



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi - Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée



**Mémoire de fin d'étude**

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

**Domaine : Sciences de la nature et de la vie**

**Filière : Sciences biologiques**

**Option : microbiologie appliquée**

**Thème :**

**Screening phytochimique et évaluation in vitro de  
l'activité antibactérienne d'une plante locale de la  
famille des *Rutacées***

**Présenté par :**

**M<sup>elle</sup> Ait Yahia Meriem**

**M<sup>elle</sup> Zedairia Dhikra**

**Devant le jury:**

<b>Dr. Bouabida Hayette</b>	<b>-Pr</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Présidente</b>
<b>Dr. Fenghour Hind</b>	<b>-MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Dr. Sghir Hanene</b>	<b>-MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Examinatrice</b>

**Date de soutenance: 08/06/2024**





République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi -Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Appliquée



**Mémoire de fin d'étude**

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

**Domaine : Sciences de la nature et de la vie**

**Filière : Sciences biologiques**

**Option : microbiologie appliquée**

**Thème :**

**Screening phytochimique et évaluation in vitro de  
l'activité antibactérienne d'une plante locale de la  
famille des *Rutacées***

**Présenté par :**

**M<sup>elle</sup> Ait Yahia Meriem**

**M<sup>elle</sup> Zedairia Dhikra**

**Devant le jury:**

<b>Dr. Bouabida Hayette</b>	<b>-Pr</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Présidente</b>
<b>Dr. Fenghour Hind</b>	<b>-MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Dr. Sghir Hanene</b>	<b>-MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Examinatrice</b>

**Date de soutenance: 08/06/2024**



# *Remerciements*

Nous voudrions exprimer nos reconnaissances et nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont eu l'amabilité de nous prodiguer aides, critiques, suggestions et encouragement dans l'accomplissement du présent travail.

En particulier, notre promotrice, DR. Fenghour Hind, qui a bien voulu nous encadrer, et qui nous a fait profiter de ses directives, ses conseils judicieux et les très nombreux moments consacrés à la discussion de nos travaux, qu'elle trouve ici l'expression de nos gratitude pour l'intérêt dont elle a fait preuve à l'égard de ce travail.

Nos vifs remerciements aux membres de jury qui voudront bien juger ce travail, aux techniciennes de laboratoire , en particulier M<sup>elle</sup> Hemimed Rayene ,et à tous ceux qui nous ont aidé de pré ou de loin à sa réalisation.

Nous présentons notre plus grand respect à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation et nous leur exprimons notre immense gratitude.

Merci également à tous nos collègues et amis pour leur soutien et encouragements.

# Dédicaces

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ )

*Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont très chers*

*A la mémoire de mon très cher et regretté papa, auteur de mes jours et qui n'a pas goûté aux fruits de ses années de souffrance. Ton souvenir guide mes pas et réchauffe mon cœur, toutes mes prières t'appartiennent, je suis reconnaissante d'avoir vécu ce que je devais vivre à tes côtés papa. Que ton âme reçoive ici l'expression bien modeste de ma gratitude et ma reconnaissance.*

*A la prunelle de mes yeux, ma très chère mère, le symbole de la bonté par excellence, la source de la tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a jamais cessé de m'encourager. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tes sacrifices depuis ma naissance, durant l'adolescence et même à l'âge adulte. Je t'aime très fort.*

*A mes frères Ridha et Abdelghani, en témoignage de l'attachement, de l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous porte dans mon cœur. Je vous remercie d'être l'épaule sur laquelle je peux m'appuyer. Je vous dédie ce modeste travail avec tous mes vœux de bonheurs, santé et de réussite.*

*A la mémoire de mes frères, cousins, **Nassim** et **Arslene** qui nous ont quittés très tôt.*

*A mon deuxième papa, la personne qui répand la joie et la positivité tout autour, mon très cher oncle « **Boussaad** ». Qu'Allah lui accorde une longue vie.*

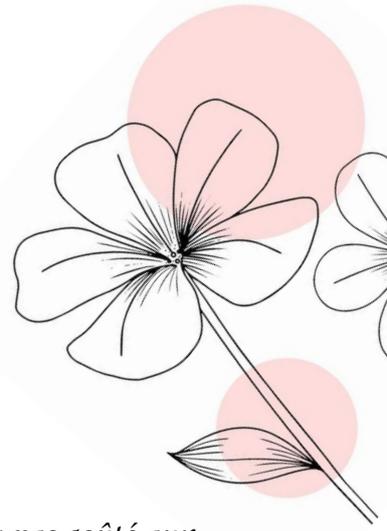
*A mes sœurs du cœur, Rayene et Oumaima pour leur encouragement permanent et leur soutien moral. Que Dieu vous assiste et vous réserve une vie pleine de succès et de bonheur*

*A mes très chères amies : Oumaima Tadjine, Souha, Ahlem. Je vous porte dans mon cœur.*

*A mon ami Housseem pour son soutien sans faille*

*A mes oncles : Mourad, Mahmoud, Djamel, Aziz Bahloul, . Mes tantes, et toute la famille Ait Yahia et Bouchachia de Tébessa, Sétif et Alger pour leurs soutien et encouragements.*

*Meriem*



# *Dédicaces*



*Tout d'abord, je tiens à remercier "DIEU" le tout puissant de m'avoir donné la capacité et la patience d'aboutir au moment que j'ai l'attendu*

*Avec tous mes sentiments de respect, je dédie ce modeste travail et ma joie*

*A mon paradis, a la prunelle de mes yeux à la source de ma vie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allume mon chemin, ma moitié*

***Maman "Hafiza"***

*A celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, à mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, à mon pur ange*

***Papa "Sadek"***

*A mes chers frères Imad, Kais et Farouk*

*À ma douce sœur Marièm*

*Merci pour toute l'aide que vous m'avez apporté*

*A mon héroïque neveu "Ahmed" que j'aime beaucoup*

*Spécial dédicace à ma chère encadrante*

***Dr. Fenghour Hind***

*pour sa patience, sa diligence et sa réactivité Lors de la préparation de ce mémoire*

*A mes adorables amies "Hanan", "Khouloud", "Dounia" "Ikhlil" et tous ceux qui font partie intégrante de mes souvenirs et ma vie*

*Sans oublier ma binôme "Meriem" pour m'avoir accompagné dans cette aventure et pour son soutien moral et sa compréhension tout au long de ce projet*

***Dhikra***

# Résumé

*Ruta graveolens*, Awermi en berbère et Fidjel en dialecte arabe. Une plante herbacée de la famille des Rutacées, très répandue en Algérie. Utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs troubles notamment en ophtalmologie, rhumatologie et traumatologie. L'objectif de cette étude consiste à effectuer une analyse phytochimique de l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de cette plante et à évaluer son potentiel antibactérien in vitro contre la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.. le rendement de l'extrait hydroéthanolique à été estimé de 17,07 %. Les diamètres d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices ont été mesurés en utilisant les techniques de diffusion en milieu solide et de dilution en milieu liquide. Des tests de caractérisation basés sur des réactions physico-chimiques ont été utilisés pour effectuer le criblage phytochimique. Les diamètres d'inhibitions de l'extrait pure étaient compris entre 13,77 mm et 16,16 mm. Les valeurs de CMI variaient de 25 à 50 mg/mL. Le rapport CMB/CMI indique un effet bactéricide sur les souches bactériennes testées. L'analyse phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, de saponosides, de tanins catéchiques, de terpène et de stéroïdes et l'absence des quinones, alcaloïdes et des tanins galliques. Selon cette recherche, il a été démontré que l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* possède une bonne activité antibactérienne et renferme diverses familles de substances chimiques.

**Mots clés :** *Ruta graveolens*, extrait hydroéthanolique, screening phytochimique, activité antibactérienne, métabolites secondaires.

---

*Ruta graveolens*, Awermi in Berber and Fidjel in Arabic dialect. A herbaceous plant of the family Rutaceae, very much responded in Algeria. Used in traditional medicine to treat several disorders including ophthalmology, rheumatology and traumatology. The objective of this study is to perform a phytochemical analysis of the hydroethanolic extract of the aerial part of this plant and to evaluate its antibacterial potential in vitro against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The yield of hydroethanolic extract was estimated at 17.07%. Inhibition diameters and minimum inhibitory concentrations were measured using solid medium diffusion and liquid medium dilution techniques. Characterization tests based on physicochemical reactions were used to perform phytochemical screening. The DIs of pure extract ranged from 13.77 mm to 16.16 mm. Minimum inhibitory concentrations values ranged from 25 to 50 mg/mL. The CMB/CMI ratio indicates a bactericidal effect on the bacterial strains tested. A phytochemical analysis revealed the presence of flavonoids, saponosides, catechetical tannins, terpene and steroids. Based on this research, hydroethanolic extract of *Ruta graveolens* has been shown to have a strong antimicrobial capacity and contains various families of chemicals.

**Key words:** *Ruta graveolens*, hydroethanolic extract, phytochemical screening, antibacterial activity, secondary metabolites.

---

نبات "*Ruta graveolens*" المعروف باسم "أورمي" بالأمازيغية و "الفيجل" أو "السذاب الأذفر" باللغة العربية. هو نبات عشبي ينتمي إلى عائلة "السذابية". منتشر بشكل واسع في الجزائر. يستخدم في الطب التقليدي للتداوي من العديد من الأمراض، لا سيما في طب العيون، أمراض الروماتيزم والعظام. يهدف هذا البحث إلى إجراء فحص كيميائي نباتي لمستخلص "الهيدروايثانول" للجزء الهوائي للنبته، وتقييم قدرته المضادة للبكتيريا في المختبر "in vitro". أجريت تجارب على كل من "*Staphylococcus aureus*", "*Bacillus subtilis*", "*Escherichia.coli*" و "*Klebsiella pneumoniae*". تم تقدير مردود مستخلص النبتة في القضاء على البكتيريا السابق ذكرها وتثبيط تكاثرها بنسبة 17.07%. تم استخدام طرق الانتشار في الوسط الصلب والتخفيف في الوسط السائل لتحديد أقطار التثبيط وأدنى تركيزات مثبته. كما تمت عملية العزل الكيميائي لمستخلص النبتة باستخدام اختبارات تحديد تعتمد على التفاعلات الفيزيائية والكيميائية. تراوحت أقطار التثبيط للمستخلص الخام بين 13.77 ملم و 16.16 ملم، وكانت أدنى تركيزات مثبته بين 25 و 50 ملغ/مل. تشير نسبة CMB/CMI إلى وجود تأثير مضاد للبكتيريا. كشف الاختبار الكيميائي النباتي عن وجود "الفلافونات، الصابونين، التانين المكثف، التربين، الستيرويد". و غياب الكينونات، التانين القابل للتحلل، القلوانيات. في الأخير يمكن القول أن هذه الدراسة أظهرت أن المستخلص الهيدروايثانولي لنبته الفيجل يمتلك قوة مضادة للبكتيريا ويحتوي على عدة عائلات من المركبات الكيميائية.

