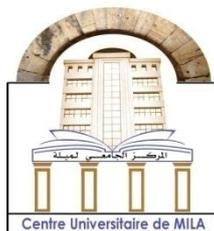


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf :.....

## Centre Universitaire de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie  
Département des sciences de la nature et de la vie

**Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master**

En :

Filière : Biologie

Spécialité : Biologie appliquée et environnement

Option : Biochimie et microbiologie appliquée

### Thème

**Activité antibactérienne des extraits  
de *Carthamus caeruleus L.***

Préparé par : BAZ Nadjat

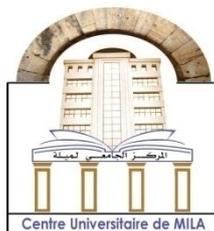
MERAKCHA Amel

Soutenu le 08/06/2014 devant le jury :

- |                            |        |                              |
|----------------------------|--------|------------------------------|
| - Président : BOUBENDIR A. | M.C. B | Centre Universitaire de Mila |
| - Examineur : KELLAB R.    | M.A. A | Centre Universitaire de Mila |
| - Promoteur : ZOUAGHI M.   | M.A. A | Centre Universitaire de Mila |

Année universitaire : 2013/2014

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Réf :.....

## Centre Universitaire de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie  
Département des sciences de la nature et de la vie

**Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master**

En :

Filière : Biologie

Spécialité : Biologie appliquée et environnement

Option : Biochimie et microbiologie appliquée

### Thème

**Activité antibactérienne des extraits  
de *Carthamus caeruleus L.***

Préparé par : BAZ Nadjat

MERAKCHA Amel

Soutenu le 08/06/2014 devant le jury :

- |                            |        |                              |
|----------------------------|--------|------------------------------|
| - Président : BOUBENDIR A. | M.C. B | Centre Universitaire de Mila |
| - Examineur : KELLAB R.    | M.A. A | Centre Universitaire de Mila |
| - Promoteur : ZOUAGHI M.   | M.A. A | Centre Universitaire de Mila |

Année universitaire : 2013/2014

## *Remerciements*

*Tout d'abord Nous remercions **dieu** le tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a aidé à mener ce travail à sa fin.*

*Nos vifs remerciements vont également à notre promoteur **Mr Zouaghi Mohammed**, Maître assistant A au centre universitaire de Mila, pour avoir dirigé ce travail et pour sa grande patience, sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également **Mr Boubendir Abdelhafid**, Maître de conférence au centre universitaire de Mila pour avoir accepté de présider le jury.*

*Nous remercions **Mr Kellab Rabah**, Maître assistant A au centre universitaire de Mila pour sa participation à l'évaluation du travail présenté.*

*Nous remercions tous les membres du « Laboratoire de biologie du centre universitaire de Mila »*

*Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

*Je dédie ce travail :*

*A mes **Parents** qu'ils trouvent ici toute ma gratitude Pour leur soutien tout le long de mes études.*

*A mes **Sœurs** et mes **Frères** pour leur soutien physique et moral et ma grande famille.*

*Et j'exprime mes profonds remerciements et mes sentiments de gratitude à **mon mari**, pour m'avoir encouragé et aidé surtout dans les moments difficiles et pour ses conseils les plus importants et pour sa patience.*

*A mon encadreur **Zouaghi Mohammed** et tous mes enseignants.*

*A mes **Amis** et toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Amal*

## *Dédicace*

*Avec l'aide de dieu le tout puissant est achevé le présent travail que je dédie:*

*A mes espoirs dans la vie, les plus chères personnes que je n'arrive pas et je n'arriverai jamais à rendre ce qu'ils m'ont donnés, les plus belles personnes au monde, mes parents, pour leurs dévouements, leurs compréhensions, leurs grandes tendresses et leurs prières pour moi. Que dieu le tout puissant les garde pour moi.*

*A mon encadreur **Zouaghi Mohammed** et tous mes enseignants.*

*A mes chères frères et sœurs pour leur soutien physique et moral*

*A mes grands parents, et ma grande famille.*

*A tous mes amies avec qui j'ai partagé mon parcours universitaire.*

*A ceux et celles qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

***Nadjat***

# Sommaire

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux.....	v
Introduction.....	1

## ***Chapitre I : Synthèse bibliographique***

I.1. Généralité sur les plantes médicinales.....	2
I.2. Présentation de la plante étudiée.....	2
I.2.1. Principales espèces du genre <i>Carthamus</i> et leur répartition.....	2
I.2.2. <i>Carthamus caeruleus</i> .....	3
I.2.2.1. Classification.....	3
I.2.2.2. Description botanique.....	3
I.2.2.3. Distribution géographique.....	4
I.2.2.4. Effets et usages thérapeutiques.....	5
I.3. Substances végétales bioactives.....	5
I.3.1. Polyphénols.....	5
I.3.1.1. Acides phénoliques.....	6
I.3.1.2. Flavonoïdes.....	6
I.3.1.3. Tanins.....	7
I.3.1.4. Biosynthèse des polyphénols.....	8
I.3.1.5. Bioactivité des polyphénols.....	8
I.3.2. Alcaloïdes.....	10
I.3.2.1. Localisation et répartition.....	10
I.3.2.2. Classification.....	10
I.3.2.3. Bioactivité.....	10
I.3.3. Huiles essentielles.....	11
I.3.3.1. Localisation et répartition.....	11
I.3.3.2. Classification.....	11
I.3.3.3. Bioactivité.....	12

## ***Chapitre II : Matériel et méthodes***

II.1. Matériel.....	14
II.1.1. Matériel végétal.....	14

II.1.2. Souches bactériennes.....	14
II.2. Méthodes.....	14
II.2.1. Conservation des souches bactériennes.....	14
II.2.2. Préparation des extraits racinaires.....	15
II.2.3. Détermination du rendement d'extraction.....	16
II.2.4. Tests phytochimiques.....	17
II.2.4.1. Détection des polyphénols.....	17
II.2.4.2. Détection des saponosides.....	17
II.2.4.3. Détection des flavonoïdes.....	17
II.2.4.4. Détection des tanins.....	18
II.2.4.5. Détection des coumarines.....	18
II.2.4.6. Détection des composés réducteurs.....	19
II.2.4.7. Détection des anthraquinones.....	19
II.2.4.8. Détection des anthocyanes.....	19
II.2.4.9. Détection des alcaloïdes.....	19
II.2.5. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	21
II.2.5.1. Principe.....	21
II.2.5.2. Mode opératoire.....	21
II.2.6. Activité antibactérienne.....	22
II.2.6.1. Principe.....	22
II.2.6.2. Technique.....	22
 <b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
III.1. Résultats.....	26
III.1.1. Rendement des extractions.....	26
III.1.2. Tests phytochimiques.....	26
III.1.3. Analyse chromatographique sur couche mince (CCM) des extraits de <i>C. caeruleus</i> .....	27
III.1.4. Etude de l'activité antibactérienne.....	30
III.1.4.1. Détermination des antibiogrammes des souches testées.....	30
III.1.4.2. Sensibilité des souches bactériennes aux extraits bruts.....	31
III.2. Discussion.....	34
III.2.1. Préparation des extraits de <i>Carthamus caeruleus</i> .....	34

III.2.2. Screening phytochimique et analyse chromatographique par CCM des extraits.....	35
III.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	35
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	40
Annexes.....	47
Résumés	

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ATCC** : American Type Culture Collection

**C** : Atome de carbone

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CIP** : Ciprofloxacine

**DMSO** : Diméthyle sulfoxyde

**DO** : Densité optique

**Ex.Aq** : Extrait aqueux

**Ex.Chl** : Extrait chlorophormique

**Ex. MeOH** : Extrait Méthanolique

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique

**FOX** : Céfoxitine

**g** : Gramme

**h** : Heure

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**HCl** : Chlorure d'hydrogène

**HSV-1** : Virus herpes 1

**HSV-2** : Virus herpes 2

**IN** : Intermédiaire

**IPN** : Imipénène

**m** : Mètre

**MeOH** : Méthanol

**mg** : Milligramme

**Mg<sup>++</sup>** : Magnésium

**min** : Minutes

**ml** : Millilitre

**mm** : Millimètre

**MSPRH** : Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière

**NA** : Acide nalidixique

**NaOH** : hydroxide de sodium

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxide d'ammonium

**nm** : Nanomètre

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**Pp** : Poids de la poudre

**Ps** : poids de l'extrait sec

**R** : Résistance

**Rd** : Rendement

**Rf** : Rapport frontal

**S** : Sensible

**sp** : Species

**UV** : Ultraviolet

**%** : Pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**λ** : Lambda (longueur d'ondes)

**φ** : Diamètre

**μl** : Microlitre

## *Liste des figures*

<b>Numéro de la figure</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Page</b>
1	<i>Carthamus caeruleus</i> L. au stade floraison	4
2	Distribution de <i>Carthamus caeruleus</i> en Afrique et en France	4
3	Principaux acides hydroxycinnamiques	6
4	Principaux acides hydroxybenzoïques	6
5	Structure des principales classes de flavonoïdes	7
6	Structure des principales classes de tanins	7
7	Structure chimique de certains monoterpènes	7
8	Structure chimique de certains composés aromatiques	11
9	Repiquage et conservation des souches	15
10	Préparation des cultures bactériennes dans du glycérol pour congélation	15
11	Protocole d'extraction	16
12	Protocole de détection des polyphénols	17
13	Protocole de détection des flavonoïdes	18
14	Protocole de détection des tanins	18
15	Protocole de détection des coumarines	20
16	Protocole de détection des composés réducteurs	20
17	Protocole de détection des anthraquinones	20
18	Protocole de détection des anthocyanes	20
19	Protocole de détection des alcaloïdes	20
20	Dépôts des échantillons et développement chromatographique	22
21	Préparation des inocula	23
22	Etape d'ensemencement (écouvillonnage)	24

23	Découpage et remplissage des puits	24
24	Dépôt des disques d'antibiotiques sur Muller-Hinton	25
25	Rendement des extraits bruts de <i>Carthamus caeruleus</i>	26
26	Chromatogramme des extraits chloroformique (Ex.Chl), aqueux (Ex.Aq) et méthanolique (Ex.MeOH)	28
27	Effets des antibiotiques sur quelques souches testées	30
28	Action inhibitrice des extraits sur quelques bactéries testées	32

## *Liste des tableaux*

<b>Numéro du Tableau</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>page</b>
1	Distribution géographique de quelques espèces du genre <i>Carthamus</i>	3
2	Principales classes de composés phénoliques	5
3	Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne	9
4	Résultats des tests phytochimiques sur les extraits bruts des racines de <i>C. caeruleus</i>	27
5	Rf et couleur des bandes des différents extraits observées à l'œil nu	29
6	Rf et couleur des bandes séparées de l'Ex.MeOH révélées sous lampes UV	29
7	Rf et couleur des bandes séparées de l'Ex.Aq révélées sous lampes UV	29
8	Rf et couleur des bandes séparées de l'Ex.Chl révélées sous lampes UV	30
9	Sensibilité des souches étudiées aux antibiotiques utilisés	31
10	Diamètres des zones d'inhibition (en millimètre) des souches bactériennes provoqués par les extraits, le control négatif et le control positif	33

# *Introduction*

## *Introduction*

Les plantes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pendant plusieurs millénaires. Nos ancêtres, par leur curiosité et leur besoin pressant pour guérir et soulager leurs peines, sont arrivés à l'identification des particularités et vertus des plantes qui les entourent en se basant sur leur « signature » (forme, couleur, odeur) comme seul guide (**Rodriguez, 2007**).

Depuis, les plantes médicinales ne cessent de connaître un intérêt de plus en plus croissant dans divers domaines : cosmétique, pharmacologique, thérapeutique, additifs alimentaires... Elles constituent, en fait, un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité structurale et possédant un très large éventail d'activités biologiques.

Au cours de ces dernières années, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**Muthu et al, 2006**), malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique. Le retour à la médication traditionnelle avec une telle ampleur est, en fait, encouragé par les effets secondaires, parfois très grave, engendrés par l'utilisation des médicaments de synthèse chimique. Le cas de l'apparition d'une résistance microbienne vis-à-vis des antibiotiques est un exemple très frappant. De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives depuis des sources naturelles (plantes médicinales) et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques à travers le monde et en Algérie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1997**).

L'Algérie dispose d'un couvert végétal assez varié et compte de nombreuses plantes médicinales à usage traditionnel très fréquent. *Carthamus caeruleus* est l'une des espèces utilisée en thérapie folklorique dans certaines régions du pays (Bougââ, wilaya de Sétif par exemple) où elle est employée pour guérir les brûlures et comme cicatrisant. C'est pour cela, nous nous sommes proposées de présenter ce travail qui touche un aspect bien déterminé : L'activité antibactérienne des extraits de la plante.

Pour en arriver, l'étude est passée par plusieurs étapes résumées dans ce qui suit :

- \*Préparation des différents extraits (aqueux, méthanolique et chloroformique).
- \*Etude phytochimique des extraits obtenus.
- \*Enfin, évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits préparés.

*Chapitre I*  
*Synthèse bibliographique*

## I.1. Généralité sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Ce sont des drogues végétales dont au moins une de leurs parties (feuilles, fleurs, racines...) possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth et al., 1986**).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins thérapeutiques, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin croissant en matière de traitement malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles (**Elqaj et al., 2007**). En effet, environ 80% de la population mondiale profite de la médecine traditionnelle à base de plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques des ancêtres (**EL Rhaffari et Zaid, 2004**). En plus de leur efficacité, ces remèdes naturels ont moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse.

Néanmoins, lorsqu'ils sont mal utilisés, ils peuvent être mortels ou toxiques pour l'organisme (**Duraffourd et al., 1997**).

## I.2. Présentation de la plante étudiée

La plante sélectionnée appartient au genre *Carthamus*. Les carthames sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des astérales, et à la famille des composacées ou astéracées (*Compositae* ou *Asteraceae*). Ce sont des plantes qui ressemblent par bien des aspects aux chardons et qui sont presque toutes méditerranéennes.

Ces plantes sont vivaces, bisannuelles ou annuelles généralement épineuses et produisent des fleurs tubulées groupées en capitules solitaires, entourés d'un involucre de bractées épineuses, avec de nombreuses bractées externes foliacées (**Kriss, 2007**).

### I.2.1. Principales espèces du genre *Carthamus* et leur répartition

Le genre *carthamus* contient plusieurs espèces distribuées dans diverses régions dans le monde (**Tableau 1**).

**Tableau 1 :** Distribution géographique de quelques espèces du genre *Carthamus* (Kriss, 2007)

Espèces	Distribution
<i>Carthamus alexandrinus</i>	Egypte, Afrique du nord.
<i>Carthamus arborescens</i>	Espagne, Nord-Ouest africain.
<i>Carthamus baeticus</i>	Afrique du Nord, Egypte, Sud européen.
<i>Carthamus calvus</i>	Algérie.
<i>Carthamus dentatus</i>	Balkans, Turquie.
<i>Carthamus caeruleus</i>	Méditerranée.
<i>Carthamus glaucus</i>	Asie mineure.
<i>Carthamus nitidus</i>	Asie mineure.
<i>Carthamus tenuis</i>	Méditerranée orientale.

**I.2.2. *Carthamus caeruleus***

Le genre *Carthamus* comprend 14 espèces dont la carduncelle bleue ou le kendjar, son nom scientifique est *Carthamus caeruleus* L. ou *Carduncellus caeruleus* L. D'autres noms synonymes sont aussi utilisés comme *Onoborma caerulea* et *Carthamus tingitanus* (Kriss, 2007).

**I.2.2.1. Classification**

Règne : Plantae

Famille : Compositae

Genre : *Carthamus*

Espèce : *Carthamus caeruleus* L.

Sous espèce : *Carthamus caeruleus subscaeruleus* (Kriss, 2007).

**I.2.2.2. Description botanique**

La carduncelle bleue est une plante annuelle ou bisannuelle dont les caractéristiques botaniques sont les suivantes (Quezel et Santa, 1963 ; Mioulane, 2004) :

\*Tige ascendante simple ou très peu rameuse, glabre, dressée et velue (haute de 0.2 à 0.6 m).

\*Feuilles glabres ou pubescentes, fortement nervurées, à contour ovale ou lancéolé ; les inférieures pétiolées, dentées ou lyrées-pinnatifides, les supérieures sessiles-amplexicaules ou dentées-épineuses.

