.....300
Peptone tryptique.....15	Hydrolysate de caséine.....17,5
NaCl ou KCl.....5	Amidon.....1,5
	Agar.....17
pH 7,2	pH 7,4

➤ Antibiotiques utilisés :

Amoxyclave : 30 microgrammes de HiMedia Laboratoire, India. SD063-1CT.

Ceftazidime : 30 microgrammes de HiMedia Laboratoire, India. SD062-1CT.

Amikacine : 30 microgrammes de TITAN Media.

Gentamicine : 10 microgrammes. Cypress Diagnostics. lot 160524c (ref) 1.90, 26.

➤ Matériel et réactifs

Matériel	Réactifs
- pH mètre (HNNA instruments).	- Méthanol (SIGMA-ALORICH).
- Tamiseur (Retsch).	- Chloroforme (BIOCHEM).
- Balance (RADWAG).	- Hexane (BIOCHEM).
- Vortex (BOECO).	- Acide chlorhydrique (HCl).
- Hotte (Telstar Bio II Advance 3).	- Acide acétique.
- Appareil de soxhlet (behi Labotechnik).	- Ammoniac.
	- Diméthylsulfoxyde (DMSO).
	- Dichlorométhane.
	- Hydroxyde de Sodium (NaOH).

Annexe 2

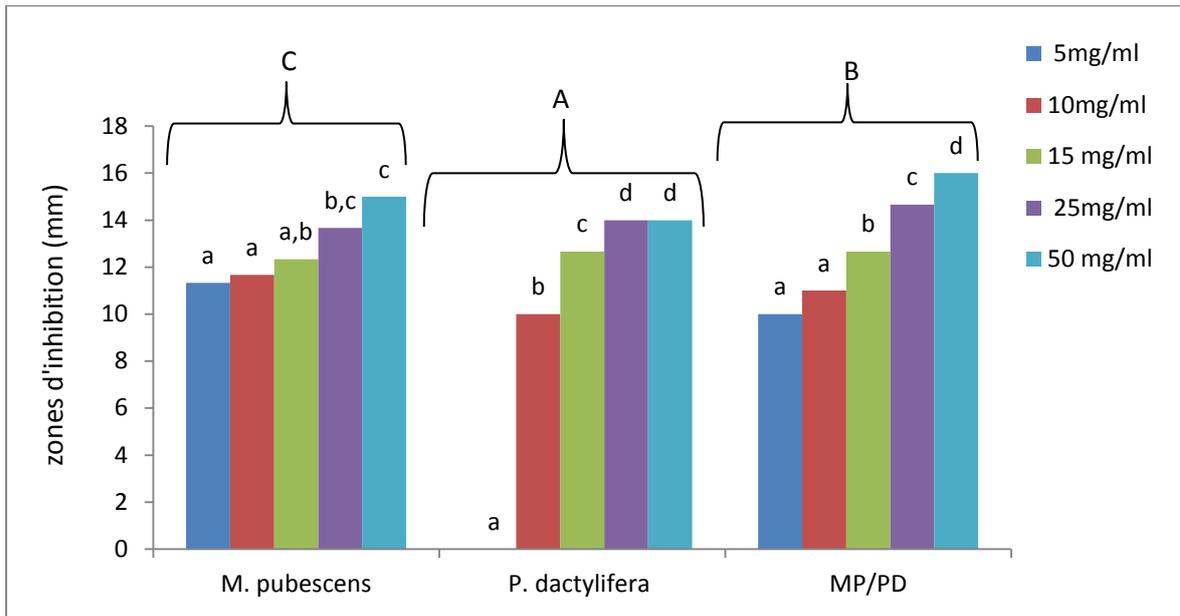


Figure 1 : Activité antibactérienne des extraits de *M. pubescens*, *P. dactylifera* et du mélange sur la souche *S. aureus* ATCC25923 avec les concentrations de 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 25 et 50 mg/ml.