**الكلمات المفتاحية** "*Ruta graveolens*". لمستخلص "الهيدروايثانول". فحص كيميائي نباتي. المركبات الكيميائية

نشاط مضاد للبكتيريا

### Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	La position systématique de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>05</b>
<b>02</b>	Quelques usages traditionnels du <i>Ruta graveolens</i>	<b>06</b>
<b>03</b>	Les coordonnées géographiques de la zone de récolte de la plante	<b>12</b>
<b>04</b>	Tableau descriptif des différentes souches bactériennes testées	<b>13</b>
<b>05</b>	tableau récapitulatif des milieux de cultures utilisés	<b>13</b>
<b>06</b>	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition	<b>23</b>
<b>07</b>	résultats du screening phytochimique de <i>Ruta graveolens</i>	<b>25</b>
<b>08</b>	valeurs du rendement de l'extraction hydroéthanolique de <i>R. graveolens</i>	<b>26</b>
<b>09</b>	Valeurs du rendement de l'extraction hydroéthanolique de <i>R. graveolens</i>	<b>28</b>
<b>10</b>	l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique pure et dilué de <i>Ruta graveolens</i>	<b>29</b>
<b>11</b>	Le rapport de la CMB/CMI des trois souches testées	<b>31</b>

---

### Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	<i>Ruta graveolens</i> : a) les feuilles de <i>Ruta graveolens</i> . B) les fleurs de <i>Ruta graveolens</i>	<b>04</b>
<b>02</b>	<i>Ruta graveolens</i>	<b>11</b>
<b>03</b>	localisation du site de récolte de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>12</b>
<b>04</b>	les feuilles de <i>Ruta graveolens</i> avant et après mouture	<b>14</b>
<b>05</b>	Macération de l'extrait hydroéthanolique de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>15</b>
<b>06</b>	la filtration du macérat de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>15</b>
<b>07</b>	Évaporation de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>	<b>16</b>
<b>08</b>	Diagramme d'extraction hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i> .	<b>16</b>
<b>09</b>	Revivification et repiquage des souches	<b>19</b>
<b>10</b>	Préparation de la suspension mère	<b>20</b>
<b>11</b>	les dilutions de l'extrait préparées pour l'étude quantitative de l'activité antibactérienne	<b>21</b>
<b>12</b>	Préparation des disques pour l'Aromatogramme	<b>21</b>
<b>13</b>	Ensemencement des souches bactériennes dans le milieu MH	<b>22</b>
<b>14</b>	Dépôt et imprégnation des disques	<b>23</b>
<b>15</b>	Distribution expérimentale de la microplaque pour les cinq souches testées pour la détermination de la CMI	<b>31</b>

---

Liste des annexes

<b>Annexe</b>	<b>Titre</b>
<b>01</b>	Matériel du laboratoire et les produits utilisés
<b>02</b>	Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique
<b>03</b>	Description et principe du Rotavapor
<b>04</b>	Les étapes de la coloration de Gram
<b>05</b>	Préparation des milieux de cultures et de l'eau physiologique
<b>06</b>	Préparation du standard 0.5 Mac Farland
<b>07</b>	Mesure des diamètres d'inhibitions
<b>08</b>	Résultats du test préliminaire et de l'étude quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>
<b>09</b>	Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>

---

### Liste des abréviations

**EHE** : Extrait hydroéthanolique

**R. graveolens** : *Ruta graveolens*

**E.coli** : *Escherichia coli*

**S.aureus** : *Staphylococcus aureus*

**K.pneumoniae** : *Klebsiella pneumoniae*

**B.subtilis** : *Bacillus Subtilis*

**G+** : Gram positif

**G-** : Gram négatif

**EP** : Ether de pétrole

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de fer

**HCL** : Acide Chlorhydrique

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

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**TCA** : Acide trichloracétique

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**GN** : Gélose Nutritive

**MH** : Muller Hinton

**BMH** : Bouillon Muller Hinton

**BN** : Bouillon nutritif

**DI** : Diamètre d'inhibition

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**g** : gramme

**mg** : milligramme

**mL** : millilitre

**mm** : millimètre

**µL** : microlitre

**v/v** : volume sur volume

**min** : minute

**sec** : seconde

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance

**CPG** : chromatographie en phase gazeuse

---

**Table des matières**

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Table des matières</b>	
<b>Introduction</b>	
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Présentation de la plante étudiée « <i>Ruta graveolens</i> »</b>	
I- Description systématique de <i>Ruta graveolens</i>	<b>03</b>
1- <i>Ruta graveolens</i>	<b>03</b>
2-Nomenclature	<b>04</b>
3- Taxonomie de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>04</b>
4- constituants chimique de <i>Ruta graveolens</i>	<b>05</b>
5- Utilisation populaire et traditionnelle de <i>Ruta graveolens</i>	<b>05</b>
6- Toxicité de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>06</b>
<b>Chapitre II : Les métabolites secondaires</b>	
I- Les métabolites secondaires	<b>07</b>
1- Les Alcaloïdes	<b>07</b>
2- Les Terpènes et les Stéroïdes	<b>07</b>
3- Les Flavonoïdes	<b>07</b>
3.1- Classification des Flavonoïdes	<b>08</b>
4- Les Tanins	<b>08</b>
4.1- Les Tanins hydrolysables	<b>08</b>
4.2- Les Tanins condensés	<b>09</b>
5- Les Coumarines	<b>09</b>
6- Les Saponosides	<b>10</b>
7- Les Quinones	<b>10</b>
<b>Partie II : Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériels et Méthodes</b>	
I- Objectif de travail	<b>11</b>
II- Matériel et méthodes	<b>11</b>
1- Matériels	<b>11</b>
1.1- Matériel végétal utilisé	<b>11</b>
1.2- Les souches bactériennes testées	<b>13</b>
1.3- Les milieux de cultures utilisés	<b>13</b>
2- Méthodes	<b>14</b>
2.1- Traitement de la plante étudiée	<b>14</b>
2.2- Extraction hydroéthanolique de la plante <i>Ruta graveolens</i>	<b>14</b>
2.2.1- Préparation de l'extrait Hydroéthanolique	<b>14</b>

---

## Table des matières

2.2.2- Détermination du rendement de l'extrait hydroéthanolique	17
2.3- Screening phytochimique	17
2.3.1- La recherche des Flavonoïdes	17
2.3.2- La recherche des Saponosides	17
2.3.3- La recherche des Tanins	18
2.3.4- La recherche des Quinones	18
2.3.5- La recherche des Alcaloïdes	18
2.3.6- La recherche des Terpènes et Stéroïdes	19
2.4- Revivification microbiologique et contrôle de la pureté	19
2.4.1- Revivification et repiquage des souches testées	19
2.4.2- Contrôle de pureté des souches	19
2.5- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>	20
2.5.1- Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)	20
2.5.1.1- Test préliminaire	22
2.5.1.2- Etude quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de <i>R. graveolens</i> aux différentes dilutions	22
2.5.1.3- Lecture des résultats	23
2.5.2- Détermination de la CMI de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i> par la méthode de la microplaque	23
2.5.3- Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB	24
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b>	
1- Le rendement de l'extraction hydroéthanolique	25
2- Le screening phytochimique	25
3- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>	27
3.1- contrôle de la pureté des souches	27
3.2-Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i> pure et dilué par la méthode de l'Aromatogramme	28
3.3- Détermination de la CMI et la CMB de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>	31
Conclusion et perspectives	33
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

# Introduction

Les plantes médicinales ont longtemps été une source importante de substances thérapeutiques, surtout dans les pays en développement. Les connaissances sur les vertus et risques des plantes médicinales ont été construites sur des croyances traditionnelles propres à chaque culture, évoluant empiriquement au fil des siècles. . En effet, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voir de milliers de composés naturels bioactifs appelés les métabolites secondaires (**Boudjouref et al, 2011**).

L'Afrique dispose d'une grande biodiversité végétale, avec de nombreuses espèces utilisées traditionnellement à des fins médicinales. Malgré les progrès de la pharmacologie moderne, l'usage thérapeutique des plantes médicinales reste très répandu dans certains pays africains. L'Algérie est reconnue pour sa biodiversité végétale abondante, notamment en ce qui concerne les plantes médicinales qui jouent un rôle déterminant dans la médecine traditionnelle. Le genre *Ruta*, largement répandu dans les régions semi-arides du pays, est un exemple notable de ces plantes médicinales. Les espèces de *Ruta*, telles que *Ruta graveolens* et *Ruta chalepensis*, sont largement utilisées en médecine traditionnelle en Algérie en raison de leur richesse en molécules bioactives aux propriétés thérapeutiques (**Gali, 2014**).

La rue fétide, ou *Ruta graveolens*, est une plante herbacée de la famille des *Rutacées*. Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter divers troubles, tels que les troubles digestifs, les ulcères, les brûlures, les infections respiratoires, ainsi que les infections urinaires et génitales. Cette plante est également utilisée en homéopathie pour ses propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antifongiques.

Plusieurs études ont été menées sur *Ruta graveolens* en raison de ses propriétés antioxydantes et antibactériennes (**Saadi Saeed, 2023 ; Ncibi, 2023 ; Teklit et al, 2015 ; Al-Shhab et al, 2022 ; Najim et al, 2021 ; Tarique et al, 2016**), antifongique (**Manso et al, 2021**), insecticides (**Barbosa, 2011**), anti-inflammatoires (**Alyami et al, 2024 ; Mokhtar et al, 2022**) et aussi anti-tumorales (**Valle et al, 2022**).

Ces pour ces différentes raisons, nous avons choisi *Ruta graveolens*. La présente étude vise à étudier les activités biologiques et à évaluer le potentiel antibactérien de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* de la région de Hammamet, Tébessa.

La première partie de notre mémoire comprend une étude bibliographique qui est divisée en deux chapitres. Dans le premier chapitre, on aborde la description botanique générale, la

---

classification, la composition chimique, ainsi que l'intérêt thérapeutique et la toxicité de la plante étudiée. Le deuxième chapitre aborde les métabolites secondaires.

La Partie expérimentale présente le matériel et les méthodes utilisées pour l'extraction hydroéthanolique et le criblage phytochimique, les résultats obtenus ainsi que leur discussion et une conclusion.

---

# **Synthèse bibliographique**

**Chapitre I :**  
**Présentation de la plante étudiée**  
*« Ruta graveolens »*

### I- Description systématique de *Ruta graveolens*

La famille des *Rutaceae* a été décrite pour la première fois en 1782 par Durande, puis en 1789 par A.L Jussieu. Elle est considérée comme la plus grande famille de l'ordre des Sapindales avec environ 2100 espèces répertoriées dans environ 154 genres. (Marc *et al*, 2021) dont les plus importants sont: *Zanthoxylum*, *Melicop*, *Agathosma*, *Boronia*, *Citrus*, *Ruta* (Botineau, 2010) Pratiquement 25 genres et plus de 80 espèces de cette famille ont été jusqu'ici rapportés d'Inde (Sharma, 1993).

Ce sont des arbustes, des arbres, ou parfois des herbes, parfois grimpants ou scandants, avec des huiles volatiles aromatiques contenues dans des glandes visibles à la surface des feuilles, des jeunes rameaux, des inflorescences, des parties florales, des fruits ou dans les graines. Feuilles alternes, opposées (ou verticillées), simples (pétiole ni gonflé apicalement ni articulé avec le limbe de la feuille). Fleurs hermaphrodites, avec des tépales indifférenciées. Les sépales sont séparés ou se contractent sur toute leur longueur. Les pétales se contractent pour une partie de leur longueur ou sont distincts ou rarement cohérents. (Zhang Dianxiang *et al*, 2010).

#### 1- *Ruta graveolens*

*Ruta Graveolens* ou la rue officinale, est un sous-arbrisseau de la famille des rues qui mesure environ 1 mètre de haut, très ramifiée avec une base ligneuse. Les feuilles sont glauques, semi-persistantes, alternes, pennatiséquées (souvent trilobées) et légèrement charnues. Les fleurs sont jaune terne de 4 à 5 pétales en grappes (corymbes aplatis) fleurissent au-dessus du feuillage au début de l'été (Kannan, 2012). Elle se caractérise par une odeur forte, acre et pénétrante émise par les huiles contenues dans les poches schizolysogènes à la surface des feuilles (Doerper, 2008).