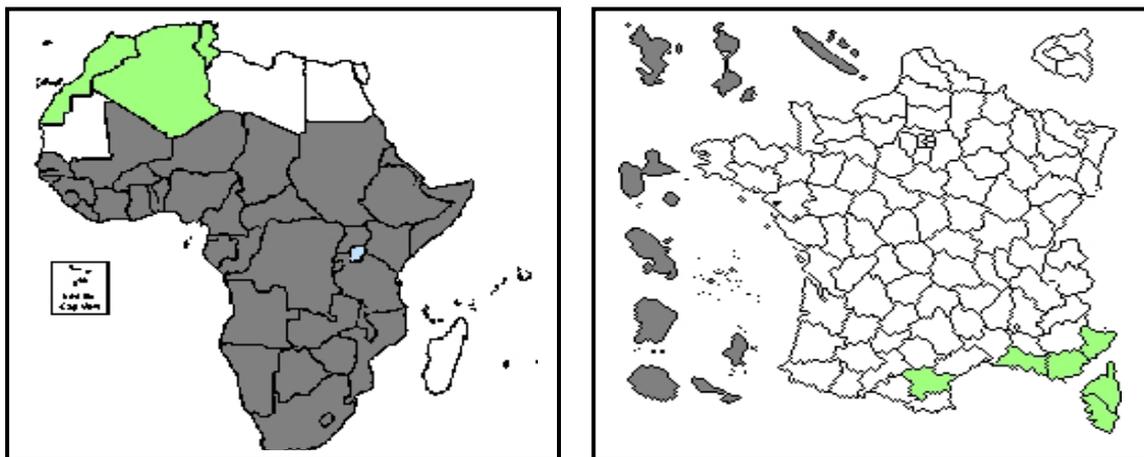
\*Fleurs bleues, en capitules terminaux solitaires (3 cm de large sur 3 – 4 cm de long), ont une corolle tubuleuse. En outre les fruits du *Carthamus caeruleus* L. sont des akènes d'une longueur de 1 cm.



**Figure 1 :** *Carthamus caeruleus* L. au stade floraison (Dobignard, 2008).

### I.2.2.3. Distribution géographique

La carduncelle bleue pousse sur des terrains maigres et préfère les lieux secs et ensoleillés du bassin méditerranéen. Elle est originaire du Sud - Ouest de l'Asie et d'Orient (Mioulane, 2004). Cette espèce s'est répandue ensuite dans le reste de l'Asie, en Afrique du Nord, en Australie même et dans les deux Amériques, ainsi qu'en Europe (Figure 2) (Boullard, 2001).



#### Légende

- Zone géographique non renseignée
- Présent
- Présence non signalée

**Figure 2 :** Distribution de *Carthamus caeruleus* en Afrique et en France (Dobignard, 2008).

#### I.2.2.4. Effets et usages thérapeutiques

*Carthamus caeruleus L.* est l'une des espèces végétales utilisées en médecine traditionnelle en Algérie. Les parties utilisées de cette plante sont principalement les racines. Elles sont employées dans le traitement des brûlures et comme cicatrisant. Après mouture des racines, la poudre obtenue est soit répandue directement sur la zone brûlée ou étalée sous forme d'une crème préparée dans du lait (**Belkhiri, 2009**).

L'effet thérapeutique des parties végétales revient en fait à la présence de nombreuses molécules dont les polyphénols qui se caractérisent par un très large éventail d'activités biologiques (**Rösch et al., 2004**).

#### I.3. Substances végétales bioactives

Chaque espèce végétale contient diverses substances présentant souvent des structures complexes et qui sont classées selon leur appartenance chimique (**Judd, 2002**).

Parmi ces substances on trouve les composés phénoliques (les flavonoïdes, les tanins...), les saponosides, les huiles essentielles et les alcaloïdes qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

##### I.3.1. Polyphénols

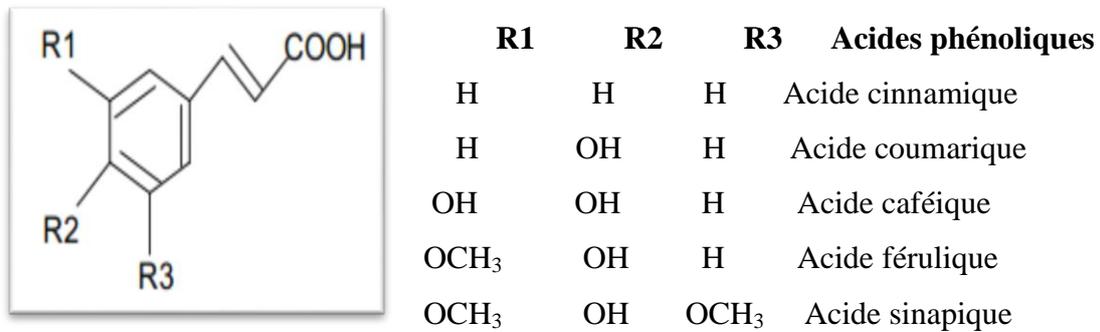
Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux qui se caractérisent par la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Leur structure est donc d'une complexité variable : les plus simples parmi ces molécules sont les acides phénoliques alors que les plus hautement polymérisées sont les tanins condensés (**Tableau 2**) (**Hennebelle, 2006**).

**Tableau 2** : Principales classes de composés phénoliques (**Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006**).

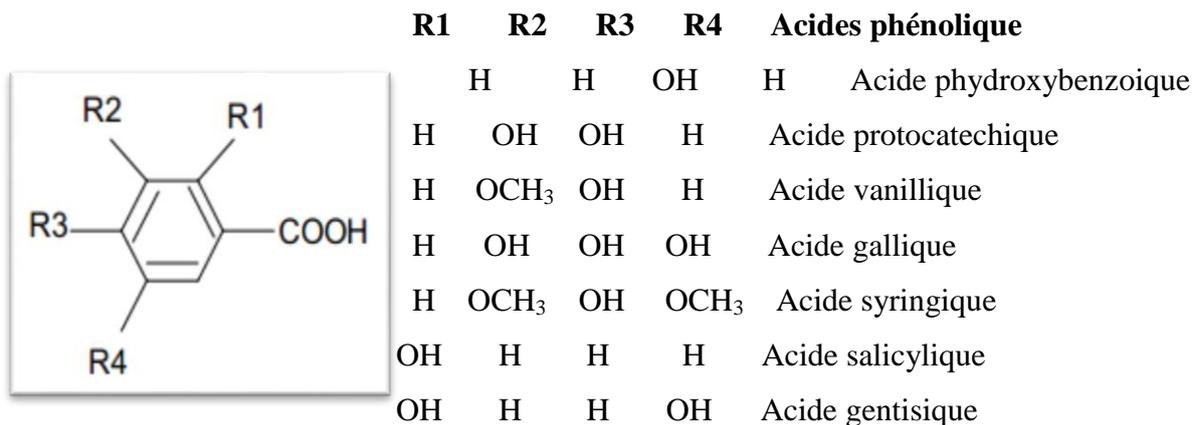
Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples
6	C6	Phénols simples	Cathécol, Hydroquinone
7	C6-C1	Acides phénols benzoïques	Ac. gallique, Ac. salysalique, vanilline
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl-6-méthoxybenzaldehyde
9	C6-C3	Acides phénols cinnamiques	Ac. coumarique, Ac.caféique
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine
13	C6-C1-C6	Xanthonés	Bellidifoline, Mangotéine
14	C6-C2-C6	Stiblènes	Hydrangéol, Pinosylvine
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoïde
18	(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Matairésinol
30	(C6-C3-C6) <sub>2</sub>	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone
N	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Tanins condensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins

### I.3.1.1. Acides phénoliques

Ils appartiennent à deux groupes d'acides : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques dont les structures de base respectives sont de type (C6-C1) et (C6-C3) (**Figure 3 et 4**) (**Pascale et véronique, 2006**).



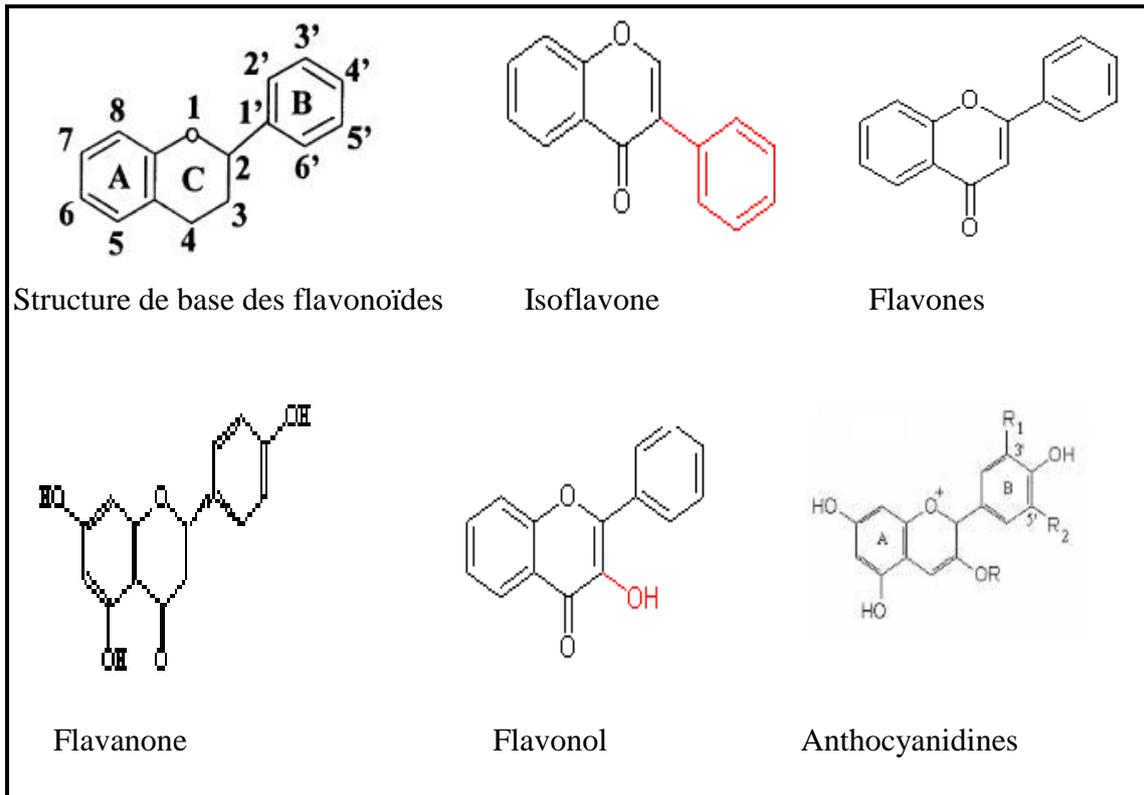
**Figure 3** : Principaux acides hydroxycinnamiques (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).



**Figure 4** : Principaux acides hydroxybenzoïques (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

### I.3.1.2. Flavonoïdes

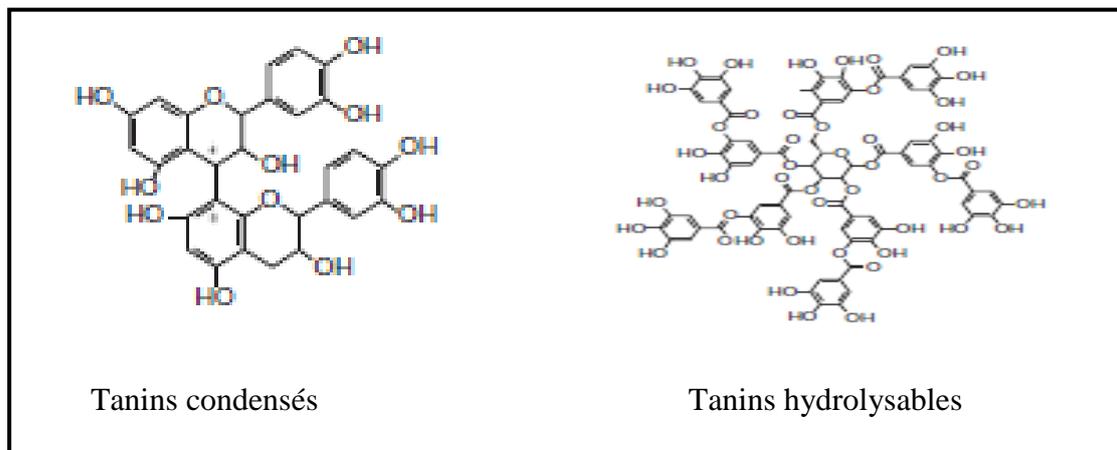
De structure générale en C15 (C6-C3-C6), les flavonoïdes comptent plusieurs milliers de molécules regroupées en plusieurs classes dont les plus importantes sont : les flavones, les flavonols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanidines (**Figure 5**) (**Pascale et véronique, 2006**). Cette grande diversité est due au fait que le squelette des flavonoïdes peut être substitué par différents groupements comme des groupements hydroxy, méthoxy, méthyl, benzyl et isoprényl (**Kueny-Stotz, 2008**).



**Figure 5:** Structure des principales classes de flavonoïdes (Pascale et véronique, 2006).

### I.3.1.3. Tanins

Les tanins constituent une famille complexe de principes actifs qui se répartissent dans toutes les parties des végétaux (écorces, racines, feuilles, etc.). Leur structure chimique comporte toujours une partie polyphénolique ; il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différentes (**Figure 6**) : les tanins hydrolysables (esters d'oses et d'acides phénols) et les tanins condensés (tanins catéchiques souproanthocyanidols) (Paolini *et al.*, 2003 ; Pascale et véronique, 2006).



**Figure 6 :** Structure des principales classes de tanins.

#### I.3.1.4. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être engendrés par deux voies métaboliques distinctes : la voie de l'acide shikimique et celle des polyacétates. La première voie conduit entre autres à la formation des acides phénoliques, flavonoïdes et lignanes, la seconde est à l'origine de composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (**Bruneton, 2008**).

#### I.3.1.5. Bioactivité des polyphénols

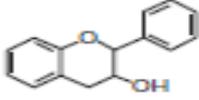
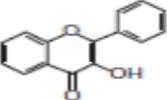
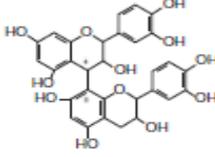
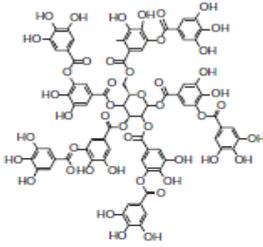
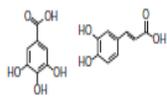
Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendantes de leur structure chimique. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes. Leur utilisation ne présente aucun effet nuisible sur la santé des personnes comparativement à leurs homologues synthétiques (**Bounatirou et al., 2007**).

En outre, des effets anti-carcinogène, anti-inflammatoire, antiathérogène, antithrombotique, analgésique, anticancéreux (**Babar et al., 2007**) anti-allergène et vasodilatateur (**Falleh et al., 2008**) sont rapportés.

Certaines de ces substances confèrent aux plantes une protection contre les infections microbiennes. Elles jouent le rôle de phytoalexines comme les isoflavonols permettant de lutter contre les infections causées par les champignons, ou par les bactéries (**Makoi et Ndakidemi, 2007**).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (**Tableau 3**). Plusieurs mécanismes sont impliqués entre autres : inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes, séquestration de substrat nécessaire à leur croissance ou inhibition du métabolisme microbien (**Milane, 2004**). La dégradation de la paroi cellulaire et l'influence sur la synthèse de l'ADN et de l'ARN sont d'autres moyens de destruction des bactéries (**Zhang et al., 2009**).

**Tableau 3 :** Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne (Daglia, 2011).

Composés phénoliques et leurs structures	Microorganismes sensibles	Exemples
 <p>Flavan-3-ol</p>  <p>Flavonol</p>	<p>Bactéries</p> <p>Virus</p> <p>Champignon</p>	<p><i>V. cholerae</i>, <i>S. mutans</i>, <i>C. jejuni</i>, <i>C. perfringes</i>, <i>E. coli</i>, <i>B. Cereus</i>, <i>H.pylori</i>, <i>S. aueus</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>A. naeslundii</i>, <i>P. oralis</i>, <i>P.gingivalis</i>, <i>P. melaninogenica</i>, <i>F. nucleatum</i>, <i>C. pneumonia</i></p> <p>Adénovirus, Entérovirus, Flu virus.</p> <p><i>Candida albicans</i>, <i>Microsporum gypseum</i>, <i>Trichophyton mentagrophytes</i>, <i>Trichophyton rubrum</i>.</p>
 <p>Tannins condensés</p>	<p>Bactéries</p> <p>Virus</p>	<p><i>S. mutans</i>, <i>E. coli</i>, <i>S. aureus</i>.</p> <p>Virus de l'influenza A, type -1 herpès simplex virus (HSV).</p>
 <p>Tannins hydrolysables</p>	<p>Bactéries</p> <p>Virus</p> <p>Champignon</p>	<p>Différentes souches de: <i>Salmonella</i>, <i>Staphylococcus</i>, <i>Helicobacter</i>, <i>E. coli</i>, <i>Bacillus</i>, <i>Clostridium</i>, <i>Campylobacter</i>, <i>Lysteria</i>.</p> <p>Le virus Epstein-Barr, les virus Herpes HSV-1 et HSV-2.</p> <p><i>Candida parapsilosis</i></p>
 <p>Acides phénoliques</p>	<p>Bactéries</p>	<p><i>S. aureus</i>, <i>L. monocytogenes</i>, <i>E.coli</i>, <i>P. aeruginosa</i></p>

### I.3.2. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées à propriétés basiques. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté, excepté pour certaines molécules dans lesquelles l'azote est extracyclique (cas de la colchicine et de l'éphédrine par exemple).