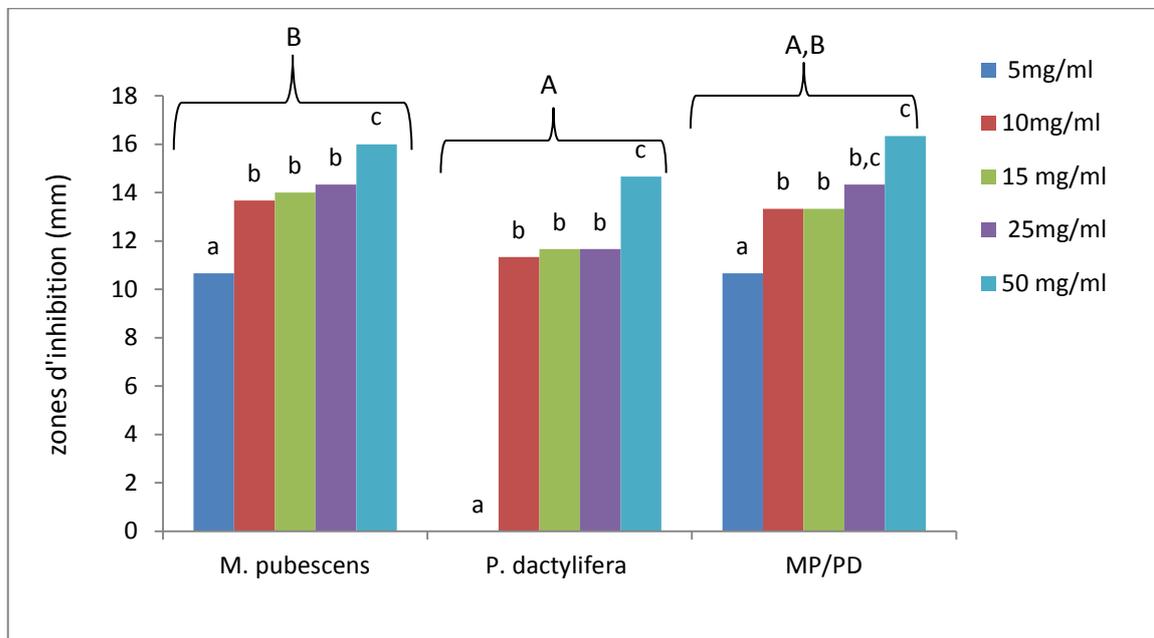


Figure 2 : Activité antibactérienne des extraits de *M. pubescens*, *P. dactylifera* et du mélange sur la souche SARM ATCC 43330 avec les concentrations de 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 25 et 50 mg/ml.

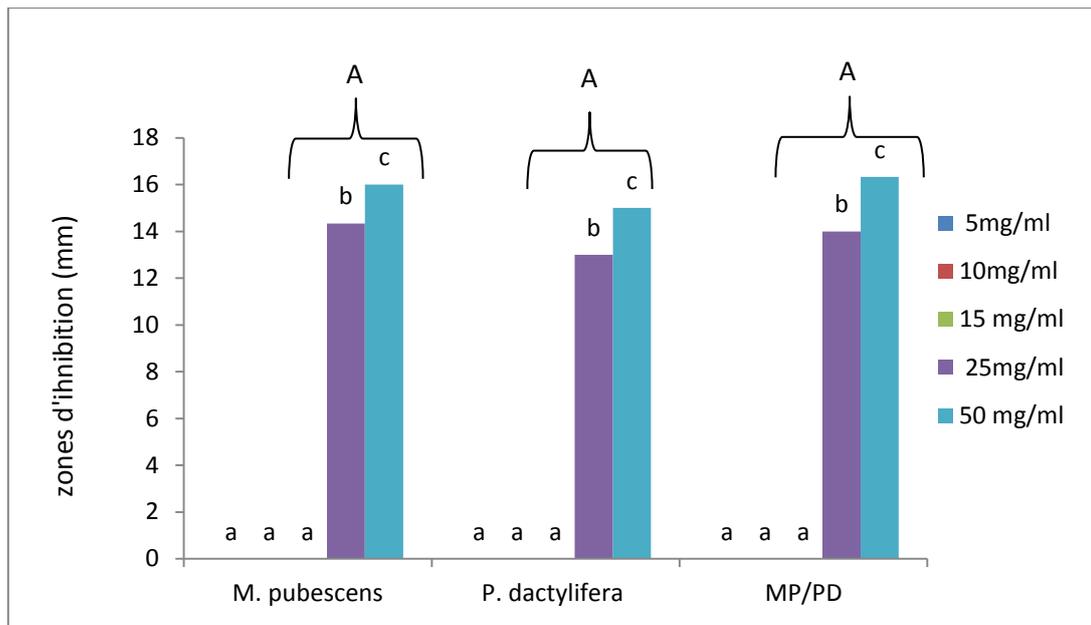


Figure 3 : Activité antibactérienne des extraits de *M.pubescens*, *P.dactylifera* et du mélange sur la souche *E.coli* ATCC 25922 avec les concentrations de 5 mg/ml, 10 mg/ml , 15 mg/ml, 25 et 50 mg/ml.