Bien qu'elle soit reconnue comme plante vénéneuse, la rue est aussi souvent utilisée en médecine populaire comme emménagogue, antispasmodique, antiépileptique vermifuge et sudorifique (Narel *et al*, 2020). Ses valeurs médicinales sont dues aux nombreux métabolites secondaires tels que les alcaloïdes d'acridone, les coumarines, les substances volatiles, les terpénoïdes, les flavonoïdes, la furoquinoline, les saponines, les tanins et les glycosides (Auday *et al*, 2021).



**Figure 01:** *Ruta graveolens* : a) les feuilles de *Ruta graveolens*. B) les fleurs de *Ruta graveolens* (Jinous et al, 2012).

## 2- Nomenclature

*Ruta* provient du grec 'rhyté' qui signifie 'sauver', 'prévenir', ou de 'reô' qui signifie 'qui coule', probablement en référence à ses vertus emménagogues. Le terme 'graveolens' est dérivé du latin 'gravis' qui signifie puissant et du verbe 'ollaire' qui signifie sentir, donc une odeur forte et désagréable. (Doerper, 2008).

Les principales appellations de *Ruta graveolens* :

- **En français :** Herbe de Grâce, Rue fétide, Rue malodorante (Akbar, 2020)
- **En anglais :** Garden rue, Herb of Grace (Akbar, 2020)
- **En Tamazight:** Awermi (Zidat, 2016)
- **En arabe :** Fidjel (Hammiche, 2013)

## 3- Taxonomie de la plante *Ruta graveolens*

La position systématique de l'espèce *Ruta graveolens* selon (Takhtajan, 2009).

**Tableau 01** : Position systématique de la plante *Ruta graveolens* (Takhtajan, 2009).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Super division</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Sous division</b>	<i>Angiospermae</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Super ordre</b>	<i>Rutanae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Sapindales</i>
<b>Famille</b>	<i>Rutaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Ruta</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ruta graveolens</i> .L

#### **4-Constituants chimiques de *R. graveolens***

Plus de 100 composés ont été identifiés dans *Ruta graveolens*, avec une grande variabilité de nature et de teneur selon l'espèce, le stade de développement ainsi que la distribution géographique (Hammiche, 2013). Parmi les constituants, on distingue : impéatorine, bergapten, xanthotoxine, rutine, psoralène, et isoimperatorin. Les jeunes tiges et les feuilles contiennent les saponines, phénols, aminoacides, flavonoides, alcaloides. Les principales composantes d'huiles essentielles obtenues à partir de fruits, de fleurs et de feuilles sont 2-nonyl acetate, 2-Undecanone, and 2-nonanone (Shamal et al, 2020).

#### **5-Utilisation populaire et thérapeutique de *Ruta graveolens***

*Ruta graveolens*, plus connue sous le nom de rue officinale, Originnaire d'Europe du Sud-Est et d'Asie de l'Ouest, elle est souvent cultivée comme plante ornementale mais aussi utilisée depuis l'Antiquité à des fins médicinales. Les anciens Égyptiens, les Grecs et les Romains utilisaient fréquemment cette plante aromatique. Son utilisation est mentionnée pour la première fois à l'époque d'Hippocrate, qui conseillait *Ruta graveolens* pour ses propriétés médicinales. La plante a été employée au fil du temps pour soigner différentes affections.

*R. graveolens* a longtemps servi de médecine folklorique pour traiter différentes affections telles que des problèmes oculaires, des rhumatismes, des luxations, des foulures des tendons, des varices et des conditions cutanées comme le psoriasis et l'eczéma, des dermatites et de nombreuses autres affections inflammatoires. (Ratheesh et Helen, 2007)

(Tableau 02).

*Ruta graveolens* est utilisée pour soigner la paralysie, les troubles nerveux et les douleurs articulaires. En lavement, on utilise la décoction de *Ruta graveolens* pour soulager les flatulences, les colites, ainsi que les colites flatulentes. Il est bénéfique pour les douleurs thoraciques liées à la pneumonie et à la pleurésie grâce à son effet analgésique. Il est efficace dans le traitement de la goutte, de l'arthrite, de la sciatique, des coliques flatulentes et de la dyspnée. On peut soigner l'hydropisie avec la pâte de cette feuille de plante, appliquée sur l'abdomen. Il est aussi bénéfique pour les affections de la vessie et des reins et contribue à maintenir les fonctions normales de ces organes. Pour soigner l'aménorrhée, les feuilles de *Ruta graveolens* sont utilisées sous forme de suppositoires ou de tampons et appliquées par voie extra vaginale ou administrées par voie orale sous forme de sirop (Shamal et al, 2020).

**Tableau 02** : Quelques usages traditionnels du *Ruta Graveolens* (Rodolphe et al, 2000).

Espèce	Partie utilisée	voie	Usage
<i>Ruta graveolens</i>	Feuilles, plante entière	Inhalation	Digestive, abortive, sédatrice, emménagogue, antiviral Antirhumatismale, Antihelminthique
	plante entière	Orale	Emménagogue, antispasmodique
	Feuilles		Phlébites, varices, épilepsie, problèmes nerveux, maladies de l'utérus

### 6-Toxicité de la plante *Ruta graveolens*

*Ruta graveolens* contient des substances telles que les coumarines, les alcaloïdes et les flavonoïdes localisées dans les différentes parties de la plante, et responsables de la majorité des actions toxiques (hammiche, 2013). Les huiles volatiles de cette plante peuvent causer des gastrites sévères, des vomissements ainsi que des convulsions. (James, 2002).

## **Chapitre II :**

### ***Les métabolites secondaires***

### **I-Les métabolites secondaires des plantes aromatiques et médicinales**

Les propriétés curatives de certaines plantes sont bien connues. Mais les composants actifs responsables des effets thérapeutiques des plantes n'ont été isolés et étudiés que récemment.

#### **1-Les Alcaloïdes**

Les alcaloïdes constituent l'un des groupes d'éléments actifs les plus importants de la matière médicale. Il s'agit généralement de bases azotées hétérocycliques présentant une activité pharmacodynamique importante (**Oullali, 2018**). Insoluble ou peu dans l'eau, mais soluble dans les alcools, les éthers, les acides et l'ammoniac. (**Aref, 2015**). La classification des alcaloïdes peut être déterminée par leur structure chimique, leur voie biochimique ou leur origine naturelle. D'un point de vue biosynthétique, ils peuvent être divisés en trois grandes catégories : les vrais alcaloïdes, proto-alcaloïdes et pseudo-alcaloïdes (**Bruno, 2020**).

#### **2-Les Terpènes et Stéroïdes**

Les terpènes sont un type de molécule d'hydrocarbure produite par de nombreuses plantes. Ils sont constitués d'un ensemble de 5 unités de carbone appelé isoprène, ils sont donc toujours formés d'un multiples de 5 atomes de carbone (**Sophie, 2021**). Ces molécules sont surtout utilisées pour leurs arômes et leurs odeurs diverses mais elles sont de plus en plus étudiées pour leurs effets thérapeutiques.

Les stéroïdes sont dérivés des terpènes, plus précisément des triterpènes (C<sub>30</sub>). Le précurseur de ces molécules est le squelette squalène, qui se cyclise. Au cours de ce processus, le stéroïde perd des unités de carbone et possède finalement un squelette tétracyclique et 27, carbones (**Sophie, 2021**).

#### **3- Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent un groupe de plus de 6 000 composés naturels présents presque universellement dans les plantes vasculaires (**Ghedira, 2005**). Ce sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune orange et rouge (**Oullali, 2018**). Les flavonoïdes sont composés du même élément structurel de base : deux cycles benzéniques (cycles A et B) reliés en une chaîne droite contenant trois atomes de carbone formant un hétérocycle oxygéné (**Emeraux, 2019**). Les flavonoïdes ont des effets

antioxydants, anti-inflammatoires et antiviraux ou encore des effets sur la circulation sanguine et la protection du foie (Coste, 2015).

### **3.1-Classification des flavonoïdes**

La classification des flavonoïdes est basée premièrement sur la position du carbone liant les cycles B et C ; on parle d'isoflavones quand les cycles B et C sont reliés au niveau du 3<sup>ème</sup> carbone, lorsqu'ils sont reliés au 4<sup>ème</sup> carbone, on parle ici de néoflavonoïdes. Lorsque ils sont reliés au 2<sup>ème</sup> carbone, on divise les flavonoïdes pour la 2<sup>ème</sup> fois selon le degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C, on trouve : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols, anthocyanidines et chalcones (Rousserie, 2019).

### **4-Tanins**

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles de poids moléculaire relativement élevé présents dans la majorité des plantes à des degrés plus ou moins élevés. ceux ci donnent un goût amère à la plante (Oullali, 2018). Les espèces à haute teneur en tanins sont beaucoup utilisées pour resserrer les tissus lâches, tels que les vaisseaux sanguins dans les varices et les tissus mous des fibres intestinales ainsi que pour les affections digestives : diarrhée, ulcère (Coste, 2015).

Aujourd'hui, on peut distinguer deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Boudjouref, 2011).

**4.1-Les Tanins hydrolysables :** Les tanins hydrolysables sont généralement composés d'esters d'acide gallique et de ses dimères (acide digallique, acide ellagique) et de monosaccharides, le plus souvent le glucose. Ils sont connus pour leur goût astringent et sont souvent trouvés dans les fruits, les fleurs et les feuilles. Comme leur nom l'indique, ils sont facilement hydrolysables par les acides et les enzymes (tannase) en pyrogallol (Rira, 2019).

- **Tanins galliques :** Ils sont caractérisés par leur propriété de se dissocier en acide gallique et en glucose lorsqu'ils sont soumis à une réaction d'hydrolyse.
- **Tanins ellagiques :** forment de loin le plus grand groupe de tanins hydrolysables connus, Ils sont caractérisés par leur capacité à libérer de l'acide ellagique après hydrolyse, ce qui les distingue des autres sous-groupes de tanins.

**4.2- Les Tanins condensés** : également connus sous le nom de tanins catéchiques, proanthocyanidines ou proanthocyanidols, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols en dimères, oligomères et polymères hydroxylés en position 3s, non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé que les tanins hydrolysables (**Grasel et al., 2016**).

Ces tanins sont solubles dans l'eau, l'alcool et l'acétone, mais ne peuvent pas être dissous dans les solvants organiques apolaires. Les propriétés bioactives de ces plantes sont étudiées, en particulier dans le domaine de l'alimentation animale, ce qui offre des bénéfices tels qu'une amélioration de l'efficacité alimentaire, un contrôle du parasitisme gastro-intestinal et une modulation de la méthanogènes dans le rumen, ce qui contribue à améliorer la santé et la productivité des animaux d'élevage. (**Permal, 2017**).

Des recherches sur les tanins ont démontré que la consommation régulière d'infusions à base de tannins pourrait grandement diminuer les cas de cancer de l'estomac et du poumon, et ce, chez les personnes de tous les sexes (**Rajasekar et al, 2021**). On constate également que les tanins condensés, à une faible dose, ont une activité importante contre de nombreuses souches bactériennes. Il a été rapporté que les tannins inhiberaient la prolifération bactérienne de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, *Shigella dysenteriae* et *Salmonella senftenberg* (**Sieberi et al, 2020**).

## 5- Les Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles aromatiques dont la structure comporte le noyau benzo-a pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique, dotées d'odeurs qui se rapprochent de la vanilline largement employées en parfumerie. Présentes chez les Dicotylédones et abondantes dans certaines familles : Rutaceae, Fabaceae, Apiaceae, Oléaceae, Loganiaceae, Solanaceae. En fonction de la substitution effectuée dans le cycle benzopyrane, les coumarines présentent diverses activités biologiques, comme l'activité antifongique, antitumoral, antiplaquettaire, inhibiteur multienzymatique, antiviral, anti-inflammatoire, anticoagulant, diurétique, analgésique. (**Mahdjoub, 2020**).