Les précurseurs de biosynthèse des alcaloïdes sont, dans la plus part du temps, des acides aminés à savoir la lysine, l'ornithine, la tyrosine et le tryptophane (**Dewick, 2001**).

#### I.3.2.1. Localisation et répartition

Les alcaloïdes dans leur grande majorité sont issus des plantes supérieures, mais leur répartition dans les familles botaniques est très irrégulière (**Bhat et al., 2005**). En effet, certaines familles en contiennent beaucoup plus que d'autres ; c'est le cas des *rutacées*, des *fabacées*, des *solanacées* et des *apocynacées* (plantes dicotylédones). Parmi les monocotylédones, on les trouve principalement chez les *liliacées* et les *amaryllidacées* (**abderrazak et Joel, 2007**).

Les organes de plantes élaborant les alcaloïdes sont variables. Les sites privilégiés de production de telles molécules sont les tissus en phase de croissance, les cellules épidermiques ou sous-épidermiques des feuilles, les téguments des graines et la partie corticale des racines (**Bhat et al., 2005**).

#### I.3.2.2. Classification

De puis leur découverte, des milliers d'alcaloïdes ont été isolés ou détectés chez les plantes, les champignons et même les animaux. A cause de cette grande diversité, la classification de ces métabolites repose sur plusieurs critères : l'origine biologique (végétale, animal,...), la voie de biosynthèse (dérivés d'acides aminés ou d'autres précurseurs,...), la structure (monocycliques azotés, hétérocycliques,...) et les propriétés spectroscopiques/spectrométriques (chromophores sous UV) (**Hesse, 2002**).

#### I.3.2.3. Bioactivité

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme (**McCalley, 2002 ; Stöckigt et al., 2002**) :

- \* Antitumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine.
- \* Antalgiques : morphine, codéine.
- \* Spasmolytiques : tubocurarine et papaverine.
- \* Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine.
- \* Emétiques : émétine.

- \* Antitussifs : codéine.
- \* Antiarythmiques : quinidine et ajmaline.
- \* Antipaludiques : quinine.
- \* Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine.

### I.3.3. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, volatiles, huileuses donc hydrophobes, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales ; Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras : elles sont uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles (**Coraline et al., 2006**).

#### I.3.3.1. Localisation et répartition

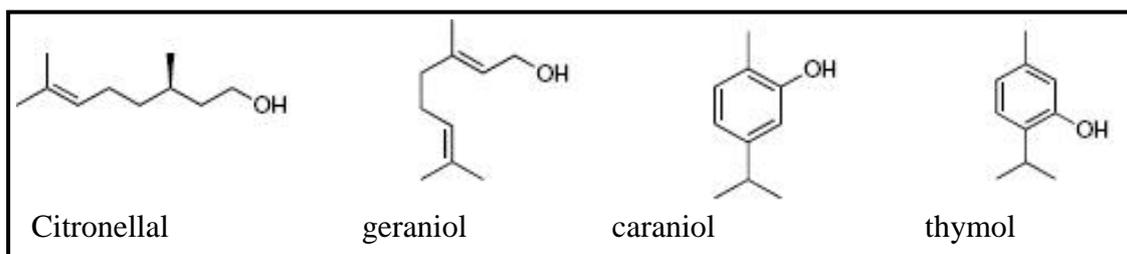
Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont synthétisées et stockées dans différents organes du végétal : dans les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rosier), dans les sommités fleuries (tagète, lavande), dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), dans l'écorce (cannelier), dans les racines (vétiver), dans les fruits (vanillier) ou encore dans les graines (muscade) (**Anton et Lobstein, 2005**).

#### I.3.3.2. Classification

Les huiles essentielles se répartissent en deux groupes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

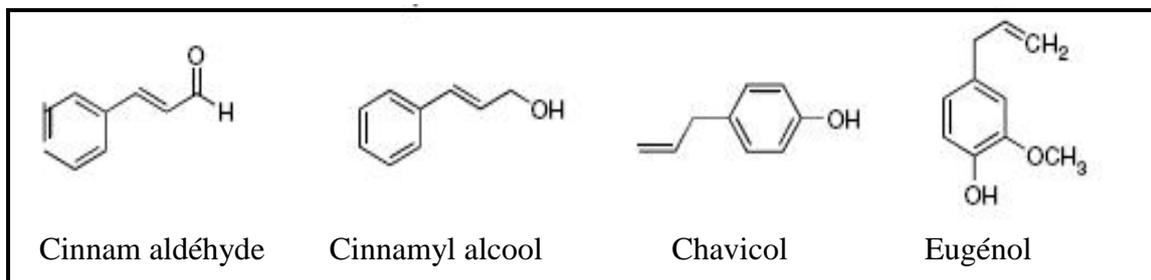
\*Les terpénoïdes sont constitués par polymérisation d'unités d'isoprène (C<sub>5</sub>). Ils se distinguent des autres classes de métabolites secondaires par leur origine commune et leur nature hautement lipophile (hydrophobe) (**abderrazak et Joel, 2007**).

Les plus simples de la série (monoterpènes) sont formés par couplage de deux unités isopréniques (C<sub>10</sub>) (**Figure 7**). Ils représentent 90 % des molécules des huiles essentielles et sont de nature chimique variable : alcools (géranol,  $\alpha$ -terpinéol, bonéol, trans-trans-farnésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone,  $\beta$ -vertivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéol) (**Bruneton, 1999**).



**Figure7** : Structure chimique de certains monoterpènes (**Bruneton, 1999**).

\*Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3) (**Figure 8**) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont des allyles, des propénylphénols et parfois des aldéhydes (**Bruneton, 1999**).



**Figure 8** : Structure chimique de certains composés aromatiques (**Bruneton, 1999**).

### I.3.3.3. Bioactivité

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées, pour leurs propriétés antiseptiques, contre de nombreuses infections d'origine bactérienne ou fongique. Elles présentent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Valero, 2006**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe. Cette dernière caractéristique facilite leur pénétration dans la double couche phospholipidique de la membrane des cellules bactériennes induisant un changement de sa conformation (**Cox et al., 2000**).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez certaines bactéries (**Warner et Michael Eskin, 1995**) ainsi que de la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**) ont aussi été rapportées.

L'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Selon **Vokou et ses collaborateurs (1988)** les phénols (eugénol, chavicol-4-allyl-2-6-diméthoxyphénol) sont plus antifongiques que les aldéhydes (cinnamique et hydro-cinnamique). L'activité des terpènes des huiles essentielles est également en corrélation avec leur fonction chimique (**Ulfree et al., 2002**).

Les huiles essentielles expriment aussi une activité antivirale. Comme exemple, **Schumacher et Reichling (2003)** ont obtenu, lors d'une étude réalisée *in vitro*, une inhibition de 50% des virus d'herpès simplex (HSV-1 et HSV-2) avec des concentrations entre 0.02% et 0.08% d'huiles essentielles de *Mentha piperita*.

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel végétal

Dans ce présent travail, nous avons étudié les propriétés antibactériennes des différents extraits obtenus à partir d'une plante médicinale utilisée en thérapie traditionnelle dans certaines localités de la wilaya de Sétif. Il s'agit de l'espèce *Carthamus caeruleus*. La partie utilisée (racines) a été récoltée en mois de juin 2011 dans la région de Bougaâ (Sétif). La plante était au stade fin floraison.

Après récolte, les racines sont nettoyées, séchées à l'abri de la lumière puis broyées dans un mixeur pour l'obtention d'une poudre fine. Cette dernière est ensuite stockée jusqu'à la réalisation des extractions.

### II.1.2. Les souches bactériennes

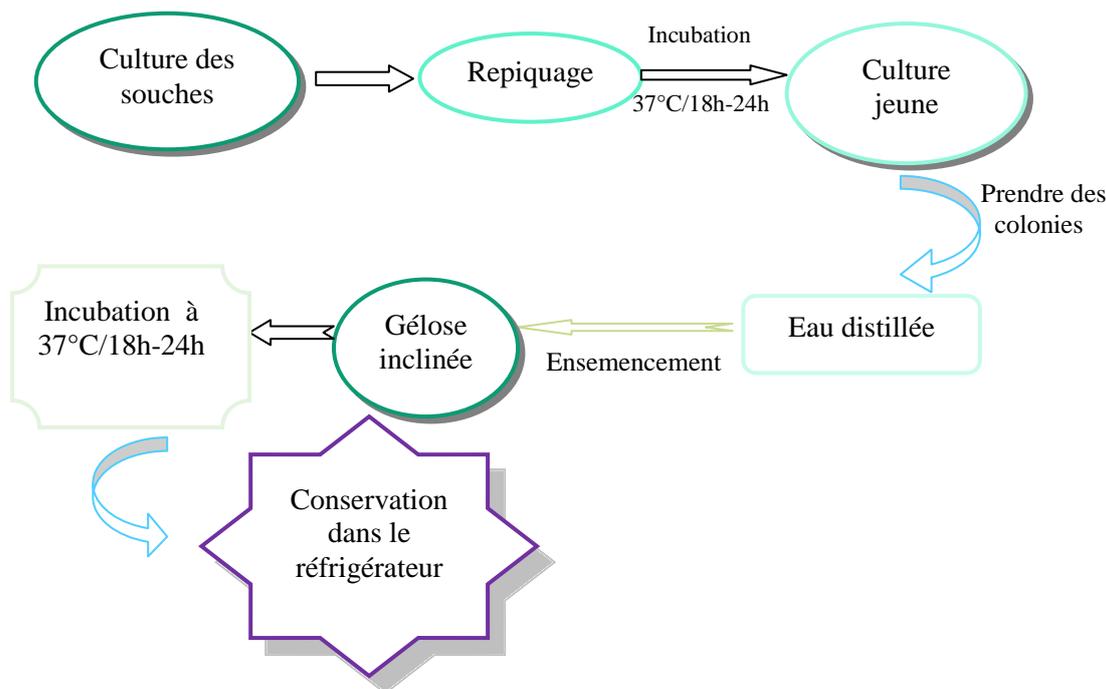
Les souches bactériennes utilisées dans l'essai sont : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (ramenées du laboratoire de recherche de microbiologie de l'université de Constantine) et *Proteus sp.*, *Streptococcus epidermis*, *Bacillus sp.* gram positif (souches bactériennes cliniques isolées à partir des prélèvements faits auprès des malades ayant des infections urinaires au niveau du laboratoire de bactériologie de Jijel).

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Conservation des souches bactériennes

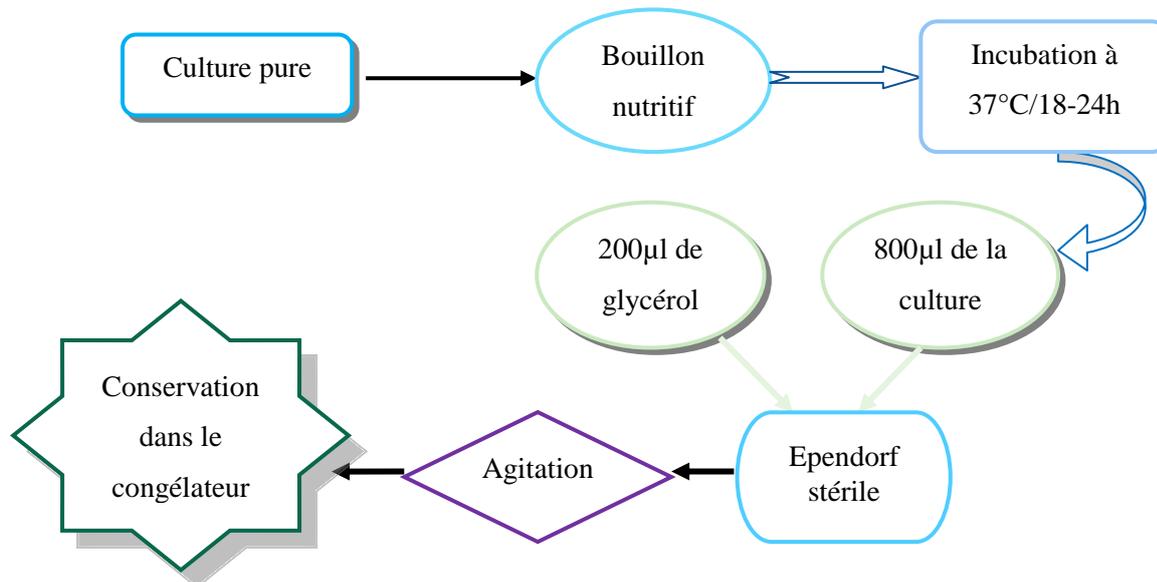
Après l'acquisition des souches soumises à l'étude, celles-ci ont fait l'objet d'une succession de culture en bouillon nutritif et sur boîtes de pétri pour s'assurer de leur pureté.

Les bactéries sont ensuite repiquées sur gélose inclinée et conservées à basse température pour leur utilisation dans nos tests (**Figure 9**).



**Figure 9 :** Repiquage et conservation des souches.

- Pour une conservation prolongée de ces souches, des suspensions bactériennes dans du glycérol ont été également préparées et congelées (**Figure 10**).



**Figure 10 :** Préparation des cultures bactériennes dans du glycérol pour congélation.

### II.2.2. Préparation des extraits racinaires

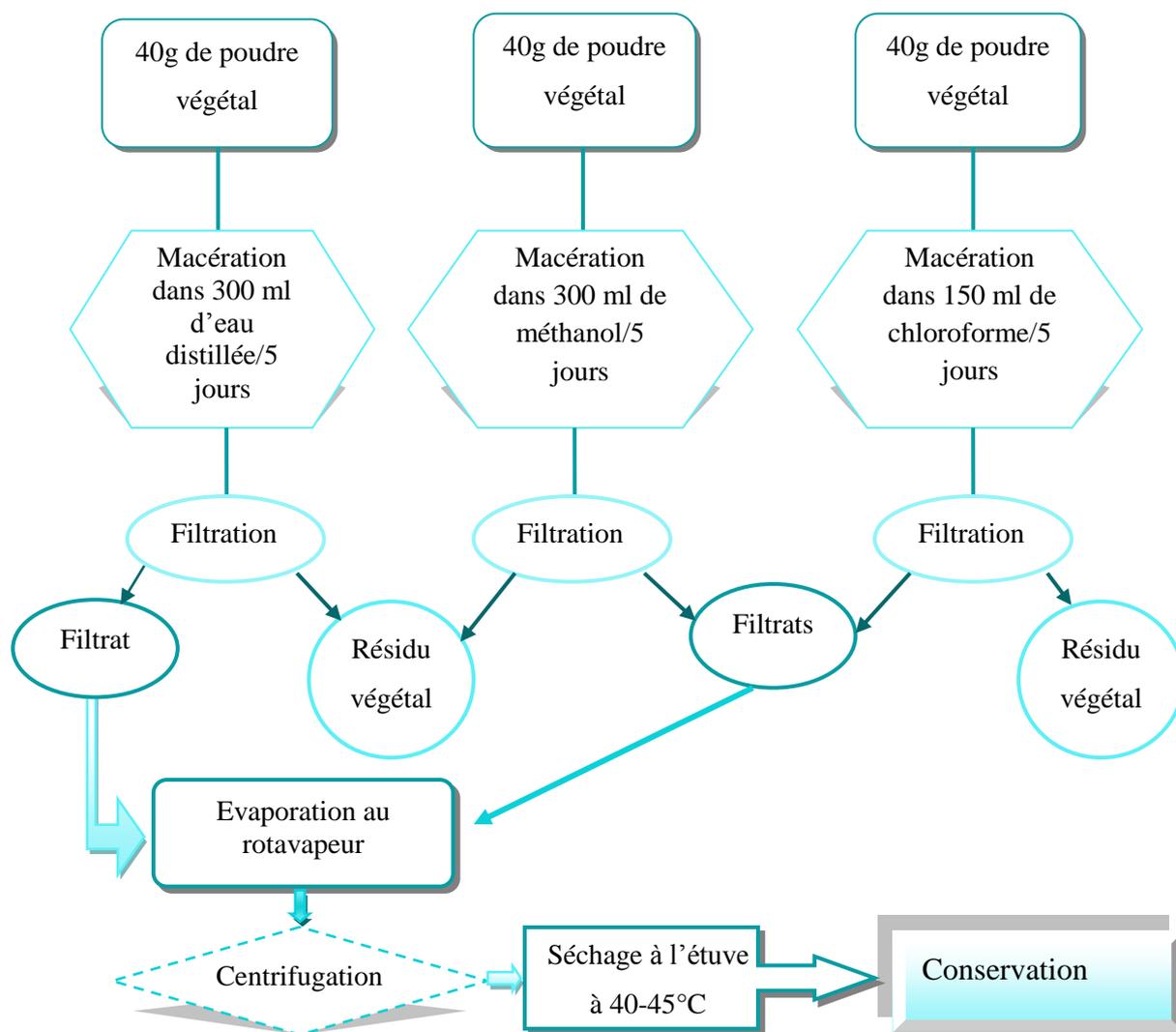
Les extraits utilisés dans notre étude sont de trois types : Extrait aqueux, extrait méthanolique et extrait chloroformique. Ils étaient obtenus comme suite :

Trois prises d'essai, de 40g chacune, de poudre fine de racines de *Carthamus caeruleus* ont été mises à macérer à température ambiante dans 300 ml respectivement d'eau distillée, de méthanol et de chloroforme. Après macération (durée de 5 jours), les

suspensions du matériel végétal sont soumises à une série de filtration (sur tissu et sur coton). Les filtrats obtenus sont alors centrifugés pendant 10 min à 5000 tours/min pour éliminer toutes traces de résidus solides.