Résumé

Dans la recherche de nouvelles molécules bioactives, nous avons tourné le regard vers l'aromathérapie dans le but d'une action antibactérienne et synergique avec des antibiotiques. Nous avons donc choisi d'extraire les alcaloïdes d'une plante médicinale *Matricaria pubescens* et de *Phoenix dactylifera* et de leur mélange par soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, les résultats obtenus révèlent que *M. pubescens* présente le taux d'extraction le plus élevé avec un rendement de 3.2%. Nous avons pu démontrer d'après des aromatogrammes réalisés, l'effet antibactérien des trois extraits aussi bien sur des souches gram+ que sur une souche gram-, à savoir *E.coli* ATCC 25922, SARM ATCC 44300 et *S. aureus* ATCC 25923. La plus forte zone d'inhibition de 16.3 mm est obtenue avec l'extrait alcaloïdique du mélange *M. pubescens/Phoenix dactylifera* à la concentration de 50 mg/ml sur la souche *E.coli* ATCC 25922 et SARM ATCC 44300. Ce dernier est plus actif sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 avec une CMI égale à 0.781 mg/ml suivie de celle de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ATCC 43300 (1.562 mg/ml). Tous les extraits possèdent un effet bactériostatique sur toutes les souches étudiées. Une amélioration de l'activité antibactérienne est démontrée suite à la réalisation de combinaisons synergiques entre les différents extraits avec des antibiotiques; CAZ, AMK, AMC et la GM sur les souches testées. L'extrait méthanolique de *M.pubescens* et son mélange avec les dattes présentent une récupération de 6 mm associés à l'amikacine, la combinaison des alcaloïdes de *Phoenix dactylifera* avec la ceftazidine a montré un effet antagoniste, avec une réduction de 7 mm de diamètre sur la souche SARM ATCC43300.

Mots clés : *Matricaria pubescens*, *Phoenix dactylifera*, alcaloïdes totaux, activité antibactérienne, synergie

Abstract

In the search for new bioactive molecules, we turned our attention to aromatherapy for the purpose of antibacterial and synergistic action with antibiotics. Therefore, we have chosen to extract the alkaloids from a medicinal plant *Matricaria pubescens* and *Phoenix dactylifera* and their mixture by soxhlet using methanol as extraction solvent, the results obtained reveal that *M. pubescens* shows the highest extraction rate with a yield of 3.2%. We were able to demonstrate, from aromatograms, the antibacterial effect of the three extracts on both gram and gram strains, namely *E.coli* ATCC 25922, MRSA ATCC 44300 and *S. aureus* ATCC 25923. The largest zone of inhibition of 16.3 mm is obtained with the alkaloid extract of the *M. pubescens /Phoenix dactylifera* mixture at the concentration of 50 mg /ml on the strain *E.coli* ATCC 25922 and SARM ATCC 44300. It is more active on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with a MIC of 0.781 mg / ml followed by the activity on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 with a MIC of 1.562 mg /ml. All the extracts have a bacteriostatic effect on all the strains studied. An improvement in the antibacterial activity is demonstrated following the realization of synergistic combinations between the various extracts with antibiotics; CAZ, AMK, AMC and GM on the strains tested. The extract of *M.pubescens* and its mixture with the dates showed a 6 mm recovery associated with amikacin, the combination of the alkaloids of *Phoenix dactylifera* with ceftazidim showed an antagonistic effect, with a reduction of 7 mm in diameter on the Strain MRSA ATCC43300.

Key words: *Matricaria pubescens*, *Phoenix dactylifera*, total alkaloids, antibacterial activity, synergy.

ملخص

في البحث عن جزيئات جديدة نشيطة بيولوجيا، وجهنا نظرنا نحو المعالجة بالعطريات لغرض العمل المضاد للبكتيريا و التصافر مع المضادات. لذلك اخترنا استخلاص الفلويديات من النبات الطبي *Matricaria Pubescens*, *Phoenix dactylifera* و مزيجهما عن طريق جهاز السوكليست (Soxhlet) باستخدام الميثانول محلولاً للاستخلاص. النتائج المحصلة عليها بينت أن *M.pubescens* أظهر أكبر معدل استخلاص بمرود يعادل 3,2%. تمكنا من خلال الأروماتوغرام (aromatogramme) المحقق اظهار التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات الثلاثة على سلالات gram+ و سلالة gram- على النحو التالي: *E.Coli*, ATCC5922, TACC44300 SRAM, *Staphylococcus aureus* ATCC25923. منطقة التثبيط الكبرى متحصل عليها بتركيز 50 mg/ml ضد السلالة *E.coli* ATCC25922 و SARM ATCC44300. هذا الأخير أكثر فعالية على *Staphylococcus aureus* بالتركيز المثبط الأدنى (CMI) المقدر ب 0,781mg/ml يليه التركيز المؤثر علي *S.aureus* المقاوم للميتيسيلين (méthicilline). كل المستخلصات المتحصل عليها لديها تأثير مثبط على جميع السلالات المدروسة. قد ثبت تحسين العمل المضاد للبكتيريا بعد انجاز تركيبات تصافرية بين المستخلصات المختلفة مع المضادات, CAZ, AMK, AMC, و GM ضد السلالات المدروسة. المستخلص الميثانولي ل *M.pubescens* ومزيجه مع التمر أظهر استرجاع مقدر ب 6mm اتحادا مع الأميكاسين (amikacine), تركيبة فلويديات *Phoenix dactylifera* مع المضاد سفتازيدين (ceftazidime) أظهر تأثير معاد بتخفيض يعادل 7 mm في القطر على السلالة SARM ATCC44300. كلمات البحث: *Phoenix dactylifera*, *Matricaria pubescens*, فلويديات كلية, عمل مضاد للبكتيريا, تصافر.