## **6-Les Saponosides**

Les saponines ou saponosides, une classe de métabolites secondaires appartenant au groupe des hétérosides, caractérisées par une structure apolaire cyclique, appelée génine ou aglycone, sur laquelle s'articule une ou plusieurs chaînes osidiques.ils sont rencontrés fréquemment chez la majorité des plantes, particulièrement chez les angiospermes (**Petit, 2020**). Très moussantes et constituent d'excellents émulsifiants grâce a son pouvoir tensio-actif. La capacité de transformer les matières fermes en matières fluides est leur principale propriété (**Oullali, 2018**).

Les saponosides sont généralement des composés très polaires et souvent présents dans la plante sous forme de mélanges complexes. De plus, ils ont un large éventail de caractéristiques immunomodulatrices, cytotoxicité, et anti-tumorale (**Kissoum et Khalfaoui, 2015**). Selon plusieurs revues, ils existent dans les plantes sous forme biologiquement active et sont impliqués dans la phyto-protection antimicrobienne (**Mahenina, 2014**).

## **7-Les Quinones**

Les quinones sont des composés organiques constitués d'un noyau benzène substitué par deux groupements oxo en 1,2 ou 1,4 (ortho ou para-quinones) et le plus souvent par d'autres groupements cycliques ou aliphatiques (**Cassagnes, 2015**). Souvent rencontrés dans le système biologique et enzymatique. Ce sont des composés ubiquitaires naturels indispensables aux organismes vivants. Cependant leur métabolisation est considérée comme toxique en raison de leur réactivité (**Chhour, 2020**).

# **Partie II**

## **Partie expérimentale**

# **Matériels et Méthodes**

## I-Objectif du travail

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie du département de Biologie appliquée de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, de l'Université Larbi Tébessi –Tébessa- du mois de février 2024 jusqu'au 29 avril 2024. L'objectif de notre travail est d'évaluer le potentiel antibactérien d'une plante médicinale de la famille des Rutacées largement utilisée en médecine traditionnelle. Afin d'atteindre cet objectif, l'analyse s'est concentrée sur les étapes suivantes :

- Déterminer les métabolites secondaires présents dans la plante par un screening phytochimique.
- Déterminer le rendement de l'extrait hydroéthanolique.
- Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de la plante *Ruta graveolens* sur 4 souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* par diffusion sur milieu solide : Aromatogramme.
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'extrait hydroéthanolique vis-à-vis Les souches bactériennes testées.

## II- Matériel et méthodes

### 1-Matériels

#### 1.1- Matériel végétal utilisé

Notre travail est porté sur les parties aériennes (Feuilles et sommités fleuries) d'une espèce de plante aromatique et médicinale : *Ruta graveolens* (**Figure 02**).

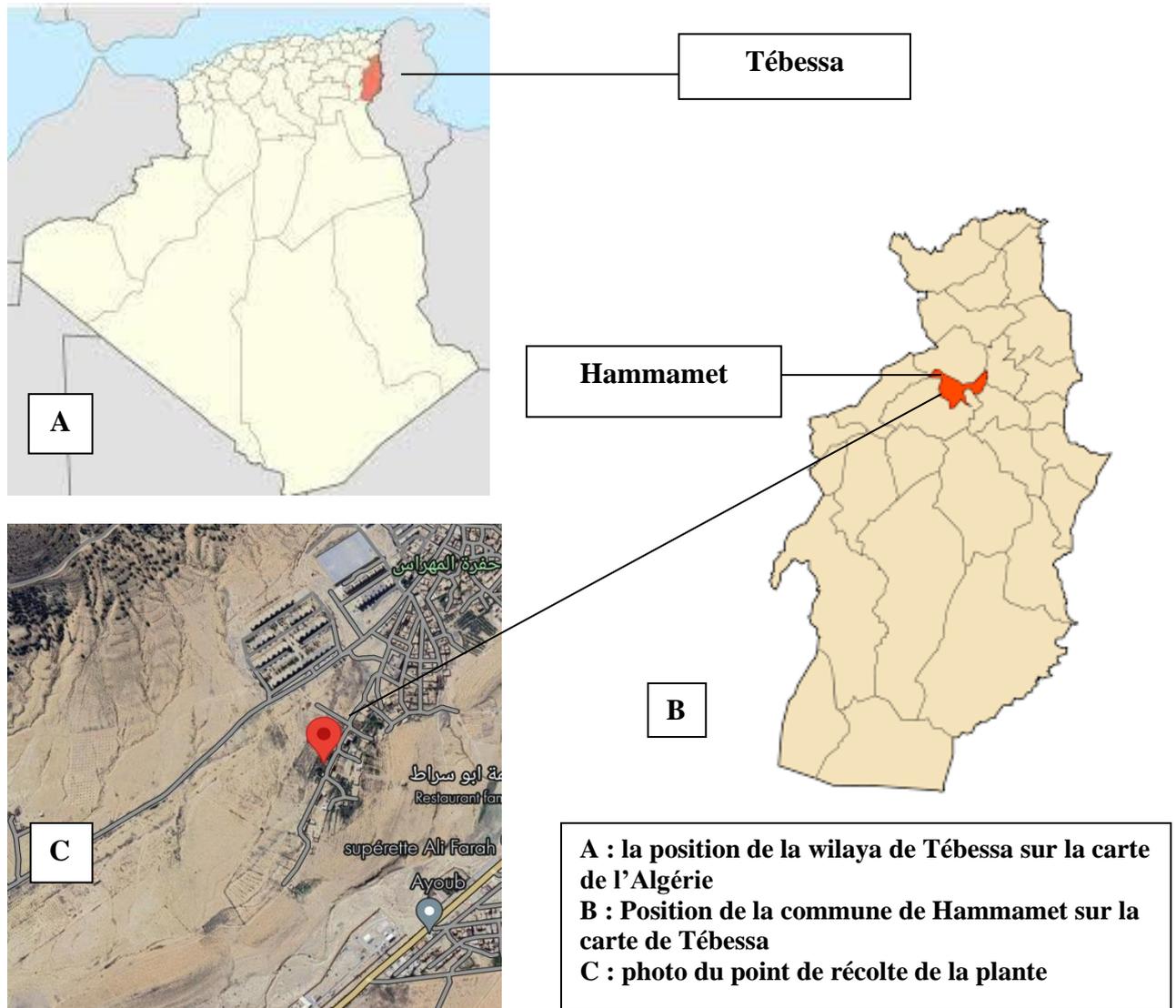


**Figure 02 : *Ruta graveolens* (photos personnelles, 2024)**

La plante a été récoltée le 05 février 2024 dans la région de Hammamet, la Wilaya de Tébessa. Les coordonnées géographiques de la zone de récolte sont représentées dans le (Tableau 03).

**Tableau 03 :** Les coordonnées géographiques de la zone de récolte de la plante

Nom scientifique de la plante	Région	Coordonnées géographiques	Date de la récolte
<i>Ruta graveolens</i>	Hammamet -Tébessa	35,4602035 7,9665437	05 février 2024



**Figure 03 :** Localisation du site de récolte de la plante *Ruta graveolens* (Google Maps, 2024)

**1.2- Les souches bactériennes testées**

Dans notre étude, nous avons utilisé des souches bactériennes fournies par l'American Type Culture Collection (ATCC) (**Tableau 04**).

**Tableau 04 :** Tableau descriptif des différentes souches bactériennes testées.

<b>La souche bactérienne</b>	<b>La famille</b>	<b>La forme</b>	<b>Gram</b>	<b>Références</b>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	bacille	négatif	ATCC 8739
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	bacille	négatif	ATCC 1311
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Coque	Positif	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	bacille	Positif	ATCC 6633

**1.3- Les milieux de culture utilisés**

Les milieux de culture utilisés dans notre étude sont représentés dans le (**Tableau 05**)

**Tableau 05 :** Tableau récapitulatif des milieux de culture utilisés

<b>Les milieux de cultures</b>	<b>Utilisation</b>
<b>Bouillon nutritif (BN)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Revivification et enrichissement des souches bactériennes testées</li><li>• Repiquage des colonies</li></ul>
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	
<b>Bouillon Muller Hinton (BMH)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode des dilutions</li></ul>

<b>Gélose Muller Hinton (MH)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens : aromatoگرامme</li></ul>
----------------------------------	---

## 2- Méthodes

### 2.1- Traitement de la plante étudiée

Le Matériel végétal est d'abord séché à température ambiante ne dépassant pas 40°C à l'abri de la lumière solaire, dans un endroit sec et bien aéré pendant 20 jours. Puis moulu dans un moulin électrique et tamisé jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine de couleur verte. Enfin conservé dans une boîte hermétique. (Figure 04).



**Figure 04** : les feuilles de *Ruta graveolens* avant et après mouture  
(Photos personnelles, 2024).

### 2.2- Extraction hydroéthanolique de la plante *Ruta graveolens*

#### 2.2.1- Préparation de l'extrait hydroéthanolique

L'extraction éthanolique est une technique couramment utilisée pour extraire les composés bioactifs des plantes médicinales. Elle consiste à utiliser l'éthanol comme solvant pour solubiliser et extraire les molécules actives présentes dans la plante. Des études ont montré que l'extraction avec de l'éthanol permet d'obtenir des extraits riches en composés phénoliques, présentant des activités biologiques intéressantes, notamment des propriétés antioxydantes et antibactériennes.

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Hamia et al., 2014)

- **La macération**

Macérer 70g de la poudre de la plante *Ruta graveolens* avec 500mL d'un mélange éthanol/eau distillée (80/20 v/v) dans un béccher enrobé de papier d'aluminium puis laisser agiter à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 40min (Figure 05).



**Figure 05 :** Macération de l'extrait hydroéthanolique de la plante *Ruta graveolens* (Photos personnelles, 2024).

- **Filtration**

Filtrer le macérat obtenu à l'aide d'un papier Wattman n°1. Reprendre le résidu de la macération précédente par 500 mL de la solution éthanol/eau distillée et laisser sous agitation pendant 24h. Répéter l'opération précédente de la filtration avec la deuxième macération (Figure 06).



**Figure 06 :** Filtration du macérat de la plante *Ruta graveolens* (Photo personnelle, 2024)

• Evaporation

Transférer les deux macérats de la plante *R.graveolens* dans un ballon à col rodé pour les évaporer à sec sous pression réduite, à l'aide d'un Rotavapor à une température de 44°C. Placer l'extrait hydroéthanolique obtenu dans une étuve de 40°C pendant 48h pour le sécher complètement. Peser et stocker l'extrait dans un réfrigérateur à une température de 4°C (Figures 07 et 08)



Figure 07 : Évaporation de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* (Photos personnelles, 2024).