Les extraits obtenus (aqueux, méthanolique et chloroformique) sont ensuite concentrés par passage dans un rotavapeur puis séchés dans une étuve entre 40 et 45°C.

Les résidus secs résultants, de couleur marron, sont mis dans des flacons teintés et conservés à basses températures jusqu'à leur utilisation (**Figure 11**).



**Figure 11** : Protocol d'extraction.

### II .2.3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits bruts est représenté par le rapport entre le poids de l'extrait sec et celui du plant en poudre. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{Rd (\%)} = 100 \text{Ps} / \text{Pp}$$

Rd : rendement de l'extrait sec en pourcentage (%).

Ps : poids de l'extrait sec en gramme (g).

Pp : poids de la poudre en gramme (g).

#### II.2.4. Tests phytochimiques

Ces tests ont pour but de rechercher et de connaître la nature des composés chimiques existant dans nos extraits bruts (aqueux et méthanolique). Ils sont basés sur des essais de solubilité, de réactions colorées et de précipitation. Des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

##### II.2.4.1. Détection des polyphénols

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) a été utilisée. Ainsi, à 2 ml de l'extrait est ajoutée une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée (Bidie et al., 2011) (figure 12).

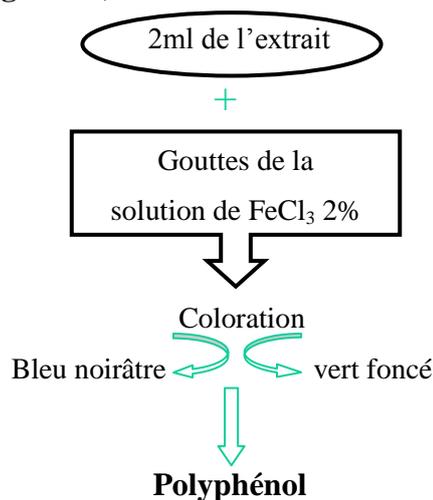


Figure 12 : Protocole de détection des polyphénols.

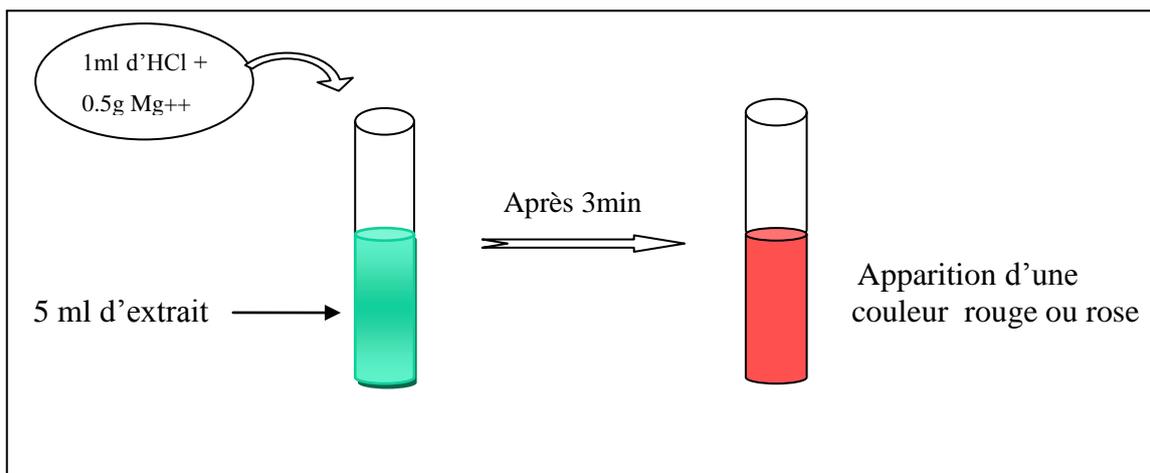
##### II.2.4.2. Détection des saponosides

Pour mettre en évidence les saponines, nous avons introduit 10 ml d'extrait dans un tube à essai. Le tube est agité pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min.

Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1cm indique la présence de saponosides (Bidie et al., 2011).

##### II.2.4.3. Détection des flavonoïdes

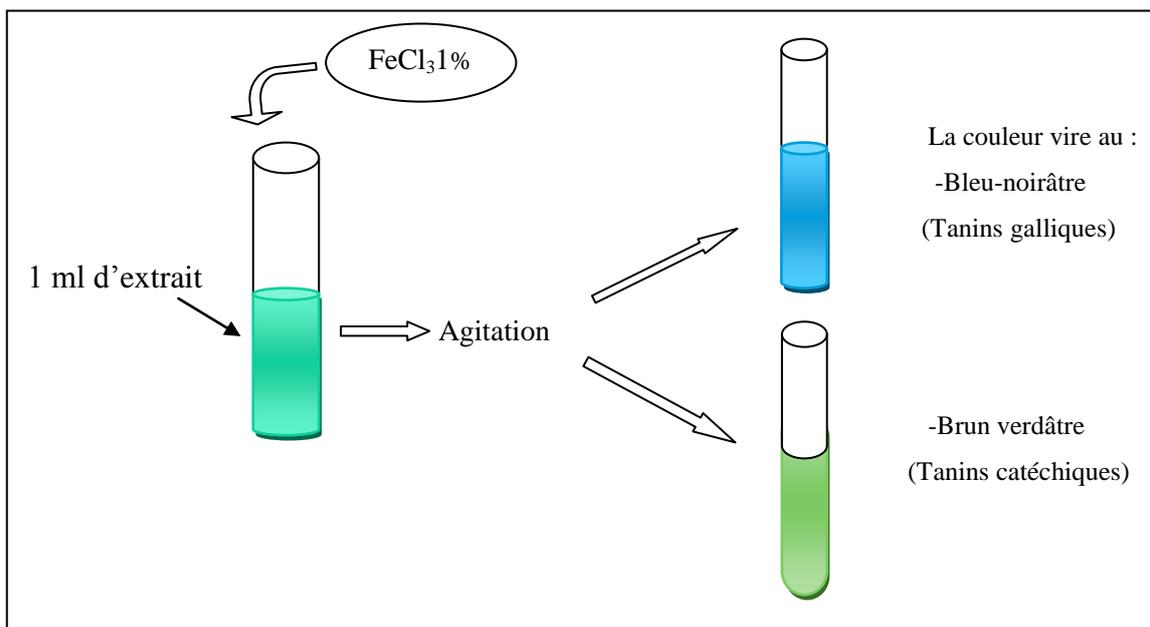
La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait avec 1ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournure de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (Bruneton, 1993) (figure 13).



**Figure 13** : Protocole de détection des flavonoïdes.

#### II.2.4.4. Détection des tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (1% préparé au méthanol). Après agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques ou au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Karumi *et al.*, 2004) (figure 14).



**Figure 14** : Protocole de détection des tanins.

#### II.2.4.5. Détection des coumarines

Les coumarines sont révélés à partir de 5 ml d'extrait placé dans un tube porté à ébullition jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 ml, ce volume est additionné de 1 ml d'eau chaude. Après agitation, le volume total est divisé en deux volumes, l'un sert de témoin et l'autre est mélangé à 0.5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) puis examiné sous lampe UV. L'émission de la fluorescence indique la présence des coumarines (Bruneton, 1999) (Figure 15).

#### II.2.4.6. Détection des composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, la solution est ensuite chauffée dans un bain marie.

L'observation d'une précipitation rouge brique indique la présence de composés réducteurs (Trease et Evans, 1987) (Figure 16).

#### II.2.4.7. Détection des anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (Oloyede, 2005) (Figure 17).

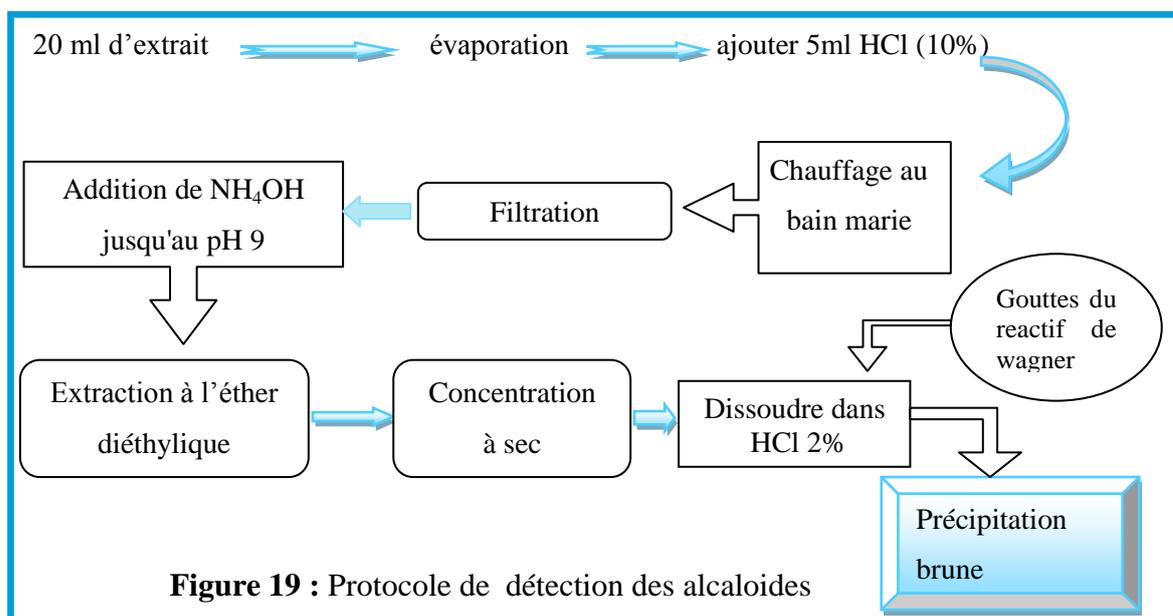
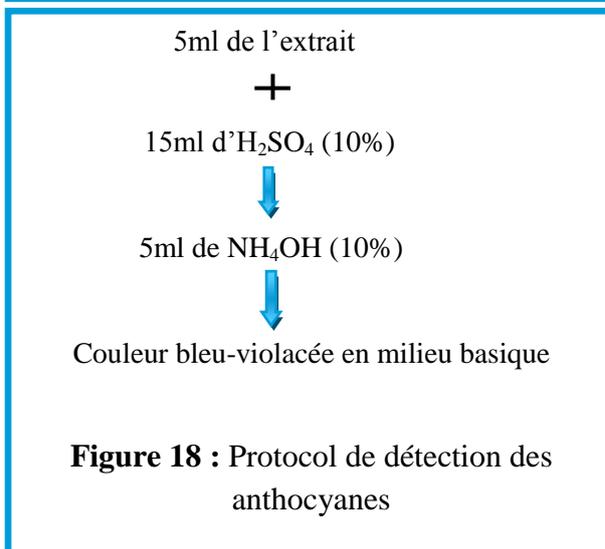
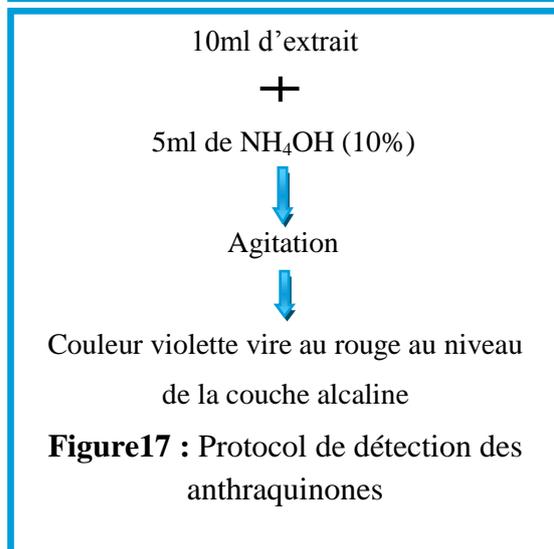
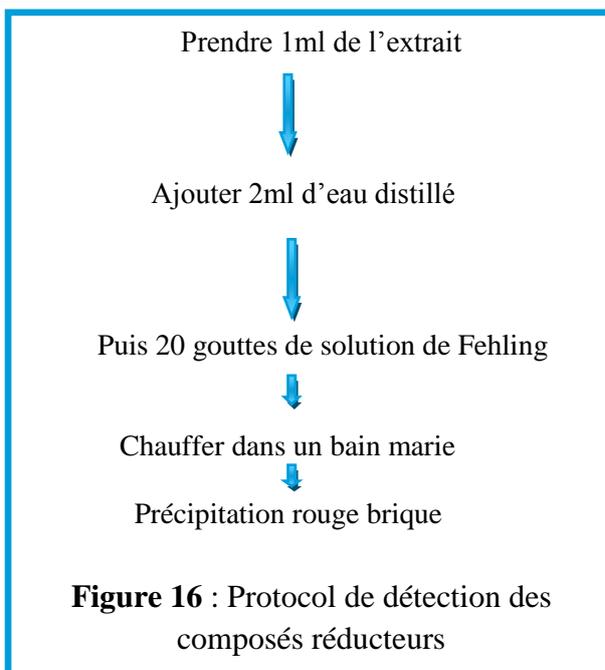
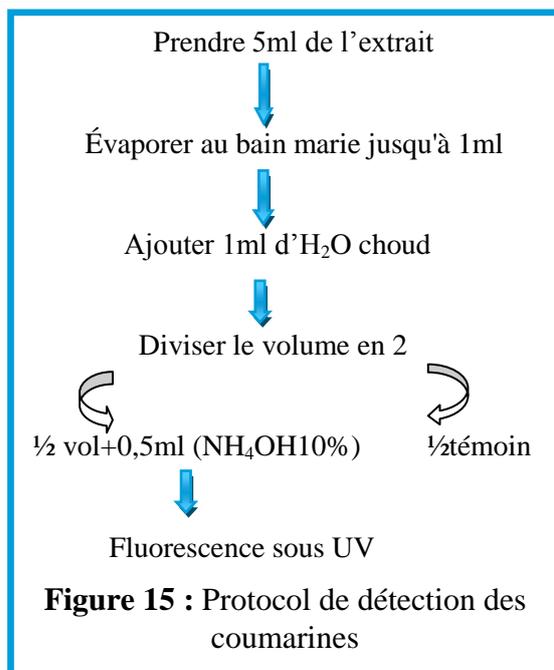
#### II.2.4.8. Détection des anthocyanes

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5 ml d'extrait dans un tube auxquels on ajoute 15 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  à (10%) (Milieu acide). Après agitation, le mélange est additionné de 5 ml  $\text{NH}_4\text{OH}$  à (10%) (Milieu basique). La présence d'anthocyanes est affirmée par une coloration bleu-violacée en milieu basique (Bruneton, 1999) (Figure 18).