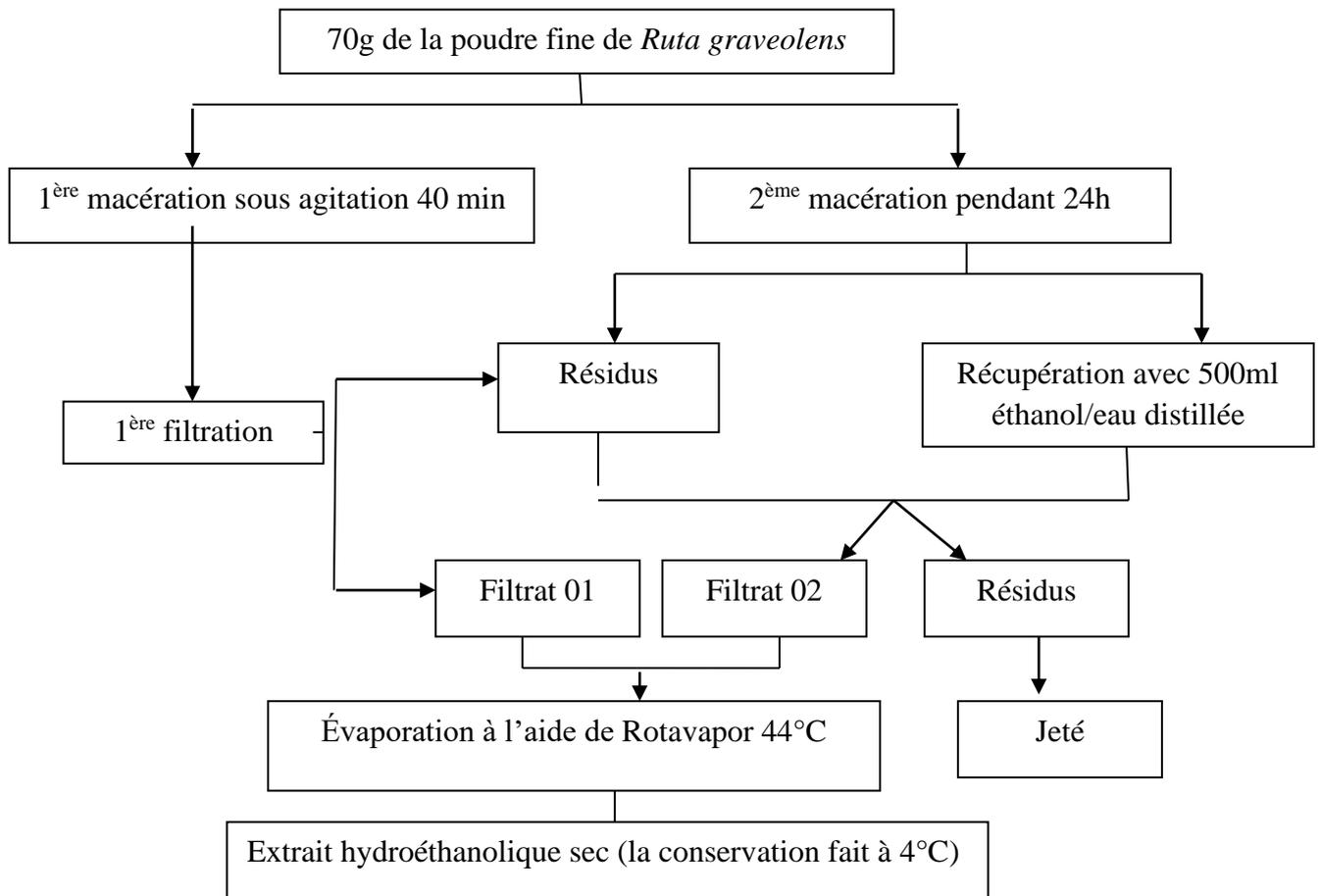


Figure 08 : Diagramme d'extraction hydroéthanolique de *Ruta graveolens*.

### **2.2.2-Détermination du rendement de l'extrait hydroéthanolique**

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Pour calculer le rendement, il faut connaître la masse de matière végétale sèche initiale et la masse d'extrait brut final, puis faire le rapport en pourcentage. Le rendement d'extraction hydroéthanolique est calculé suivant la formule ci-dessous (**Boucherit, 2014**)

$$\mathbf{R\% = Me / Mé \times 100}$$

**R%** : rendement en pourcentage.

**Me** : masse de l'extrait sec en gramme.

**Mé** : masse de l'échantillon en gramme.

## **2.3- Screening phytochimique**

### **2.3.1- La recherche des flavonoïdes**

Verser 50mL d'eau distillée bouillante sur 5g de la poudre préalablement préparée et laisser infuser pendant 30min. Après filtration, verser dans 3 tubes à essai 6mL d'infusé à raison de 2mL par tube. Ajouter dans chaque tube 1mL de NaOH, 1mL de HCl concentré, 1mL d'eau distillée et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur rose orangé indique la présence des flavonoïdes (**EL-Haoud et al., 2018**).

### **2.3.2- La recherche des Saponosides**

Étant donné qu'ils sont hydrosolubles, les saponosides sont extractibles par l'eau.

Pour la préparation d'un décocté de 2%, mélanger dans un Erleine Meyer 5g de la poudre du matériel végétal avec 50mL d'eau distillée et maintenir une ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, verser 5mL de filtrat dans un tube à essai, Ajouté 5mL de l'acide sulfurique dilué puis agiter dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. L'apparition d'une mousse de 1cm de hauteur,

persistante après 15 min indique la présence des saponosides (**Mecheri et al., 2023 ; EL-Haoud et al., 2018**)

### **2.3.3- La recherche des Tanins**

Verser 50 mL d'eau distillée bouillante sur 5g de la poudre du matériel végétal et laisser infuser pendant 30min, puis filtrer à l'aide d'un papier filtre.

- **Les Tanins galliques** : dans un tube à essai saturé en acetate de sodium, ajouter 2mL de filtrat et deux gouttes de Chlorure Ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1%. L'apparition d'un Précipité bleu-noir indique la présence des tanins galliques. (**Mecheri et al., 2023**)
- **Les Tanins catéchiques** : , ajouter 2mL de filtrat et deux gouttes de Chlorure Ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1%. L'observation d'une couleur vert bleuté indique la présence des tanins catéchiques.

### **2.3.4- La recherche des Quinones**

Humecter 5g de matériel végétal en poudre de quelques gouttes de HCl, puis ajouter 10mL d'éther de pétrole. Laisser poser 1h puis filtrer. Ajouter dans un tube à essai 2mL de filtrat et 2mL de NaOH à 10%. La présence de quinones est mise en évidence lorsque la phase aqueuse vire au rouge ou violet (**EL-Haoud et al, 2018**).

### **2.3.5- La recherche des Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des substances azotées agissant comme des bases donnant des réactions de précipitation : en solution acide (pH 1 et 2), l'interaction des sels d'alcaloïdes avec les composés iodés des métaux lourds donne des précipités colorés caractéristiques (**Mecheri et al, 2023**).

Mélanger 200mg de la poudre de *Ruta graveolens* avec 10mL d'acide sulfurique à 10%. Agiter le tout pendant 2min puis filtrer. Placer 2mL de filtrat dans 3 tubes à essai. Ajouter dans le premier 2mL de réactif de Mayer, dans le deuxième 0.5mL de réactif de Wagner et conserver le troisième comme témoin. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, révèle la présence d'alcaloïdes.

### 2.3.6- La recherche des Terpènes et stéroïdes

Macérer 5g de la poudre de *Ruta graveolens* dans 100 mL d'éther de pétrole pendant 24h, filtrer la solution puis l'évaporer au bain de sable à température (0 à 90 C). Placer dans un tube à essai le filtrat et ajouter 1mL de chloroforme et 1mL d'anhydride acétique. L'apparition de couleur pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique la présence des stéroïdes (EL-Haoud et al., 2018). Ajouter quelques gouttes de l'acide trichloracétique, la formation d'un anneau marron-rouge indique la présence des terpénoïdes (Khan, 2011).

### 2.4- Revivification microbologique et contrôle de pureté

#### 2.4.1- Revivification et repiquage des souches testées

Le processus de revivification en microbiologie implique le rajeunissement des souches microbiennes pour obtenir une culture jeune et pure. Afin de pouvoir utiliser les souches, prélever aseptiquement un échantillon des souches conservées à l'aide d'une anse de platine stérile. Inoculer dans des tubes à essai contenant du BN puis les incubent à 37°C pendant 24h. Repiquer les souches à partir des cultures contenues dans le bouillon nutritif sur le milieu GN et laisser incubent à 37°C pendant 24h (Figure 09).



**Figure 09:** Revivification et repiquage des souches testées (Photos personnelles, 2024).

#### 2.4.2- contrôle de pureté des souches

Après revivification et repiquage, on a effectué une coloration de Gram pour chacune des souches afin de confirmer leurs puretés. Etaler sur une lame une goutte d'eau physiologique et une colonie bactérienne. Sécher la lame sur la flamme du bec bunsen. Ajouter le violet de gentiane pour la coloration initiale, laisser 60sec puis rincer à l'eau distillée. Appliquer du lugol pour fixer la coloration, laisser agir 60sec puis rincer. Ajouter quelques gouttes d'alcool

pour décolorer les bactéries, laisser poser 10sec à 15s puis rincer. Pour la dernière étape de la coloration, ajouter la fuchsine pour la contre coloration. Laisser agir 60sec et rincer.

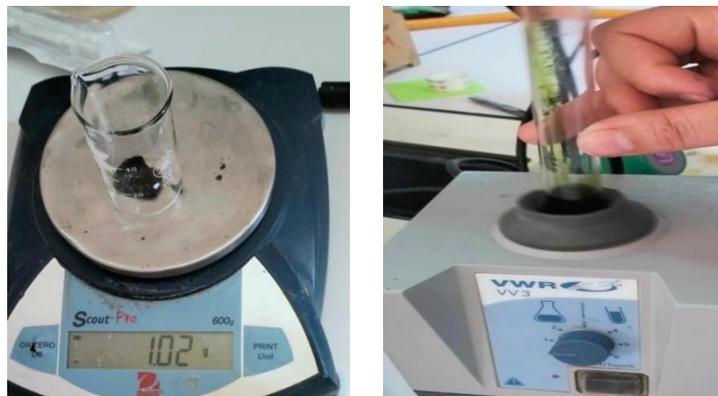
## **2.5- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens***

### **2.5.1- Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)**

Le potentiel antibactérien est mesuré en utilisant la technique de diffusion sur un milieu gélosé : l'Aromatogramme (Migheri et al., 2010). Il s'agit d'une gélose ensemencée d'une suspension bactérienne, puis de déposer des disques de papier Wattman n°1 avec l'extrait hydroéthanolique à tester. Après incubation, une zone d'inhibition de la croissance bactérienne, connue sous le nom d'halo d'inhibition, se forme autour des disques. L'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique est proportionnelle au diamètre du halo.

- **Préparation de la suspension mère**

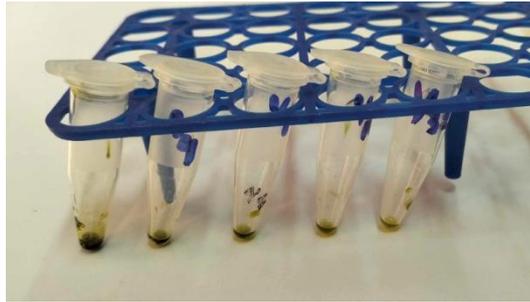
Mélanger 1g de l'extrait hydroéthanolique brut avec 1mL de Diméthylsulfoxyde (DMSO), transférer le mélange dans un tube à essai stérile pour une bonne homogénéisation à l'aide d'un vortex. (Figure 10).



**Figure 10** : Préparation de la suspension mère (Photos personnelles, 2024)

- **Préparation des dilutions**

Dans cinq tubes Eppendorf stériles, préparer à partir de la solution mère des dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32). Déposer dans tous les tubes 10µl de DMSO, ajouter dans le 1<sup>er</sup> tube 10µl d'extrait hydroéthanolique brut, ça correspond à la dilution 1/2. Prendre 10µl de cette dilution et la mettre dans le deuxième, et ainsi de suite (Figure 11).



**Figure 11:** Les dilutions de l'extrait préparées pour l'étude quantitative de l'activité antibactérienne (Photo personnelle, 2024)

- **Préparation de l'inoculum**

Il est nécessaire de réaliser une activité antibactérienne sur des souches bactériennes jeunes en plein phase de croissance. Les souches sont réactivées en utilisant la technique des stries sur gélose nutritive pré-coulée dans des boîtes de pétri, puis incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures.

Prélever quelques colonies bactériennes isolées à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur, les transférer dans un tube contenant environ 10mL de l'eau physiologique stérile. Homogénéiser la suspension bactérienne en agitant doucement le tube en ajustant la turbidité de la suspension à la concentration souhaitée, généralement 0,5 sur l'échelle de McFarland (Annexe) soit une densité optique égale à 0.08 à 0.10 à une longueur d'onde de 625 nm correspondant à 108 UFC /mL. (Fenghour et al, 2021).

- **Préparation des disques**

Découper du papier Wattman n°1 ou du papier buvard en disques de 6mm de diamètres. Les mettre dans une boîte hermétiquement fermée et autoclaver 15 à 20 min à une température de 121°C pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes (Figure 12).



**Figure 12 :** Préparation des disques pour l'Aromatogramme (Photo personnelle, 2024).

- **Inoculation**

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Mueller Hinton(MH) en surfusion dans des boîtes de pétri à raison de 20 mL par boîte. Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.

Tremper l'écouvillon dans la suspension bactérienne des souches testées : *E.coli*, *S.aureus*, *K.pneuloniae*, *B.subtilis* , l'essorer sur les parois du tube puis frotter la gélose en stries serrés en tournant la boîte au fur a mesure de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, afin de couvrir toute la surface. Laisser sécher pendant environ 15min (**Figure 13**).



**Figure 13** : Inoculation des souches bactériennes dans le milieu MH  
(Photos personnelles, 2024).

### 2.5.1.1- Test préliminaire

A l'aide d'une pince stérile, déposer sur les boîtes de pétri déjà ensemencées avec les souches à tester en appuyant légèrement trois disques stériles. Imbiber le premier disque par 10 $\mu$ l de la solution mère de l'extrait hydroéthanolique préalablement préparée, le deuxième par 10 $\mu$ l de DMSO et conservé le troisième vide comme témoin. Incuber à une température de 37°C pendant 24h.

### 2.5.1.2- Etude quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *R.graveolens* aux différentes dilutions

Déposer dans les boîtes de Pétri ensemencées avec les souches testées 7 disques de papier Wattman, imprégner le premier par 10 $\mu$ l de DMSO, le deuxième par 10 $\mu$ l de l'extrait hydroéthanolique brut et les cinq disques restants avec 10 $\mu$ l de chaque dilution. Laisser les boîtes incuber dans une étuve à 37°C pendant 24h (**figure 14**).



**Figure 14** : Dépôt et imprégnation des disques (Photos personnelles, 2024).

**2.5.1.3- Lecture des résultats**

Après incubation des boîtes, utiliser un pied à coulisse pour mesurer les diamètres des halos d’inhibitions qui ce sont formés autours des disques où la croissance bactérienne est empêchée. Ces diamètres en millimètres sont proportionnels à la sensibilité des germes étudiés.

La sensibilité des bactéries envers les différents composés est classée selon les diamètres des halos d’inhibition mentionnée dans le (tableau06).

**Tableau 06** : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d’inhibition (Mouas et al, 2017)

Diamètre	Degré de sensibilité des germes	Symbole
<b>X &lt; 8 mm</b>	Non sensible ou résistante	-
<b>8 mm &lt; X &lt; 14 mm</b>	Sensible	+
<b>14 mm &lt; X &lt; 20 mm</b>	Très sensible	++
<b>X &gt; 20 mm</b>	Extrêmement sensible	+++

**2.5.2- Détermination de la CMI de l’extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* par la méthode de la microplaque**

Nous avons opté le protocole de **Yapo et al, 2020** avec quelques modifications.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration (exprimée en microgrammes /mL) empêchant la croissance visible des souches testées (**Hacini et al, 2017**). La détermination des CMI vis-à-vis les souches bactériennes est réalisées par la technique de micro-dilution en milieu liquide à l’aide de microplaque à 96 puits. Préparer la solution mère en mélangeant 1 g de l’extrait hydroéthanolique brut avec

100 mL de DMSO. Verser dans tous les puits de la microplaque 100µl de BMH. Ajouter dans le premier puits des premières quatre lignes 100µl de la solution mère préalablement préparée. Prélever 100µl du 1<sup>er</sup> puits et le diluer dans le puits suivant, et ainsi de suite pour l'obtention d'une gamme de dilutions 1/2. Ajouter 10 µL de la suspension bactérienne ajustée à 0.5 Mac Farland dans chaque puits. Chaque ligne est réservée pour une seule souche bactérienne, la 5<sup>ème</sup> ligne est réservée pour le contrôle positif contenant BMH et l'inoculum, et la 6<sup>ème</sup> pour le contrôle négatif (Extrait et BMH). Incuber la microplaque 24h à 37°C.

### **2.5.3- Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB**

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. Prélever les contenus des puits qui ne présentent aucun trouble visible et les ensemercer en stries sur gélose MH. Incuber pendant 24h à 37°C (Yapo et al, 2020).

Les stries avec aucune croissance microbienne représentent la CMB. En se référant au rapport CMB/CMI, l'effet antimicrobien peut être jugé comme suit :

- Rapport CMB/CMI <4 : effet bactéricide.
- Rapport CMB/CMI >4 : effet bactériostatique

# **Résultats et discussion**

### 1- Détermination du rendement de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*

Les valeurs du rendement obtenu sont représentées dans le (Tableau 07).

**Tableau 07** : Valeurs du rendement de l'extraction hydroéthanolique de *R. graveolens*

Poids de la poudre en gramme (g)	Poids de l'EHE sec en gramme (g)	Rendement de l'extrait hydroéthanolique (%)	Couleur de l'extrait
70	11.95	17.07	Vert foncé

L'extrait hydroéthanolique obtenu des feuilles et sommités fleuries de *Ruta graveolens* a donné un rendement de 17,07%. Ce résultat est supérieur à celui de (Derbal et al, 2023) avec un rendement de 16,36% et celui de la région de Bejaia avec un rendement 13.35% par (Khima et Kichou, 2022). Largement supérieur a celui rapporté de la région de Morsott par (Basset et Boumaagouda, 2020) qui ont trouvé un rendement de 7.37%.

Plusieurs travaux révèlent que la diversification de rendement entre les extraits peut être influencée par plusieurs paramètres. Il s'agit notamment de l'origine géographique de la plante, des conditions environnementales (climat, sol, etc.), du stade de récolte et de la méthode d'extraction utilisée (Teklit, 2015).

### 2- le screening phytochimique

Le screening phytochimique de la plante *Ruta graveolens* nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 08** : Résultats du screening phytochimique de *Ruta graveolens*

Les métabolites secondaires	Présence/absence dans la plante	Couleurs ou autres indicateurs de présence /absence	Résultats	
Les Flavonoïdes	+	Couleur Jaune rougeâtre		
Les saponosides	+	Mousse persistante		
Les Alcaloïdes	-	Absence de précipité blanc ou brun		
Les Quinones	-	Absence de couleur violet		
Les Terpènes et Stéroïdes	+	couleur pourpre virant au bleu		
Les Tanins	Galliques	-	Absence de précipité bleu-noir	
	Catéchiqes	+	Présence de couleur bleu vert	

+ : présence      - : absence

D'après les résultats obtenus du criblage phytochimique, nous avons constaté la présence des Flavonoïdes, Saponosides, Tanins catéchiques, Terpènes et Stéroïdes et l'absence des Quinones, des Alcaloïdes et des Tanins Galliques.

*Ruta graveolens* contient les flavonoïdes en forte quantité, ce résultat d'analyse phytochimique s'accorde avec ceux obtenus (**Boudaba et Benabbes, 2022 ; Tarique et al., 2016 ; Gouami et Nebili, 2020**). Contrairement à (**Teklit et al., 2015**), qui a marqué une absence totale des flavonoïdes dans la même espèce de plante.

On a marqué une absence totale des Alcaloïdes chez *Ruta graveolens*. Tandis que (**Boudaba et Benabbes, 2022 ; Tarique et al., 2016 ; Gouami et Nebili, 2020**) les ont trouvé avec une forte teneur.

*Ruta graveolens* contient des saponosides, ce résultat ne s'accorde pas avec celui de la région de Ain Zerga par (**Gouami et Nebili, 2020**) qui n'ont pas marqué leur présence.

On a constaté la présence des Tanins Catéchiques, ce résultat est similaire avec celui de (**Boudaba et Benabbes, 2022**) et (**Gouami et Nebili, 2020**). Contrairement au résultat de (**Teklit et al., 2015**), qui n'a pas montré leur présence.

On a marqué la présence des Terpènes et des Stéroïdes chez *Ruta graveolens*, nos résultats s'accordent avec ceux de (**Boudaba et Benabbes, 2022 ; Tarique et al., 2016 ; Gouami et Nebili, 2020**) et se diffèrent de ceux de (**Teklit et al., 2015**).

On a obtenu des résultats négatifs pour les Quinones et les Tanins Galliques. Nos résultats sont concordants avec ceux de (**Teklit et al., 2015 ; Boudaba et Benabbes, 2022 ; Gouami et Nebili, 2020**).

### 3- Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*

#### 3.1- Contrôle de pureté des souches

Les résultats de la vérification de la pureté des souches bactériennes sont présentés dans le (**Tableau 09**).

Tableau 09: Contrôle de pureté des souches bactériennes testées

(Photos personnelles, 2024)

Souches bactériennes testées	Aspect microscopique après coloration de Gram
<i>Escherichia coli</i> (Gram-)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Gram-)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	
<i>Bacillus subtilis</i> (Gram+)	

### 3.2- Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*.

Deux souches à Gram + et deux souches à Gram – ont été utilisées pour étudier le potentiel antibactérien de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique pure et dilué de *Ruta graveolens* sont représentés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 10:** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique pure et dilué de *Ruta graveolens*

Souches bactérienne testées		Diamètres des zones d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i>												Témoin négatif
		Extrait hydroéthanolique pure		Extrait hydroéthanolique dilué										DMSO
				10µl		5µl		2.5µl		1.25µl		0.625µl		
G+	<i>Staphylococcus aureus</i>	13,77±0,87	+	9,36±0.35	+	8,07±0.50	+	6,56±0,72	-	6,43±0,81	-	0	-	0
	<i>Bacillus subtilis</i>	16.16±0.14	++	9,75±0,30	+	8,01±0,22	+	7,37±0,88	-	6,42±0,46	-	6,18±0,21	-	0
G-	<i>Escherichia coli</i>	14.86±0.77	++	9,49±0.66	+	7.42±0,11	-	6.34±0.42	-	0	-	0	-	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0

(-) : Résistante.      (+) : Sensible.      (++) : Très sensible.      (+++) : Extrêmement sensible

D'après les résultats obtenus dans le tableau 10, la variabilité des diamètres des zones d'inhibitions exprimées par l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* vis-à-vis des souches testées indique qu'elles réagissent différemment avec l'extrait testé.

Nos résultats du test préliminaire ont montré que l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* était efficace pour inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*, Cependant, *Klebsiella pneumoniae* semble lui être résistante.

La plus grande zone d'inhibition est celle de *B.subtilis*, suivie d'*E.coli*, puis celle de *S.aureus* avec des diamètres de  $16.16\pm 0.14$  mm,  $14.86\pm 0.77$  mm,  $13,77\pm 0,87$  mm. Quant à *k. pneumoniae* aucune zone d'inhibition n'a été observée.

Les résultats de l'étude du potentiel antibactérien par différentes dilutions que nous avons obtenu, ont montré que l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* a un effet plus ou moins important sur les 03 souches.