#### II.2.4.9. Détection des alcaloïdes

Leur détection est réalisée selon le procédé suivant :

- Evaporer à sec 20 ml de l'extrait ;
- Ajouter 5 ml d' $\text{HCl}$  (10%) au résidu obtenu, puis chauffer dans un bain marie ;
- Filtrer le mélange et l'alcaliniser avec quelques gouttes d'une solution de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%) jusqu'au pH 9 ;
- Extraire la solution avec l'éther diéthylique, ensuite concentrer à sec ;
- Dissoudre le résidu dans du  $\text{HCl}$  (2%) ;
- Tester la présence des alcaloïdes par quelques gouttes de réactif de Wagner afin d'obtenir un précipité brun indiquant leur présence (Memelink et al., 2001) (Figure 19).



## II.2.5. Chromatographie sur couche mince (CCM)

### II.2.5.1. Principe

La CCM est une méthode d'analyse physico-chimique permettant la séparation et l'identification des constituants dans un mélange donnée. Les molécules à séparer sont soumises, au cours de leur déplacement, à deux forces opposées :

- une force d'entraînement exercée par la phase mobile, constituée généralement d'un mélange de plusieurs solvants.
- une force de rétention exercée par la phase stationnaire (gel de silice par exemple).

La résultante des deux forces permet un déplacement des substances du mélange à des vitesses variables. Les distances de migration seront donc différentes ce qui permet de calculer le  $R_f$  (rapport frontal) caractéristique de chaque composé.

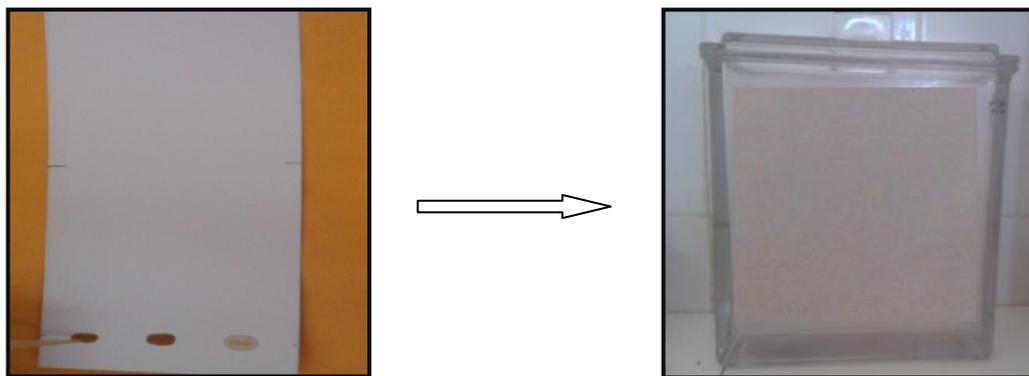
$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$$

### II.2.5.2. Mode opératoire

L'analyse a été effectuée sur des plaques de gel de silice de type 60 F<sub>254</sub> (Support en aluminium). Le système de migration utilisé est composé des solvants suivants : chloroforme/méthanol/acide acétique/eau, aux proportions respectives (200 : 30 : 0.6 : 1) (v/v/v/v) (Males et Medić-Šarić, 2001).

Les étapes de réalisation de la CCM sont les suivantes :

- Préparation de la plaque (désignation de la ligne de dépôt) et activation à température de 100°C pendant 10 min dans une étuve.
- Dépôt des échantillons (forme de bande) à une distance de 1.5 cm du bord inférieur de la plaque. L'intervalle entre les dépôts ne doit pas être moins de 1cm.
- Introduction de la plaque de CCM dans la cuve de migration préalablement préparée et saturée par les vapeurs de la phase mobile.
- Après développement, la plaque est retirée, séchée puis observée à l'œil nu et sous UV aux longueurs d'ondes 254 nm et 365 nm.
- Mesure des distances de migration des différents constituants présents pour le calcul de leur  $R_f$ .



**Figure 20 :** Dépôts des échantillons et développement chromatographique.

## **II.2.6. Activité antibactérienne**

### **II.2.6.1. Principe**

Les tests antibactériens ont pour but de rechercher et d'apprécier l'effet des extraits, obtenus de différents organes de plantes, sur des souches de bactéries connues pour leur pathogénicité et leur responsabilité d'infections graves.

Ces tests peuvent être réalisés soit par la méthode des disques, soit par celle de diffusion en puits. Pour ce qui nous concerne, c'est cette dernière qui a été appliquée. Elle repose sur la diffusion des extraits à travers un milieu solide.

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition. En fonction du diamètre de cette zone, la souche bactérienne sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante.

### **II.2.6.2. Technique**

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne doivent être réalisés dans des conditions d'asepsie rigoureuses. En effet, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.

#### **➤ Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture approprié pour une telle étude est celui de Muller-Hinton préparé comme suite :

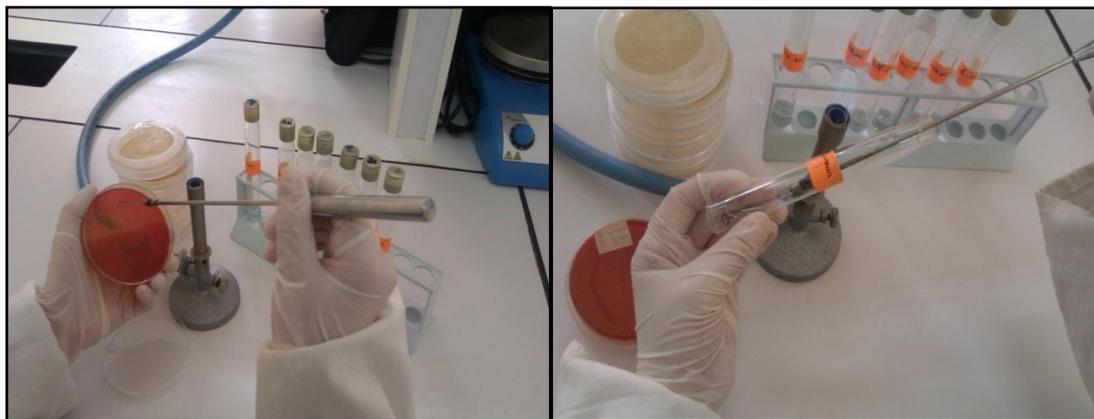
Mettre 38 g de poudre de gélose Muller Hinton dans un litre d'eau distillée et faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète. Ajuster le pH à 7,3 puis autoclaver pendant 15min à la température de 121°C. Finalement couler aseptiquement le milieu dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4 mm. Après séchage, conserver les à basse température jusqu'à leur emploi.

➤ **Préparation des dilutions des extraits (aqueux, méthanolique et chloroformique)**

Les extraits ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi, sachant que la concentration mère des extraits aqueux et méthanolique est de 300 mg/ml, celle de l'extrait chloroformique est de 100 mg/ml.

➤ **Préparation des inocula**

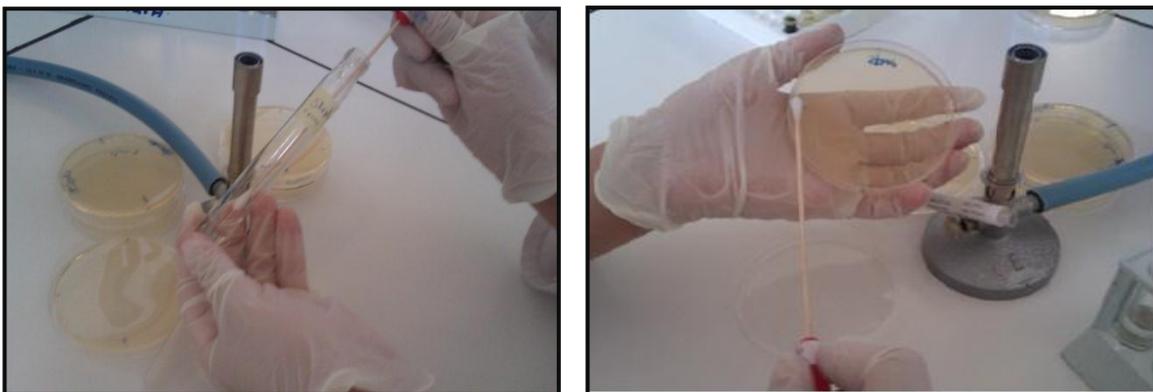
Les souches bactériennes conservées sur gélose inclinée ont été repiquées sur gélose nutritive en boîte et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. A l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant de l'eau physiologique puis homogénéisées. La suspension obtenue doit avoir une opacité de 0,5 Mc Farland, correspondant à une densité optique, lue à la longueur d'onde 625 nm, de 0.08 à 0.10. Pour l'inoculum de *Staphylococcus aureus*, un ajustement a été effectué (DO de 0,15 à 0,25) afin d'obtenir des colonies confluentes suffisamment denses (**Figure 21**).



**Figure 21** : Préparation des inocula.

➤ **Ensemencement, découpage des puits et remplissage**

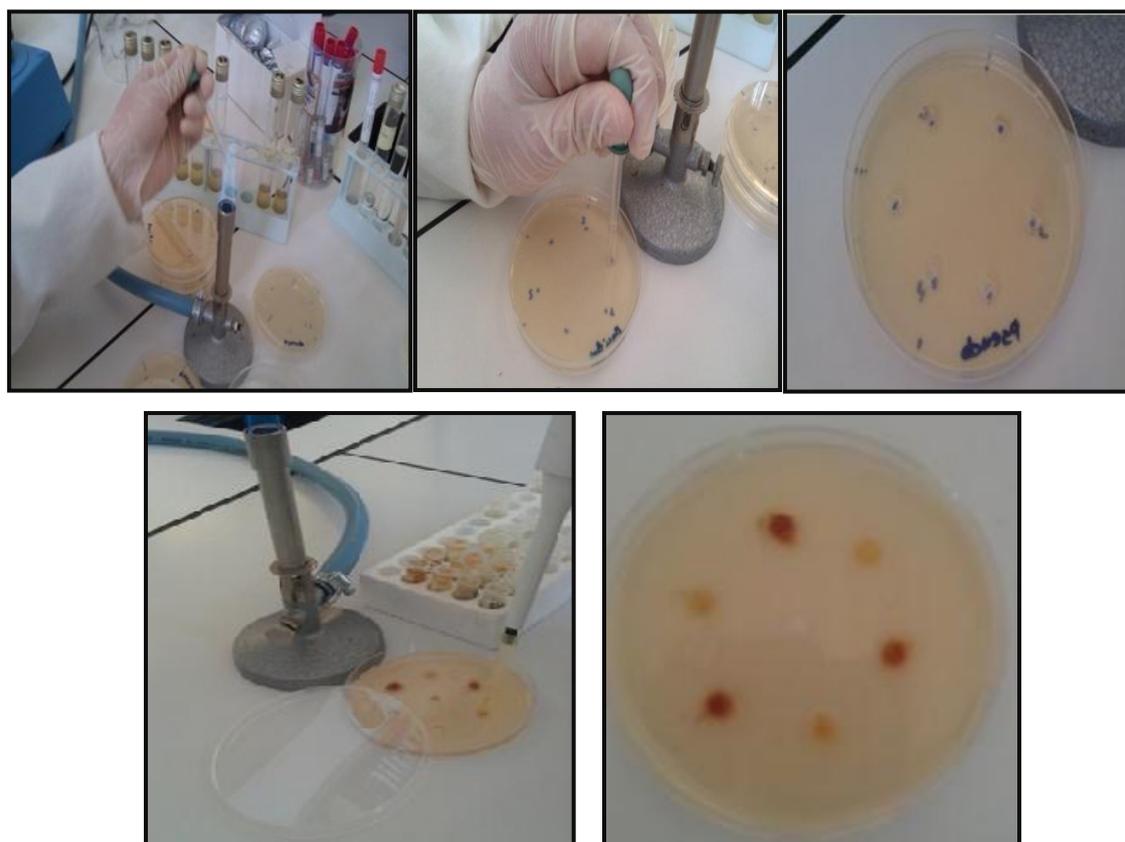
L'ensemencement des suspensions bactériennes dans les boîtes de pétri est réalisé par écouvillonnage. L'écouvillon, trempé dans la suspension bactérienne et essoré, est frotté sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées. L'opération est répétée en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est terminé en passant pour la dernière fois l'écouvillon sur la zone périphérique du milieu de culture (**Figure 22**).



**Figure 22** : Etape d'ensemencement (écouvillonnage).

Une fois l'ensemencement terminé, des puits de 6 mm de diamètres sont alors découpés dans le milieu de culture, en se servant de pipettes pasteur stériles, puis soudés à leur base avec de la gélose afin de limiter la diffusion des extraits sous le milieu de culture.

Les puits recevront ensuite chacun 20  $\mu$ l d'extraits méthanolique ou aqueux de concentrations différentes (300 mg/ml, 150 mg/ml, 75 mg/ml, 16 mg/ml, 8 mg/ml, 4 mg/ml, et 2 mg/ml) ou encore 30  $\mu$ l d'extrait chloroformique utilisé aux concentrations de 100 mg/ml, 50 mg/ml, 16 mg/ml, 8 mg/ml, 4 mg/ml et 2 mg/ml. Le DMSO a été employé comme contrôle négatif (**Figure 23**).



**Figure 23** : Découpage et remplissage des puits.

### ➤ Incubation et lecture

Après remplissage des puits, les boîtes de pétri sont fermées et mises au réfrigérateur pendant 3 heures puis transférées à l'étuve pour incubation à 37°C pendant 24 heures.

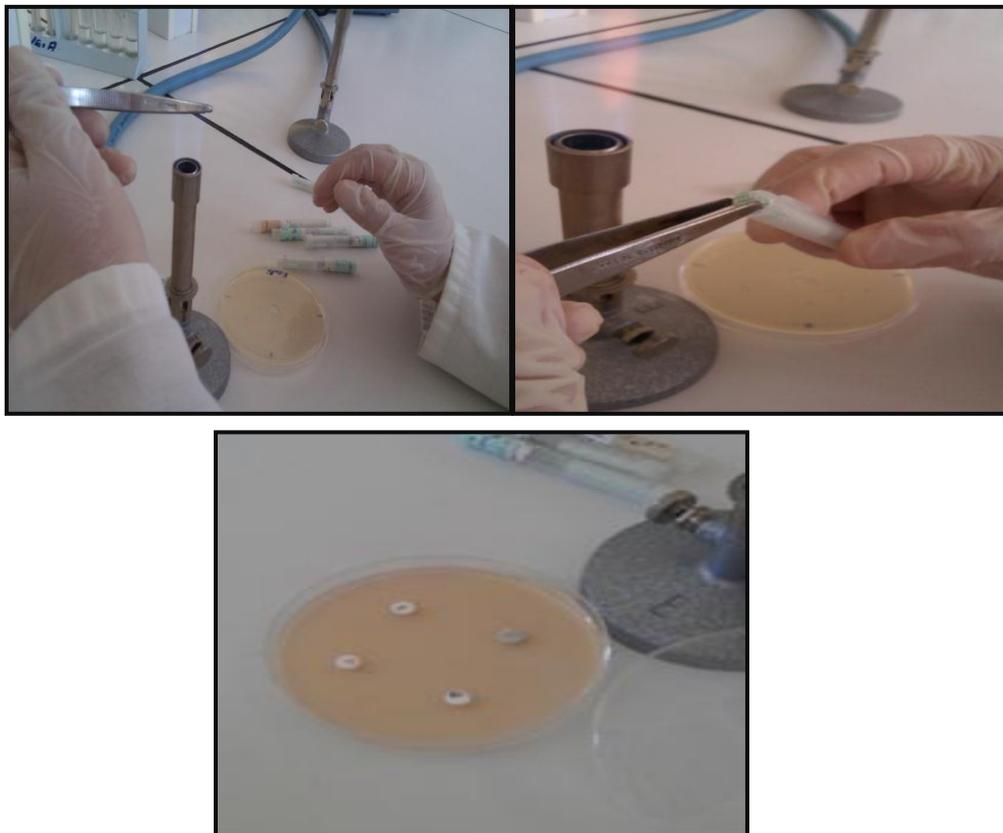
La lecture s'est effectuée en mesurant, à l'aide d'une règle, le diamètre (en mm) de la zone d'inhibition formée autour de chaque puits.

### ➤ L'antibiogramme

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

Le choix des antibiotiques dans notre étude a été faite en fonction de la disponibilité des disques, ils ont été procurés auprès du laboratoire de microbiologie de l'hôpital « Maghlawa » de Mila. Ces antibiotiques sont : Imipénène (IMP), Acide nalidixique (NA), Ciprofloxacine (CIP) et Céfoxitine (FOX).

Dans les boîtes de pétri préalablement ensemencées par les souches à tester, les disques d'antibiotiques sont déposés sur la surface de la gélose Muller Hinton à l'aide d'une paire de pinces stérile (**Figure 24**). Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. La lecture s'est faite par la mesure des zones d'inhibition. Les valeurs obtenues sont comparées avec les valeurs de référence.