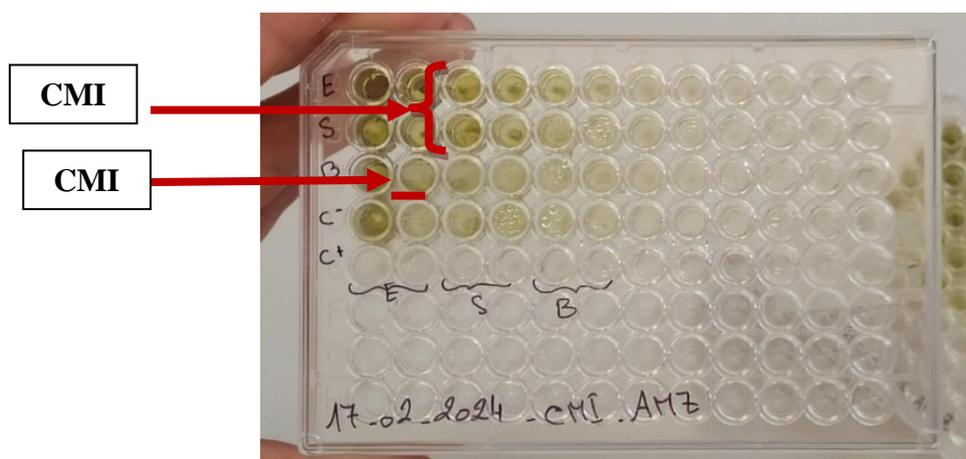
La zone d'inhibition la plus élevée de *B.subtilis*, *S.aureus* et *E.coli* mesuraient respectivement  $9,75\pm 0,30$  et  $9,36\pm 0.35$ ,  $9,49\pm 0.66$  à  $10\mu\text{l/m}$ . les souches bactériennes *B.subtilis* et *S.aureus* ont montré une résistance à partir de  $2.5\mu\text{l}$ . tandis qu'*E.coli* s'est montrée résistante à  $5\mu\text{l}$  avec un diamètre de  $7.42\pm 0,11$ . On constate que l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* a plus d'efficacité sur les Gram (+) que sur les Gram(-).

La résistance aux agents antimicrobiens est généralement plus élevée chez les bactéries Gram-négatives que chez les Gram-positives. En effet, la membrane externe des bactéries Gram-négatives est spécialement constituée de phospholipides et de lipopolysaccharides (LPS). L'importance de cette structure réside dans sa capacité à protéger les bactéries contre les agents antibactériens (Colucci et Cimaglia., 2020).

Nos résultats ne concordent pas avec ceux de (Derbal et al., 2023) qui ont montré une grande efficacité de l'extrait hydroéthanolique de la même plante sur les différentes souches. Proches de ceux de (Saeed et al., 2023) et compatibles avec ceux de (Najim et al., 2022) montrant que l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* n'a pas d'effet inhibiteur sur *E.coli* .Selon (Helal et al., 2019), l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* montre un manque d'activité antibactérienne contre *E.coli*, ce qui confirme nos résultats.

### 3.3. Détermination de la CMI et la CMB de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*

Après 24 heures d'incubation de la microplaque, nous avons observé un aspect claire, limpide dans certains puits, et trouble indiquant une croissance bactérienne dans d'autres puits (**figure 15**)



**Figure 15 :** Distribution expérimentale de la microplaque pour les cinq souches testées pour la détermination de la CMI (**Photo personnelle, 2024**).

**E :** *Escherichia coli* ; **S :** *Staphylococcus aureus* ; **B :** *Bacillus subtilis*

**C (-) :** Control négatif ; **C (+) :** control positif

Les résultats des CMI et CMB des cinq souches bactériennes sont présentés dans le (**Tableau 11**).

**Tableau 11 :** Rapport de la CMB/CMI des trois souches testées

Souches bactériennes	Extrait hydroéthanolique de <i>Ruta graveolens</i> (mg/mL)		Rapport CMB/CMI	Activité antibactérienne
	CMI	CMB		
<i>S.aureus</i>	25	25	1	Bactéricide
<i>B.subtilis</i>	50	50	1	Bactéricide
<i>E.coli</i>	25	25	1	Bactéricide

La CMI de *S.aureus* et *E.coli* est égale à 25mg/mL. Nos résultats sont supérieurs à ceux de (Ncibi et al., 2023) qui a noté des valeurs de CMI 1.55mg/mL et 6.25 mg/mL . La CMI de *B.subtilis* est égale à 50mg/mL. La différence des résultats pourrait être attribuée au type d'extrait. (Ncibi et al.,2023) a utilisé un extrait hydrométhanolique.

Différents éléments ont un impact sur la détermination de l'activité antimicrobienne (Tagnaout et al., 2016). Il est important de souligner que l'activité antimicrobienne de l'extrait est plus importante lorsque la concentration minimale inhibitrice est faible (Famuyide et al., 2019).. Si le rapport CMB/CMI est inférieur à 4, l'effet est qualifié de bactéricide, tandis qu'il est considéré comme bactériostatique si ce rapport est supérieur à 4 (Yapo et al., 2020).. D'après nos résultats, un effet bactéricide a été observé avec l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* sur les souches bactériennes testées.

# **Conclusion et Perspectives**

Les plantes médicinales constituent une source de molécules actives fiable et prédominante. Elles sont souvent utilisées dans le domaine médical en raison de leurs propriétés thérapeutiques. Cette recherche vise à contribuer à la caractérisation phytochimique et à évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne sur différentes espèces bactériennes.

Le rendement de l'extraction hydroéthanolique de *Ruta graveolens* a été estimé de 17.07%. Cette valeur est plus ou moins importante par rapport aux rendements obtenus chez d'autres études sur la même plante.

Un criblage phytochimique basé sur des réactions de caractérisation physico-chimique a été réalisé afin d'identifier les métabolites secondaires existants chez la plante étudiée. Les tests phytochimiques ont révélé la présence de flavonoïdes, saponosides, tanins catéchiques, les terpènes et les stéroïdes et l'absence des quinones, des alcaloïdes et des tanins galliques dans la partie aérienne de *Ruta graveolens*. Il est connu que ces composants possèdent différentes propriétés biologiques qui peuvent servir de remèdes en médecine traditionnelle.

L'ensemble des résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de l'Aromatogramme indiquent que l'extrait hydroéthanolique pure de *Ruta graveolens* a une activité inhibitrice plus importante sur les bactéries à Gram (+) qui ont montré une sensibilité plus ou moins importante avec des DI  $13,77 \pm 0,87$  mm et  $16,16 \pm 0,14$  mm que sur les bactéries à Gram (-).

La méthode de la microplaque a permis de déterminer les CMI. En effet les valeurs de CMI et CMB sont identique pour les 2 souches bactériennes *S. aureus*, *E.coli* avec une valeur de 25mg /mL. La valeur de CMI et CMB pour *B.subtilis* est égal 25mg/mL. Le rapport CMB/CMI est inférieur à 4 pour les 03 souches indique un effet bactéricide de la plante.

Notre étude ne représente qu'une première étape dans la recherche d'un remède naturel qui possède des propriétés antibactériennes. Les résultats que nous avons pu obtenir peuvent être utilisés dans divers domaines liés au traitement des infections bactériennes.

En perspective, il serait important d'approfondir les recherches sur une large gamme des souches microbiennes et d'identifier les constituants actifs responsables de ces activités antibactériennes et antifongiques. Egalement, il serait souhaitable de compléter le screening

phytochimique par une HPLC ou CPG afin de déterminer précisément les concentrations des métabolites secondaires de la plante étudiée

Il est aussi intéressant d'analyser le potentiel antioxydant afin d'approfondir l'utilisation de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* dans le domaine de l'alimentation en tant que conservateur et dans le domaine pharmaceutique en tant que remède naturel contre les infections microbiennes.

## **Références bibliographiques**

A

**Akbar, Shahid. (2020).** Handbook of 200 Medicinal Plants: A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications. 10.1007/978-3-030-16807-0.

**Alyami, Mohammad & Hamdan, Dalia & Khalil, Ass. Prof. Heba & Orabi, Mohamed & Aborehab, Nora & Osama, Nada & Abdelhafez, Mai & Al-Mahallawi, Abdulaziz & Alyami, Hamad. (2024).** Preparation and in vivo evaluation of nano sized cubosomal dispersion loaded with Ruta graveolens extracts as a novel approach to reduce asthma-mediated lung inflammation. Saudi Pharmaceutical Journal. 32. 101968. 10.1016/j.jsps.2024.101968.

**Appelhans, Marc & Bayly, Michael & Heslewood, Margaret & Groppo, Milton & Verboom, George & Forster, Paul & Kallunki, Jacquelyn & Duretto, Marco. (2021).** A new subfamily classification of the Citrus family (Rutaceae) based on six nuclear and plastid markers. TAXON. 70. 10.1002/tax.12543.

**AREF, Mahdia & HEDED, Mounira & Atef, Chouikh. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale Cleome arabica L (Région d'Oued Souf). En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique. Université Hamma Lakhdar. El Oued.

**Asgarpanah, Jinous & R, Khoshkam. (2012).** Phytochemistry and pharmacological properties of Ruta graveolens L. Journal of Medicinal Plants Research. 6. 10.5897/JMPR12.040.

**Audrina Permal.** Validation d'une méthode de dosage des tanins condensés dans les matières végétales. [Stage] 2017. fahal-02785070f.

B

**Barbosa, Flávia & Leite, Germano & Alves, Sérgio & Nascimento, Aline & D&apos, Vinícius & Ávila, & Costa, Candido. (2011).** Insecticide effects of Ruta graveolens, Copaifera langsdorffii and Chenopodium ambrosioides against pests and natural enemies in commercial tomato plantation = Ação inseticida de Ruta graveolens, Copaifera langsdorffii e Chenopodium ambrosioides sobre pragas de tomate. Acta Scientiarum : Agronomy. 33.

---

**BASSET CHAHINASE, BOUMAAGOUDA RAOUDHA (2020).** Activité biologique des extraits hydroéthanoliques combinés de *Origanum vulgare* et *Ruta graveolens* sur un ravageur secondaire des denrées stockées, *Tribolium confusum*. En vue d'obtention du diplôme de Master II En Biologie, université de tebessa

**Bastien Petit (2020).** Valorisation des produits naturels glycosylés pour la santé et l'environnement : du diagnostic de maladies auto-immunes à la protection des cultures. Médecine humaine et pathologie. Université Bourgogne Franche-Comté. Français. ffNNT : 2020UBFCE009ff. fftel-03252466

**Belaid Ahlm et Bellil Hafida Nawel, (2017).** Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des polyphénols de la rue fétide *Ruta graveolens*. Pour l'obtention du diplôme de Master II En Biologie, université de Mostaganem

**Boubekri C (2014).** Etude de l'activité antioxydant des polyphénols extraits de *Solanum melongena*. Université Mohamed Khider – Biskra

**Boudaba Djihen & Benabbes Nouha (2022).** Extraction des métabolites secondaires d'une plante de la Famille Rutaceae. En vue de l'obtention du diplôme de Master en chimie. Université de Jijel

**Boudjourf, M., Mihoub, Z. M., & Sétif, U. F. A. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister, Université Ferhat Abbas-Setif.

### C

**Casciaro, Bruno & Mangiardi, Laura & Cappiello, Floriana & Romeo, Isabella & Loffredo, Maria & Iazzetti, Antonia & Calcaterra, Andrea & Goggiamani, Antonella & Ghirga, Francesca & Mangoni, Maria & Botta, Bruno & Quaglio, Deborah. (2020).** Naturally-Occurring Alkaloids of Plant Origin as Potential Antimicrobials against Antibiotic-Resistant Infections. *Molecules*. 25. 3619. 10.3390/molecules25163619.