**Figure 24** : Dépôt des disques d'antibiotiques sur Muller-Hinton.

# *Chapitre III*

## *Résultats et discussion*

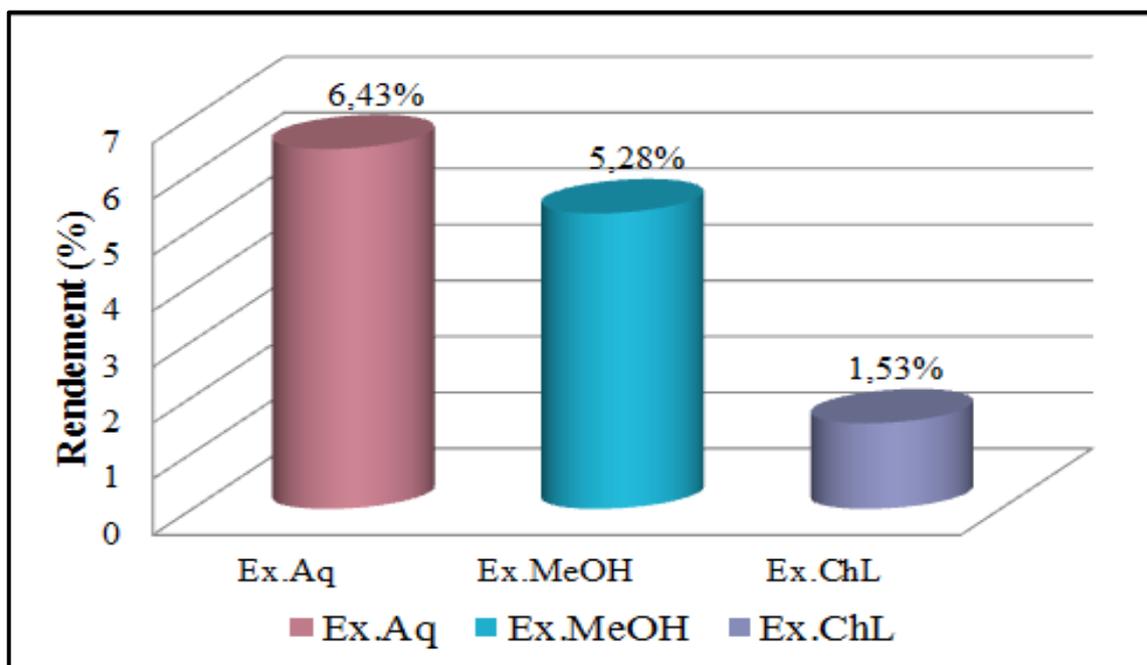
### III.1. Résultats

#### III.1.1. Rendement des extractions

La préparation de nos extraits bruts a été effectuée par macération prolongée (5 jours) du broyat des racines de *Carthamus caeruleus* dans différents solvants de polarités distinctes ; il s'agit de l'eau distillée, du méthanol et du chloroforme. Les extraits obtenus sont donc l'extrait aqueux (Ex.Aq), l'extrait méthanolique (Ex.MeOH) et enfin l'extrait chloroformique (Ex.Chl).

Le rendement de chacune des extractions est présenté dans la figure 25. Le plus élevé est obtenu par macération du matériel végétal dans de l'eau distillée (Ex.Aq) avec un pourcentage de 6,43% suivis de l'Ex.MeOH qui présente un rendement de 5,28%.

L'extraction chloroformique n'a fourni qu'un résidu faible de l'ordre de 1,53%.



**Figure 25 :** Rendement des extraits bruts de *Carthamus caeruleus*.

#### III.1.2. Tests phytochimiques

La réalisation de ces tests a pour but de révéler les différentes familles de substances existantes dans les racines de la plante étudiée en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les racines de *C.caeruleus* épuisées par l'eau et le méthanol sont regroupés dans le tableau 04.

Dans les racines de cette plante, la recherche des alcaloïdes, des saponosides, des polyphénols, des tanins, des composés réducteurs, des coumarines et des flavonoïdes, s'est montrée positive mais celle des anthocyanes, des anthraquinones a été négative.

**Tableau 04** : Résultats des tests phytochimiques sur les extraits bruts des racines de *C. caeruleus*.

Tests phytochimiques	Extrait aqueux	Extrait méthanolique
<b>Alcaloïdes</b>	+	+
<b>Saponosides</b>	+	+
<b>Composés réducteurs</b>	+	+
<b>Polyphénols</b>	+	+
<b>Coumarines</b>	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+	+
<b>Anthocyanes</b>	-	-
<b>Anthraquinones</b>	-	-
<b>Tannins</b>	+	+

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif

### III.1.3. Analyse chromatographique sur couche mince (CCM) des extraits de *C. caeruleus*

Une analyse chromatographique sur couche mince (CCM) a été réalisée sur les trois extraits obtenus précédemment en utilisant le système de solvant (chloroforme/méthanol/acide acétique/eau). Ce dernier a été choisi parmi plusieurs systèmes testés pour leur efficacité quant à la séparation des constituants de nos extraits.

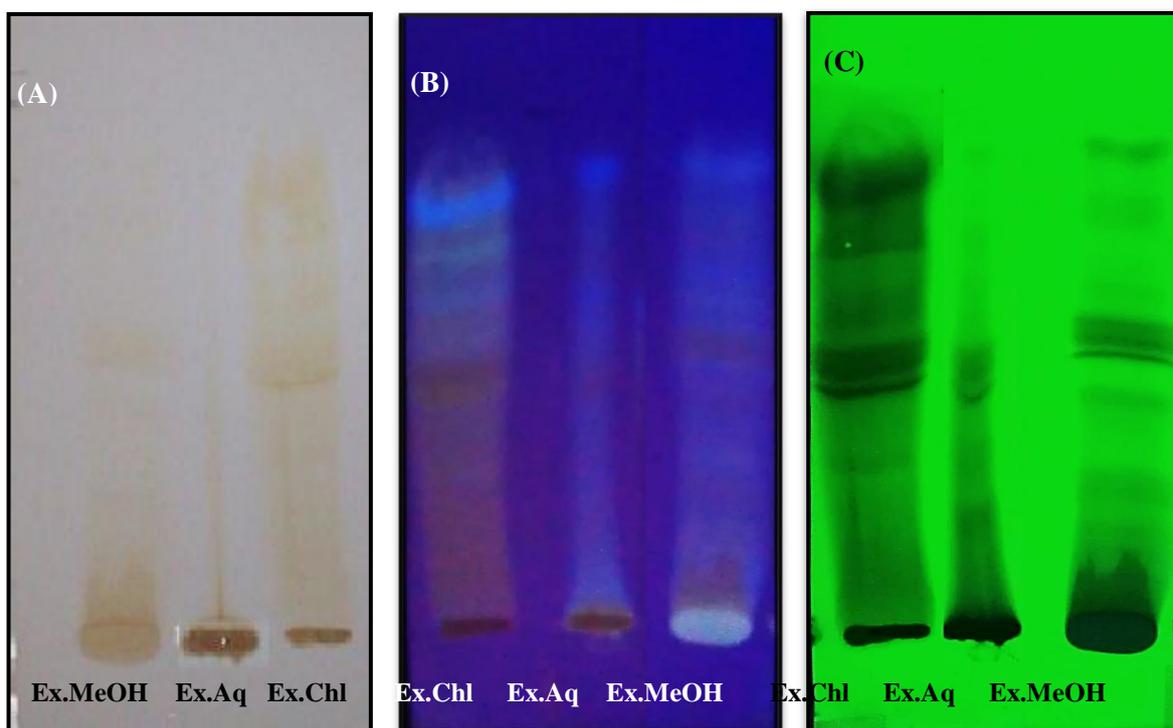
Après le développement du chromatogramme la plaque a été retirée de la cuve de chromatographie, séchée et examinée à l'œil nu et sous lampes UV (254 et 365 nm). Les résultats obtenus révèlent l'existence de nombreux composés dans les extraits soumis à l'étude (**Figure 26**).

L'observation de la plaque à l'œil nu a permis de constater la présence de 8 bandes de couleur marron claire dans la zone de migration de l'extrait chloroformique, 5 bandes de même couleur pour l'extrait méthanolique, par contre une seule bande de couleur marron claire est observée dans le trajet de déplacement de l'extrait aqueux (**Figure 26.A**).

Certaines bandes révélées dans l'Ex.MeOH se trouvent au même niveau que celles détectées dans l'Ex.Chl. La remarque elle-même est constatée lorsque la plaque de CCM est observée sous les radiations ultraviolettes.

La révélation sous UV à la longueur d'onde de 365 nm (**Figure 26.B**), nous a permis de compatibiliser 8 et 9 bandes de différentes couleurs (jaune, marron, bleu, vert) respectivement pour l'Ex.Chl et les extraits aqueux et méthanolique (Ex.Aq ; Ex.MeOH).

La même constatation est enregistrée lorsque la plaque de CCM est observée sous la lampe UV à 254 nm, seulement les bandes apparaissent de couleur noire (**Figure 26.C**).



**Figure 26 :** Chromatogramme des extraits chloroformique (Ex.Chl), aqueux(Ex.Aq) et méthanolique (Ex.MeOH). (A) : vu à l'œil nu ; (B) : Révélation à l'UV ( $\lambda= 365\text{nm}$ ) ; (C) : Révélation à l'UV ( $\lambda= 254\text{nm}$ ).

Les rapports frontaux (Rf) et les couleurs caractérisant les différentes bandes correspondantes aux substances présentes dans les extraits sont présentés dans les tableaux qui suivent :

**Tableau 05** : Rf et couleur des bandes des différents extraits observées à l'œil nu.

Ex.MeOH		Ex.Chl		Ex.Aq	
Rf	Couleur	Rf	Couleur	Rf	Couleur
0,25	Marron claire	0,32	Marron claire	0,42	Marron claire
0,40	Marron claire	0,45	Marron claire		
0,47	Marron claire	0,48	Marron claire		
0,50	Marron claire	0,50	Marron claire		
0,52	Marron claire	0,60	Marron claire		
		0,69	Marron claire		
		0,84	Marron claire		
		0,86	Marron claire		

**Tableau 06** : Rf et couleur des bandes séparées de l'Ex.MeOH révélées sous lampes UV.

Extrait méthanolique	Observation UV ( $\lambda= 365\text{nm}$ )		Observation UV ( $\lambda= 254\text{nm}$ )	
	Rf	Couleur	Rf	Couleur
	0,15	Marron claire	0,16	Noir
0,31	Marron claire	0,25	Noir	
0,42	Marron	0,38	Noir	
0,46	Jaune	0,45	Noir	
0,50	Marron	0,47	Noir	
0,55	Bleu	0,51	Noir	
0,56	Jaune vert	0,56	Noir	
0,72	Marron	0,72	Noir	
0,83	Bleu	0,83	Noir	

**Tableau 07** : Rf et couleur des bandes séparées de l'Ex.Aq révélées sous lampes UV.

Extrait aqueux	Observation UV ( $\lambda= 365 \text{ nm}$ )		Observation UV ( $\lambda= 245 \text{ nm}$ )	
	Rf	Couleur	Rf	Couleur
	0,07	Marron foncé	0,16	Noir
0,15	Marron claire	0,25	Noir	
0,22	Marron clair	0,37	Noir	
0,38	Jaune	0,40	Noir	
0,42	Marron	0,42	Noir	
0,48	Jaune vert	0,46	Noir	
0,55	Bleu	0,53	Noir	
0,61	Marron	0,60	Noir	
0,72	Bleu	0,72	Noir	

**Tableau 08** : Rf et couleur des bandes séparées de l'Ex.Chl révélées sous lampes UV.

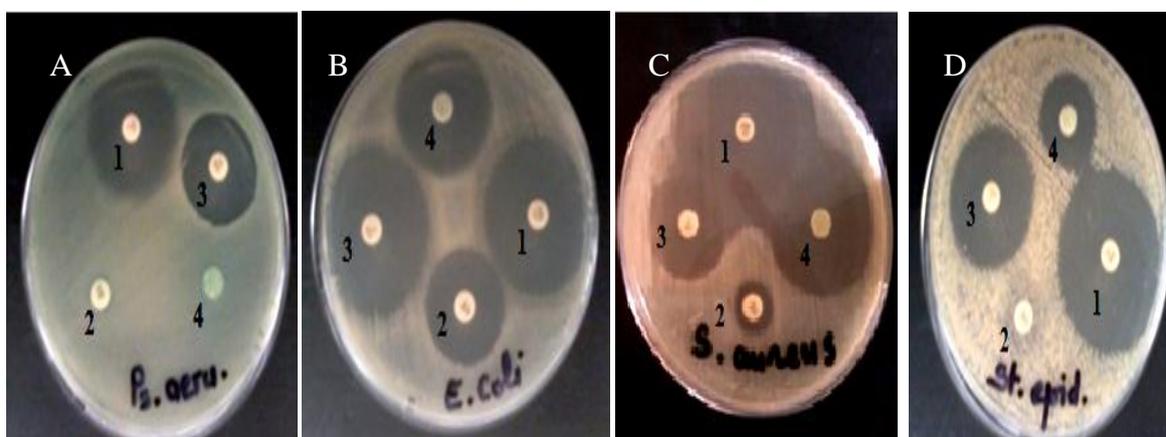
Extrait chloroformique	Observation sous UV ( $\lambda= 365$ nm)		Observation sous UV ( $\lambda= 245$ nm)	
	Rf	Couleur	Rf	Couleur
	0,30	Marron claire	0,29	Noir
0,46	Marron foncé	0,30	Noir	
0,52	Marron très foncé	0,46	Noir	
0,6	Marron très claire	0,52	Noir	
0,61	Marron claire	0,61	Noir	
0,74	Jaune	0,73	Noir	
0,80	Marron	0,8	Noir	
0,86	Bleu	0,86	Noir	

### III.1.4. Etude de l'activité antibactérienne

#### III.1.4.1. Détermination des antibiogrammes des souches testées

Ce test a pour but d'évaluer la sensibilité ou la résistance de nos souches vis-à-vis des antibiotiques employés à savoir l'imipénème (IMP), l'acide nalidixique (NA), la ciprofloxacine (CIP) et la cifoxcitine (FOX).

D'après les résultats obtenus, les souches bactériennes montrent des sensibilités différentes aux quatre antibiotiques utilisés (**Figure 27**; **Tableau 09**).



**Figure 27** : Effets des antibiotiques sur quelques souches testées.

A : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, B : *Escherichia coli* ATCC 25922, C : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, D : *Streptococcus epidermidis*.

1 : (IMP) Imipénème, 2 : (NA) Acide Nalidixique, 3 : (CIP) Ciprofloxacine, 4 : (FOX) Cifoxcitine.

**Tableau 09 :** Sensibilité des souches étudiées aux antibiotiques utilisés. ( $\phi$  : Diamètre d'inhibition en mm).

Bactéries	IMP		NA		CIP		FOX	
	$\phi$	S/R	$\phi$	S/R	$\phi$	S/R	$\phi$	S/R
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	$\phi$ : 40	S	6	R	20	IN	30	S
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$\phi$ : 30	S	18	S	30	S	22	S
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	$\phi$ : 30	S	16	R	24	S	10	R
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	$\phi$ : 30	S	-	R	28	S	-	R
<i>Bacillus sp.</i>	$\phi$ : 24	S	-	R	-	R	20	S
<i>Proteus sp.</i>	$\phi$ : 20	S	20	S	30	S	18	S
<i>S. epidermis</i>	$\phi$ : 34	S	-	R	28	S	6	S

IMP : Imipenème, NA : Acide nalidixique, CIP : Ciprofloxacine, FOX : Cifoxcitine  
S : Sensible, R : Résistance, IN : Intermédiaire (MSPRH, 2008).

La majorité des souches, principalement *S. epidermis*, *Bacillus sp.* et *P. aeruginosa* ATCC 27853, ont manifesté une grande résistance à l'acide nalidixique. L'imipenème, par contre, est l'antibiotique possédant le pouvoir inhibiteur le plus élevé, avec 40 mm de zone éclairée contre *S. aureus* ATCC 25923, 34 mm contre *S. epidermis* et 30 mm vis-à-vis de *K. pneumoniae* ATCC 700603 et *E. coli* ATCC 25922.

#### III.1.4.2. Sensibilité des souches bactériennes aux extraits bruts

La méthode des puits de diffusion a permis d'apprécier l'effet inhibiteur des différents extraits racinaires de *C. caeruleus* sur les souches bactériennes soumises à l'étude.

Les diamètres des zones d'inhibition mesurés en millimètre indiquent que les extraits aqueux, méthanolique et chlorormique des racines de notre plante manifestent des activités antibactériennes très faibles voir nulles sur l'ensemble des bactéries testées (**Figure 28; Tableau 10**).

En effet, *Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *E. coli* ATCC 25922 sont totalement insensibles aux extraits quel que soit la concentration appliquée. La plus grande zone d'inhibition (8mm de diamètre) est enregistrée sur *K. pneumoniae* ATCC 700603 avec les extraits méthanolique et chlorormique aux concentrations respectives de 16 et 4 mg/ml.



**Figure 28 :** Action inhibitrice des extraits sur quelques bactéries testées. C : Action d'Ex.Chl, A : Action d'Ex.Aq, M : Action d'Ex.MeOH et T : Action du DMSO

**Tableau 10 :** Diamètres des zones d'inhibition en millimètre des souches bactériennes provoqués par les extraits, le control négatif, le control positif.

Les souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)																								
	L'extrait méthanolique							L'extrait aqueux							L'extrait chloroformique					Control positif				Control négatif	
	300 mg/ml	150 mg/ml	75 mg/ml	16 mg/ml	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	300 mg/ml	150 mg/ml	75 mg/ml	16 mg/ml	8 mg/ml	4 mg/ml	2 mg/ml	100 mg/ml	50 mg/ml	16 mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	FOX	NA	CIP	IMP	DMSO
<i>Bacillus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	24	-
<i>Proteus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	20	30	20	-
<i>Streptococcus epidermis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	4	4	-	6	6	6	6	6	-	28	34	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25922	2	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	6	20	40	-
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	4	2	-	8	6	4	4	-	-	-	6	6	4	4	8	2	4	4	8	2	10	16	24	30	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	20	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	18	30	30	-

(-)Aucun effet, La sensibilité est désignée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suite : non sensible pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible pour un diamètre supérieur à 20 mm (Moreira *et al.*, 2005).

## III.2. Discussion

### III.2.1. Préparation des extraits de *Carthamus caeruleus*

Les extractions aqueuse, méthanolique et chloroformique ont été faites sur un broyat fin obtenu par mouture des racines sèches de la plante sélectionnée. En fait, l'utilisation d'un matériel végétal sec est recommandée du moment que les substances qui s'y trouvent, entre autres les flavonoïdes particulièrement les glycosides, peuvent être soumises à une dégradation enzymatique quand ce matériel est frais ou non séché (**Marston et Hostettmann, 2006 in Benbrinis, 2012**). De plus, les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent être la cause de cette dégradation (**Seidel, 2005**). Le séchage de la plante ou de ses parties à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire (**Jones et Kinghorn, 2005**). L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction en rendant l'échantillon plus homogène, en augmentant la surface de contact avec le solvant et en facilitant sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.

En outre, le déroulement de la macération sous agitation pendant un temps étalé (5jours) et à température ambiante permet d'extraire le maximum de composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable due aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

Le calcul du rendement d'extraction, exprimé en pourcentage par rapport au poids total de la poudre de racines de *C. caeruleus*, montre que les solvants polaires à savoir l'eau distillée et le méthanol ont donné les proportions les plus élevées en résidus secs avec des valeurs de 6,43% et 5,28% respectivement. Le chloroforme, par contre, n'a permis d'obtenir qu'un résidu faible avec un taux de 1,53 %. Cela pourrait s'expliquer par la nature des solutés présents dans les racines et leur comportement vis-à-vis des solvants d'épuisement.

Des résultats obtenus, il ressort que les racines de *C. caeruleus* contiennent probablement des substances beaucoup plus solubles dans les solvants polaires que dans ceux apolaires. Les travaux de recherche antérieurs ont signalé que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une meilleure extraction de composés phénoliques (**Bouزيد et al., 2011**).

Toutefois, la comparaison des rendements enregistrés avec ceux de la bibliographique semble inutile, car ce sont des valeurs relatives dépendantes de plusieurs facteurs tels que la méthode choisie, les conditions dans lesquelles l'extraction a été

effectuée, ainsi qu'à l'origine géographique de la plante. Ces facteurs affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes, et par conséquent les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee *et al.*, 2003).

### III.2.2. Screening phytochimique et analyse chromatographique par CCM des extraits

L'analyse phytochimique des extraits de racines de *C. caeruleus* vise à caractériser les différents groupes de composés renfermés dans la partie souterraine de la plante. Les résultats obtenus montrent la présence de plusieurs familles phytochimiques importantes comme les flavonoïdes, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides et les composés réducteurs. Selon **Djeridane et ses collaborateurs (2006)**, la famille des astéracées, à laquelle appartient cette plante, se caractérise par l'abondance des composés polyphénoliques comme les coumarines, les flavonoïdes mais aussi par des terpènes (**Silván et al., 1996). Cette richesse est confirmée par l'analyse chromatographique sur couche mince des différents extraits. En effet les chromatogrammes correspondants, visualisés sous UV à 365nm, font apparaître de nombreuses bandes de couleur marron claire, jaune, jaune verte, bleu qui peuvent correspondre à plusieurs classes de métabolites secondaires : jaune, vert (coumarines) (**Georgievskii**, 1990) ; orange (xanthonés) (**Ladiguina et al., 1983 in **N'gaman et al., 2009); jaune quelconque (flavonols et/ou auronés); bleu, pourpre (coumarines, flavones méthylées) (**Dawson et al., 1991 in **N'gaman et al., 2009). Selon **Wagner et Sabine (1996)**, les fluorescences jaunes et jaune vertes correspondent à des flavanols et flavanones.**********

Il est maintenant bien établi que les composés auto fluorescents observés chez les plantes supérieures, après excitation dans l'UV, correspondent à des composés phénoliques (**Bennet et al., 1996). Mais en l'absence de témoins authentiques, il ne nous est pas possible à ce stade, de confirmer l'identité des molécules présentes dans nos extraits. Néanmoins, et en application des données bibliographiques précédentes à l'ensemble des résultats que nous avons obtenus, nous pouvons dire que certaines de ces molécules pourraient s'agir des coumarines (couleur bleu), des flavanols et flavanones (couleur jaune et jaune verte).**

### III.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'action antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits rempli d'extrait étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon la nature de l'extrait, la concentration appliquée mais aussi le type de bactérie testée. D'après la

littérature, un extrait est considéré comme ayant une action bactériostatique ou inhibitrice lorsqu'il provoque une zone d'inhibition de diamètre supérieur à 12 mm (**Sağdıç, 2003**).

Les résultats de l'activité antibactérienne des trois extraits de racines de *Carthamus caeruleus* (aqueux, méthanolique et chloroformique) montrent des zones d'inhibition ne dépassant pas les 8 mm (0 à 8 mm) quel que soit la concentration utilisée. Les souches montrant une grande résistance aux différents extraits sont les souches de référence *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *E.coli* ATCC 25922 d'une part et les souches cliniques *Bacillus sp.* et *Proteus sp.* isolées à partir de prélèvement faits sur des malades d'autre part.

L'obtention de telle activité pourrait être expliquée par les points suivants :

- Au cours du broyage des racines, la génération de chaleur pourrait entraîner une perte de molécules volatiles ainsi que la décomposition et l'oxydation de molécules thermolabiles (**Jones et Kinghorn, 2005**).
- Le stockage prolongé du matériel végétal à l'état de poudre pourrait affecter son activité biologique. Les racines de *C. caeruleus* ont été récoltées et broyées en juin 2011 puis conservées à température ambiante dans des sacs en plastique.
- La résistance des souches peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar (**Hayouni et al, 2007**). La quantité et la concentration d'extrait mises dans les puits sont aussi des facteurs importants.
- Il y aurait dans les extraits bruts (non fractionnés) des composés inhibiteurs masquant les composés actifs (**Cavin, 2007**).
- Il est toujours possible que l'ajout de DMSO à un extrait végétal diminue son activité intrinsèque de telle manière que dans ce cas le résultat n'a qu'une valeur relative (**Balansard, 2007**).

Dans une étude antérieure réalisée sur des extraits de racines de *C. caeruleus*, les résultats ont montré un pouvoir antibactérien appréciable (9 à 18 mm) contre *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus sp* et *K. pneumoniae*. Ce pouvoir revient en fait à l'extrait chloroformique, seulement les concentrations utilisées étaient plus élevées (**Belkhiri, 2009**).

Des extractions faites sur une plante de la même famille que *C. caeruleus* (Asteracées) à l'aide de solvants polaires (eau et méthanol) ont permis d'enregistrer des appréciations différentes quant à l'activités antibactérienne de chaque extrait (**Benbrinis, 2012**). En effet, le résidu méthanololique a montré un effet bactéricide considérable vis-à-vis de *P. aeruginosa* contrairement au notre. L'extrait aqueux, par contre, n'a pas d'effet significatif, ce qui est le cas pour notre extrait.

L'investigation sur les activités antibactériennes des extraits végétaux doit être poussée plus loin, d'une part en testant les extraits sur d'autres souches et d'autre part en fractionnant les extraits dans le but de se débarrasser des substances pouvant inhiber et masquer les molécules biologiquement actives.

En outre, il est important de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'un extrait brut ou d'une fraction enrichie est la composante de deux paramètres : l'activité intrinsèque des produits actifs et leur quantité relative dans l'extrait. Par exemple, une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs (**Ferrari, 2002**), ou à certains constituants tels que les hydrocarbures et les alcools qui démontrent un synergisme (**Chaibi et al., 1997**). Il ne faut pas oublier que le produit actif qui se présente dans la plante peut être : soit actif sans être métabolisé et aura ainsi une activité *in vitro* et *in vivo* ; soit actif après métabolisation et dans ce cas il sera inactif *in vitro* et actif *in vivo*.

# *Conclusion*

## *Conclusion*

Ces dernières années, les plantes médicinales sont devenues un sujet de choix pour les chercheurs au niveau de nombreux laboratoires à travers le monde. Le grand intérêt donné à ces plantes revient en fait à leur richesse en composés naturels bioactifs d'une part, et le besoin de rechercher un moyen thérapeutique plus doux qui constituera un alternatif aux molécules de synthèse d'autre part.

L'activité biologique autour de laquelle s'est articulé ce présent travail concerne le pouvoir antibactérien des extraits bruts aqueux (Ex.Aq), méthanolique (Ex.MeOH) et chloroformique (Ex.Chl) des racines de *Carthamus caeruleus* utilisé en médecine traditionnelle.

La macération des racines de la plante dans les différents solvants utilisés a donné des rendements en extrait sec variables. Le plus élevé est obtenu par extraction dans l'eau, le plus faible par contre revient au chloroforme.

Après analyse qualitative des extraits, réalisée par criblage phytochimique et par CCM, il s'est avéré que les racines de *Carthamus caeruleus* renferment plusieurs familles de composés naturels comme les flavonoïdes, les polyphénols, les composés réducteurs et les coumarines. Ces substances sont généralement responsables de l'activité biologique des extraits de plantes médicinales. Observé sous lampe UV 365 nm, le chromatogramme des extraits montre que ces derniers contiennent presque le même nombre de molécules séparées mais les bandes correspondantes présentent des couleurs variables.

S'agissant de l'activité antibactérienne des trois extraits, celle-ci a été réalisée sur 7 souches bactériennes : 4 de référence (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* et *E. coli*) et 3 d'origine clinique (*Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *S. epidermis*). Certaines de ces bactéries ont manifesté une grande résistance vis-à-vis des différents extraits de la plante, en particulier à l'extrait aqueux ; il s'agit de *Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa* et *E. coli*.

Les extraits méthanolique et chloroformique ont, par contre, exercé un effet inhibiteur, bien que modéré, sur le reste des souches bactériennes à savoir *K. pneumoniae*, *S. aureus* et *S. epidermis*.

La chose certaine est que les plantes médicinales présentent des activités biologique et thérapeutique variables selon la nature des substances renfermées. Les mécanismes d'action de ces dernières restent complexes. Il serait donc important, lors des investigations, d'étudier les différentes activités de chaque plante considérée et de mettre

en relief les molécules responsables. L'étude *in vitro* est une étape nécessaire mais elle doit être complétée par une autre *in vivo* pour une meilleure approche concernant ce sujet.

*Références  
bibliographiques*

## Références

**Abderrazak M. et Joel R., 2007.** La botanique de A à Z 1662 définitions. Ed. Dunod, Paris, p 9-298.

**Anton R. et Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Techniques et Documentation. Ed. Paris, 522 p.

**Babar A.M., Hahn E.J. et Paek K.Y., 2007.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures. *Molecules*, **12** : 607-621

**Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius* : 83-94

**Balansard G., 2007.** Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés Antibactérienne ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie*, **42**

**Belkhiri F., 2009.** Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *tamus communis l* et *carthamus caeruleus l*. Mémoire de magister, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif, p 2- 86.

**Benbrinis S., 2012.** Evaluation des activités antioxydant et antibactérienne des extraits de *santolina chamaecyparissus*. Mémoire de magister, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif, p 2-73.

**Bennet M., Gallagher M., Fagg J., Bestwick C., Paul T., Beale M. et Mansfield J., 1996.** The hypersensitive reaction, membrane damage and accumulation of autofluorescent phenolics in lettuce cells challenged by *Bremia lactucae*. *Plant J*, **9** : 851-865

**Bhat S.V., Nagasampagi B.A. et Sivakumar M., 2005.** Chemistry of natural products. Ed. Narosa, New Delhi, India, p 237.

**Bidie A.P., N'Guessan B.B., Yapo A.F., N'GUESSAN J.D. et Djaman A.J., 2011.** Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences et Nature*, **8** (1) : 1-11

**Boullard B., 2001.** Plantes Médicinales Du Monde (Réalités et Croyances), ESTEM, p 515 – 516.

**Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G. et Pedro L.G., 2007.** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et. link. *Food Chemistry*, **105** : 146-155

**Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C. et Ayachi A., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'Aubépine Monogyne. Lebanese. *Science Journal*, **12** (1) : 59-69

**Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. Ed. Lavoisier. Paris, p 274-285.

**Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Technique et Documentation. Ed. (3<sup>e</sup>). Lavoisier. Paris, 1120 p.

**Bruneton J., 2008.** Pharmacognosie, phytochimie, plante médicinales. Technique et Documentation. Ed. (3<sup>e</sup>). Lavoisier, Paris, p 112.

**Cavin A.L., 2007.** Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre *Detarium* (Fabaceae-Caesalpinioideae) : *D. microcarpum* Guill. Et Perr. Et. Des formes comestibles et toxiques de *D. senegalense* J.F.Gmel. Thèse de doctorat. Genève, 277 p.

**Chaibi A., Ababouch L.H., Belasri K., Boucetta.S. et Busta F.F., 1997.** Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food Microbiology*, **14** : 161-174

**Coraline B., Aurélie B., Tanguy C. et Aurélie L. G., 2006.** Les huiles essentielles. *U.C.O* Bretagne Nord.

**Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R. et Wyllie S.G., 1991.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, **88** : 170-175

**Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. et Wyllie S.G., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, **88** : 170-175

**Daglia M., 2011.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, **23** : 1-8

**Dawson R., Elliott D., Elliott W. et Jones K., 1991.** Dictionnaire de biochimiste. Ed. Mir, Moscou.

**Dewick P.M., 2001.** Medicinal natural production : a biosynthetic approach. Pharmaceuticale et Médicinal chemistry. Ed (2<sup>e</sup>). ISBN, p 167-289.

**Djeidane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocher P. et Vidal N., 2006.** Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic. *Food chemistry*, **97** : 654-660

**Dobignard A., 2008.** Base de Données Nomenclaturale Afrique du Nord. <http://www.tela-botanica.org>.

**Duraffourd C., Lapraz J.C. et Chemli R., 1997.** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er Congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, p 222.

**Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D., 2007.** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc. Faculté des Sciences – Kénitra.

**El-Rhaffari L. et Zaid A., 2004.** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. *Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes* : 293-318.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, **331** : 372-379

**Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D. et Guo Z., 1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*, **64** (2) : 159-164

**Ferrari J., 2002.** Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de doctorat. Université de Lausanne. 228 p.

**Georgievskii V. P., Komissarenko N. F. et Dmitrouk S. E., 1990.** Substances bioactives des plantes médicinales. Ed. « Naouka » Novosibirsk. 336 p.

**Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M. et Hamdi M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniper us phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.* **105** :1126-1134

**Hennebelle T., 2006.** Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbénacées), Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. France.

**Hesse M., 2002.** Alkaloids: natures Curse of blessing. Ed. WILEY-VCH, p1-12.

**Jones W. P. et Kinghorn A.D., 2005.** Extraction of plant secondary metabolites. *In* : Sarker S.D., Latif Z. and Gray A.I., Natural products isolation. Ed. Humana press (Totowa), p 323- 411.

**Judd W.S., Campbell C S., Kellogg E.A. et Stevens P.F., 2002.** Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. Ed. (1<sup>é</sup>). De Boeck Université, Paris, p 383.

**Karumi Y., Onyeyili P.A. et Ogugbuaja V.O., 2004.** Identification of active principals of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Sc*, **4** : 179-182

**Kriss de Niort., 2007.** Le genre Carthame- Carthamus. <http://www.krissnature.net>.

**Kueny-Stotz M., 2008.** Contribution à la chimie des flavonoïdes : élaboration de squelettes flavylum sophistiqués, nouvelle voie d'accès aux flavan-3-ols et aux proanthocyanidines, Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur-Strasbourg, France.

**Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils, *Phytotherapy Research*, **18** : 435- 448

**Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. et Lee C.Y., 2003.** Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, **51** : 7292-7295

**Makoi J.H.J.R. et Ndakidemi P.A., 2007.** Biological, ecological and agronomic significance of plant phenolic compounds in rhizosphere of the symbiotic legumes. *African Journal of Biotechnology*, **6** (12) : 1358-1368

**Males Z. et Medić-Šarić M., 2001.** Optimization of TLC analysis of flavonoids and phenolic acids of *Helleborus atrorubens* waldst. Et Kit. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **24**: 353-359

**McCalley D.V., 2002.** Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, *Review. Journal of Chromatograph*, **967** (1) : 1-19

**Memelink J., Verpoort R. et Kijine J.W., 2001.** Organization of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in Plant Science*, **6** : 212-221

**Milane H., 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg. France.

**Mioulane P., 2004.** Encyclopédie universelle des 15000 plantes et fleurs de Jardin. Ed. Larousse. ISBN. 512 p.

**Moreira M.R., Ponce, A.G., Del Valle C.E. et Roura S.I., 2005.** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *LWT*, **38** : 565-570

**MSPRH., 2008.** Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine. Ed. (5è), p 20-88.

**Muthu C., Ayyanar M., Raja N. et Ignacimuthu S., 2006.** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, **2**: 43

- N'gaman K.C., Békro Y.A., Mamyrbékova-Béto J.A., Bénie A. et Goaré B.S., 2009.** Sur la composition en métabolites secondaires et l'activité anti-oxydante d'extraits Bruts de *Gmelina Arborea* Roxb. (verbanaceae) de cote d'Ivoire, Afrique de l'ouest : Analyse par chromatographie en Couche Mince. *Journal of scientific Research*, **36** : 161-171
- Oloyede O.I., 2005.** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*, Pakist. *journal of nutrition*, **4** : 379-381
- Paolini V., Dorchie P. et Hoste H., 2003.** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. *Alter. Agri*, 17-19.
- Pascal M. et Véronique Ch., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Collection science et techniques agroalimentaires. Ed. Technique et Documentation. Paris, p 2-25.
- Quezel P. et Santa S., 1963.** Nouvelle Flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. Ed. Paris, 565 p.
- Rodriguez E., 2007.** Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). *Journal of Ethnopharmacology*, **111** : 295-302
- Rösch D., Krumbein A. et Kroh L.W., 2004.** Antioxidant gallo catechins, dimeric and trimeric proanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) pomace. *European Food Research and Technology*, **219** (6) : 605-613
- Sağdıç O., 2003.** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm - Wiss. U. Technol*, **36** : 467-473
- Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Technique et Documentation. Ed. Paris, p 2-10.
- Schumacher A. et Reichling P., 2003.** virucidal effect of peppermint oil on the enveloped virus herpes simplex virus types 1 and type 2 in vitro. *Phytomedicine*, **10** (6-7) : 504-510
- Seidel V., 2005.** Initial and Bulk Extraction. In : Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. Ed. Humana Press (Totowa), p 27-37.

**Silván A. M., Abad M.J., Bermejo P., Sollhuber M. et Villar A., 1996.** Anti-inflammatory activity of coumarins from *Santolina oblongifolia*. *J. Nat. Prod.*, **59** (12) : 1183-1185

**Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. et Stöckigt D., 2002.** High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Review Journal of Chromatography*, **967** : 85–113

**Tresse E. et Evans W.C., 1987.** Pharmacognosy Billiaire. Ed. Tindall, London, **13** : 61-62

**Ulfree A., Slump R.A., Steging G. et Smid E.J., 2002.** Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection*, **63** : 620-624

**Valero M. et Francés E., 2006.** Synergistic bactericidal effect of carvacrol, cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot. *Food Microbiology*, **23** : 68-73

**Vokou D., Kokkini S. et Bressiere J.M., 1988.** *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece. Distribution, volatile oil yield, and composition. *Economy botanic*, **42** : 407-412

**Wagner H. et Sabine B., 1996.** Plant drug analysis in thin layer chromatography atlas. Ed (2<sup>e</sup>), Springer Verlag, Berlin. 384 p.

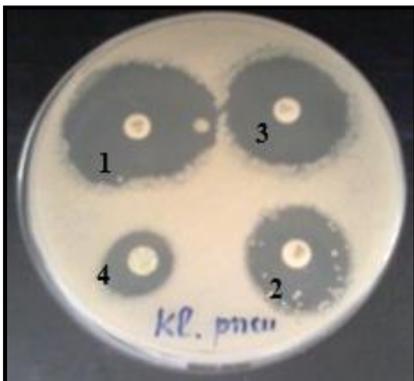
**Warner K. et Michael Eskin N. A., 1995.** Methods to assess quality and stability of oils and fat containing foods. Ed. AOCS. Press, Champaign, 215 p.

**Zhang H., Kong B., Xiong Y.L. et Sun. X., 2009.** Antimicrobial activities of spice extract against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Science*, **81** : 686-692

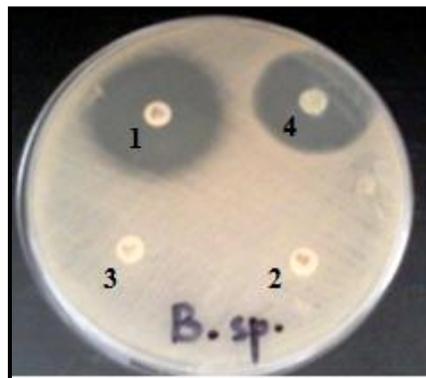
# *Annexes*

**Annexe 1 : Tests antibactériens**

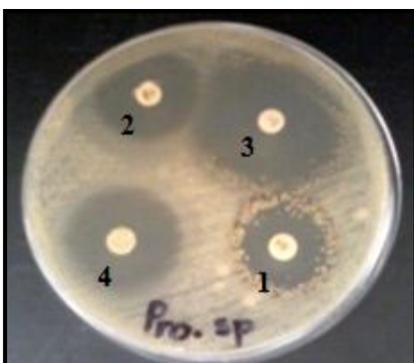
Tests aux antibiotiques (antibiogramme)



*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603



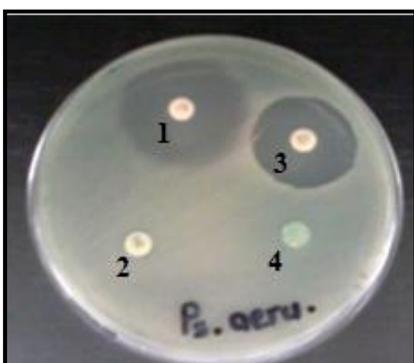
*Bacillus* sp.



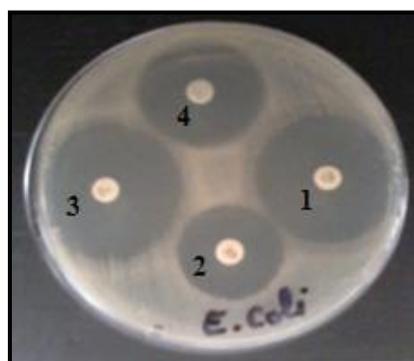
*Proteus* sp.



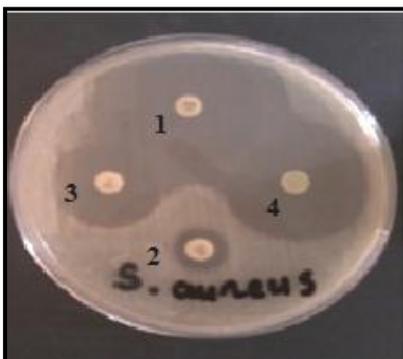
*Streptococcus epidermis*



*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853



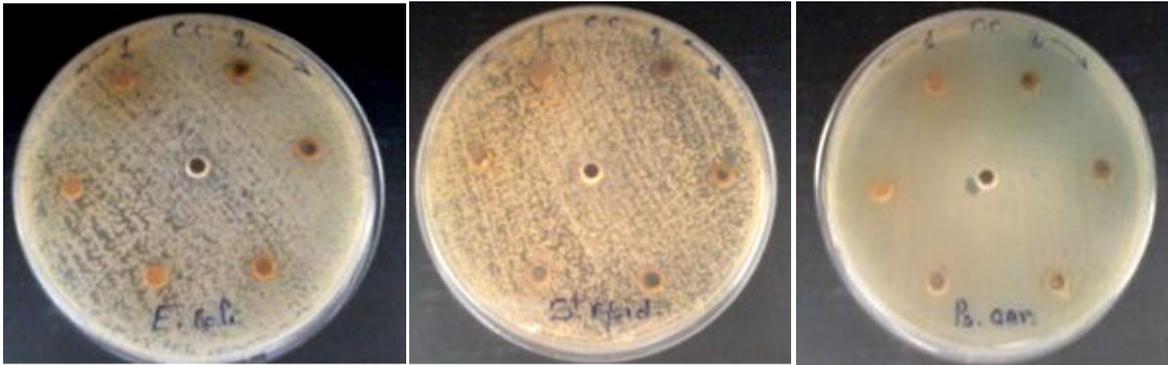
*Escherichia coli* ATCC 25922



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

- 1 : IMP : Imipenème
- 2 : NA : Acide Nalidixique
- 3 : CIP : Ciprofloxacine
- 4 : FOX : Cifoxcitine

Activité antibactérienne des extraits bruts



*Escherichia coli*  
ATCC 25922

*Streptococcus epidermis*

*Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853



*Klebsiella pneumoniae*  
ATCC 700603

*Proteus sp.*

*Bacillus sp.*



A : Extrait aqueux,  
M : Extrait méthanolique  
T : Témoin négatif DMSO (diméthyle sulfoxyde)  
1 : Concentration de 300mg/ml  
2 : Concentration de 150mg/ml  
3 : Concentration de 75mg/ml

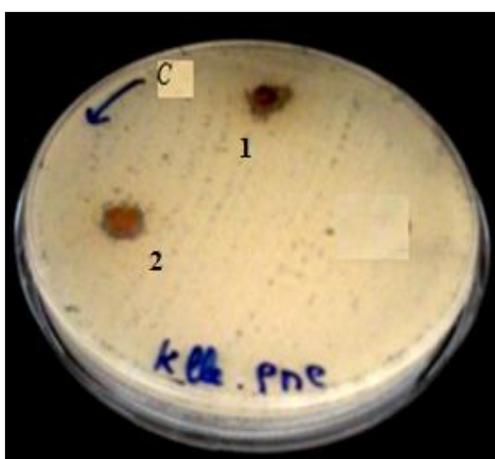
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923



*Streptococcus epidermidis*



*Staphylococcus aureus* ATCC 25923



*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603

C : Extrait chloroformique

1 : Concentration de 100mg/ml

2 : Concentration de 50mg/ml

## Annexe 2 : Milieux de culture

### Gélose nutritive

Tryptone	5g/l
Meat extract	3 g/l
Bacteriological agar	12 g/l

### Bouillon nutritif

Tryptone	10 g/l
Meat extract	5g/l
Sodium chloride	5g/l

**Muller Hinton**

Hydrolysate acide de caséine	17,5 g/l
Infusion de viande	2 g/l
Amidon soluble	1,5 g/l
Agar Agar bactériologie	17 g/l

**Eau physiologique**

NaCl	9 g
Eau distillé	1000 ml

**Annexe 3 : Réactifs des tests phytochimiques**

**Réactif de Wagner**

Iodure de potassium	2 g
Iode	1,27 g
Eau distillé	100 ml

**Solution de liqueur Fehling**

**Solution A**

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	35 g puis ajouter
$\text{H}_2\text{SO}_4$	5 ml et compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée

**Solution B**

Tartrate double de Na et K	200 g, les dissoudre dans de la
Lessive de soude	375 ml, et compléter à 1 litre avec de l'eau déminéralisée

## ملخص

تميز المستخلصات الطبيعية للنباتات بنشاطات بيولوجية متعددة. اهتمت هذه الدراسة بأحد جوانبها لدى نبتة *Carthamus caeruleus* والمتمثل في التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلصات الجذور المتحصل عليها عن طريق النقع في ثلاثة مذيبات مختلفة : الماء، الميثانول والكلوروفورم. قدر مردود الاستخلاص بـ 6,43%، 5,28% و 1,53% على الترتيب. بينت التحاليل النوعية، سواء الكيميائية منها أو الكروماتوغرافية (على الطبقة الرقيقة)، التي أجريت على مستخلصات الجذور، أن هذه الأخيرة تحتوي على عديد من الأنواع الكيميائية الهامة مثل عديدات الفينول (الفلافونويدات، الكومارين)، القلويدات، الغلوزيدات والستيرويدات. أما عن النشاطية المضادة للبكتيريا، فقد أنجزت باستعمال طريقة الانتشار ضد سبع سلالات بكتيرية، أربعة منها مرجعية (*E. coli* و *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) وثلاثة مصدرها عينات مرضية (*Proteus sp.*, *S. epidermi*, *Bacillus sp.*). أظهرت النتائج أن جميع المستخلصات، خاصة المائي منها، لم يكن لديها أي تأثير على السلالات *Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa* و *E. coli*. بينما أظهر كل من المستخلص الميثانولي والمستخلص الكلوروفورمي نشاطية وإن كانت بسيطة، ضد السلالات *S. aureus*, *K. pneumoniae* و *S. epidermi*.  
**كلمات مفتاحية :** النشاطية المضادة للبكتيريا، *Carthamus caeruleus*، الجزيمات الفعالة، الطب التقليدي، الاستخلاص.

## Summary

The natural extracts of plants are characterised by several biological activities. The present study was proposed to evaluate the antibacterial ability of those obtained from *Carthamus caeruleus* roots by maceration in three different solvents : distilled water, methanol and chloroform. The extraction yields were 6.43%, 5.28 % and 1.53 % respectively. The qualitative analysis, performed by specific phytochemical tests and thin layer chromatography, revealed the presence of certain chemical groups such : polyphenols (flavonoids, coumarins), alkaloids, reducing compounds and steroids. The antibacterial activity of the three crude extracts was estimated by the hole diffusion method on seven bacterial strains : four referenced (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *E. coli*), the rest isolated from pathological samples (*Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *S. epidermi*). The result showed that all extracts, mainly the aqueous one, were inactive against *Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa* and *E. coli*. While the methanolic and chloroformic extracts showed a moderate antibacterial effect on *K. pneumoniae*, *S. aureus* and *S. epidermi*.

**Key words :** Aantibacterial activity, Bioactive compounds, *Carthamus caeruleus*, Traditional pharmacopeia, Extraction.

## Résumé

Les extraits naturels de plantes se caractérisent par des activités biologiques diverses. La présente étude s'est proposé d'évaluer le pouvoir antibactérien de ceux obtenus par macération des racines de *Carthamus caeruleus* dans trois solvants distincts : l'eau, le méthanol et le chloroforme. Les rendements d'extraction étaient de 6,43%, 5,28% et 1,53% respectivement. L'analyse qualitative, effectuée par des tests phytochimiques spécifiques et par chromatographie sur couche mince, a relevé la présence dans les extraits de quelques groupes chimiques importants comme les polyphénols dont les flavonoïdes et les coumarines, les alcaloïdes, les glycosides et les stéroïdes. S'agissant de l'activité antibactérienne des trois extraits, celle-ci a été réalisée par la méthode de diffusion à partir de puits sur sept souches bactériennes : quatre de référence (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *E. coli*) et trois d'origine clinique (*Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *S. epidermi*). Tous les extraits, particulièrement l'aqueux, se sont montrés inactifs vis-à-vis de *Bacillus sp.*, *Proteus sp.*, *P. aeruginosa* et *E. coli*. Les extraits méthanolique et chloroformique ont, par contre, exercé un effet inhibiteur, bien que modéré, sur *K. pneumoniae*, *S. aureus* et *S. epidermi*.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, *Carthamus caeruleus*, Composés bioactifs, Pharmacopée traditionnelle, Extraction.