**Cassagnes, Laure-Estelle & Rakotoarivelo, Nambinina & Sirigu, Serena & Perio, Pierre & Najahi, Ennaji & Chavas, Leonard & Thompson, Andrew & Gayon, Regis & Ferry, Gilles & Boutin, Jean & Valentin, Alexis & Reybier, Karine & Nepveu, Françoise. (2017).** Role of Quinone Reductase 2 in the Antimalarial Properties of Indolone-Type Derivatives. *Molecules*. 2017. 10.3390/molecules22020210..

---

**Colucci-D'Amato L, Cimaglia G. (2020).** Ruta graveolens as a potential source of neuroactive compounds to promote and restore neural functions. *J Tradit Compl Med* 10 (3): 309-314. DOI: 10.1016/j.jtcme.2020.05.002

**E**

**E., Coste & Fons, Françoise & Rapior, Sylvie & J., Jaumel. (2015).** Trente-sept plantes chinoises (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae). Caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique / Thirty-seven Chinese herbs (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae). Botanical characteristics, pharmacological investigation and therapeutical properties. En vue d'obtenir Le Diplôme de Docteur en Pharmacie. Université de Montpellier .

**EL-Haoud, Hamid & Boufellous, Moncef & Berrani, Assia & HindTazougart, & Bengueddour, Rachid. (2018).** SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: Mentha Spicata L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. ISSN 2429-5396

**Elise Emeraux (2019).** Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante. *Sciences pharmaceutiques.. fhal-03297878*.

**F**

**Faisal, Mohammad & Ahmad, Naseem & Anis, Mellas. (2005).** In Vitro Regeneration and Mass Propagation of Ruta graveolens L. A Multipurpose Shrub. *Horticultural Science (HORTSCI)*. 40. 187–190. 10.21273/HORTSCI.40.5.1478.

**Fenghour, H., Bouabida, H., Dris, D., & Houhamdi, M. (2021).** Antibacterial effect of essential oils of two plants *Eucalyptus camaldulensis* and *Artemisia herba alba* on some bacterial strains. *Biosystems Diversity*, 29(2), 73-77

**G**

**Ganfon, H., Houvohehou, J. P., Assanhou, A. G., Bankole, H. S., & Gbenou, J. (2019).** Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique et des fractions de *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. Et Perr.(Combretaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 643-651.

---

**Ghedira (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapie*. 3. 162-169. 10.1007/s10298-005-0096-8.

**Grasel, Fábio & Ferrao, Marco & Wolf, Carlos. (2015).** Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*. 153. 94-101. 10.1016/j.saa.2015.08.020.

### H

**Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi M (2014).** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. *Annales des Sciences et Technologie*, (2014), vol 47, p : 33-38

**Hammiche, Victoria & Merad, Rachida & Azzouz, Mohamed. (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. 10.1007/978-2-8178-0375-3.

**Hussain, Malik Aabid & Nathar, Varsha & Mushtaq, Roohi. (2022).** In vitro plant regeneration and metabolite profiling of an aromatic medicinal plant *Ruta graveolens* L. by using GC-MS. *Current Botany*. 26-33. 10.25081/cb.2022.v13.6856.

**Julie Anthoni (2007).** Synthèse enzymatique, modélisation moléculaire et caractérisation d'oligomères de flavonoïdes. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine. Français. ffNNT : 2007INPL097Nff. fftel-01752858

### K

**KHIMA Sarah, KICHOU Leticia, (2022).** Encapsulation d'extraits de quatre plantes médicinales et détermination de leurs activités antioxydants seuls et en association. . Pour l'obtention du diplôme de Master II Biochimie fondamentale université de Bejaia.

### L

**Ligor, Magdalena & Kielbasa, Anna & Ratiu, Ileana & Buszewski, Bogusław. (2021).** Separation and Quantification of Selected Sapogenins Extracted from Nettle, White Dead-

---

Nettle, Common Soapwort and Washnut. *Molecules*. 26. 7705. 10.3390/molecules26247705.

**M**

**MAHDJOUR WAHIBA HADJ KOUIDER HASSINA (2020)**. L'étude phytochimique Qualitative des Extraits de Quelques variétés de datte Locales (Sebseb). En vue de l'obtention du diplôme de Master II. Université de Ghardaïa.

**Mahenina Jaovita Manase (2013)**. Etude chimique et biologique de saponines isolées de trois espèces malgaches appartenant aux familles des Caryophyllaceae, Pittosporaceae et Solanaceae. Biologie végétale. Université de Bourgogne. Français. ffNNT : 2013DIJOPE01ff. fftel-01015619f.

**Manso, Giovanna & Ribeiro, Matheus & Silva, Pedro & Prado, Renata. (2021)**. Avaliação da capacidade inibitória de ruta graveolens sobre candida albicans / Evaluation of the inhibitory capacity of ruta graveolens on candida albicans. *Brazilian Journal of Development*. 7. 101912-101919. 10.34117/bjdv7n11-015.

**Mokhtar, Meriem & Fatma, Youcefi & Keddari, Soumia & Saimi, Yahia & Elhao, Siham & Cacciola, Francesco. (2022)**. Phenolic content and in vitro antioxidant and anti-inflammatory evaluation of Algerian Ruta graveolens L. *Chemistry & Biodiversity*. 19. 10.1002/cbdv.202200545.

**Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017)** .Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique Romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.

**Moufida Rira (2019)**. Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. *Agronomie*. Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2019. Français. ffNNT : CLFAC065ff. fftel-02861917f.

**N**

**Nafis, Ahmed & Ayoub, Kasrati & Chaima, Alaoui & Custódio, Luísa & Vitalini, Sara & Iriti, Marcello & Hassani, Lahcen. (2020)**. A Comparative Study of the in Vitro Antimicrobial and Synergistic Effect of Essential Oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with Antimicrobial Drugs: New Approach for Health Promoting Products. *Antibiotics*. 9. 10.3390/antibiotics9040140.

---

**Nahar, Prof & El-Seedi, Hesham & Khalifa, Shaden & Mohammadhosseini, Majid & Sarker, Satyajit. (2021).** Ruta Essential Oils: Composition and Bioactivities. 10.3390/molecules26164766.

### O

**OULLAI Lynda CHAMEK Cylia(2018)** Contribution à l'étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales utilisées pour le traitement des affections de l'appareil digestif en Kabylie. En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie. Université Mouloud Mammeri.

### P

**Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., Stefan, G. (2017).** Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16 (6): 1243-1268

**Prof, Ass & Jabir, Najim & Abdul, Bassam & Hasan, Hussein & Safee, Al & Taher, Ali & Alsafee, Bassam. (2021).** Ruta Graveolens (Hurb Of Grace)- Anti Bacterial Effects,A Characterization Study. Université de Thi-Qar. 350406616

### R

**R., Kannan & Babu, U. (2012).** Identity and pharmacognosy of Ruta graveolens Linn. *Ancient science of life*. 32. 16-9. 10.4103/0257-7941.113792.

**Rajasekar, N., Sivanantham, A., Ravikumar, V., & Rajasekaran, S. (2021).** An overview on the role of plant-derived tannins for the treatment of lung cancer. *Phytochemistry*, 188, 112799.

**Rim Mecheri, Dalila Smati, Abdelatif Boutefnouchet, Michel Daudon (2023).** Contribution à l'étude phytochimique des extraits d'une plante médicinale (Zilla Spinosa L.).. fahal-03954063

**Romero, Carolina & Zambrana, Narel & Bussmann, Rainer. (2020).** Ethnobotany of Mountain Regions – Andes – Colombia and Ecuador. 10.1007/978-3-319-77093-2\_3-1.

### S

---

**SAEED, YOUNIS & ALI, JASSIM & Arafat, Mohamed. (2023).** Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of *Ruta graveolens* (Rutaceae). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 24. 10.13057/biodiv/d240609

**Shamal Badhusha , Rupesh Kumar, Angitha Ajay, Blainy Baby, Abhishek, Sanjay K Gowda, B Ramesh.2020.** Traditional uses, Phytochemistry and Ethanopharmacology of *Ruta graveolens* Linn: A review. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*. Vol: 8, Issue: 3, 1-4. ISSN: 2348:8948

**T**

**Tarique, Mohd & Siddiqui, Hefazat & Khushtar, Mohammad & Rahman, Md. (2016).** Protective effect of hydro-alcoholic extract of *Ruta graveolens* Linn. leaves on indomethacin and pylorus ligation-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 7. 10.1016/j.jaim.2015.09.002.

**V**

**Viana Valle, Ana Catarina & Carvalho, Aloisio & Brunel, Hilana & de Oliveira Rodrigues, Maria Tereza & Andrade, Rosângela. (2022).** In vitro antitumor activity in breast cancer cells (SKBR3 and PMC42) of *Ruta graveolens* in homeopathic dilution. *Journal of Integrated Standardized Homoeopathy*. 5. 10.25259/JISH\_31\_2022.

**Y**

**Yapo, Yomeh Cynthia Viviane & Kipre, Bertin & Bi, Tra & Irié, Otis & Zirihi, Guédé & Kouadio, Guessennd. (2020).** Activité antibactérienne de l'extrait total aqueux (ETA) de feuilles de *Mallotus oppositifolius* (GEISEL.) MÜLL.-ARG (Euphorbiaceae) sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la Mécicilline (SARM) et criblage. 23. 38-48.

**Z**

**Zahia, Boucherit. (2014).** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *phytothérapie*. Springer-Verlag France 2014 DOI 10.1007/s10298-014-0834-x.

---

# **Annexes**

**Annexe 01 : Matériel de laboratoire et les produits utilisés.**

Le matériel utilisé pour notre étude est représenté dans le tableau suivant

**Tableau 01 : Matériel de laboratoire et les produits et réactifs utilisés**

<b>Appareillage</b>	<b>Petits matériels</b>	<b>Produits et réactifs</b>	<b>Solvants</b>	<b>Verreries</b>
-Balance électronique (Scout pro 600g) -Appareil Rota vapeur de type Büchi-R210 -Réfrigérateur -Etuve (memmert...) Spectrophotomètre (UniLine 9300) -Agitateur Magnétique (LabTa) -Bain marie -Microscope optique (OPTIKA) -Vortex (VWR) -Autoclave - Bain de sable (WITEG CAT 7813 staufen)	-Papier filtre -Papier d'aluminium -Bande gaz -Micropipette (5µl-50µl) -Anse de platine -Bec bunsen -Disque de papier Whatmann°1 de 6mm de diamètre -Pince -Ecouillons stériles -Fond noire -Pied a coulisse -Barreaux magnétique -Spatule -Portoir -Embouts (jaune) -Tube Eppendorf -Cuve -pipettes en verre -Papier absorbant	-Violet de Gentiane -Lugol -Alcool -Fushine -BaCl2 -Acide sulfurique (H2SO4) - Diméthylsulfoxyde (DMSO) -Hydroxyde de Sodium NaOH -Acide Chlorohydrique (HCL) -Acide acétique -Trichlorure de fer (FeCl3) -Acide Trichloracétique (TCA) -Réactif de Mayer -Réactif de Wagner -coupeaux de Magnésium -d'anhydride acétique -Acétate de sodium	-Éthanol -L'eau distillée stérile -Ether de petrol (EP) -Chloroforme	-Erlenmeyer -Eprouvette de 1000mL -Pipettes gradué de 1mL et de 10mL -Pipettes Pasteurs -Flacons en verre -Entonnoir -Tubes à essai -Béchers gradués -Boîtes de pétrie - Boîtes hermétique en verre -Lames et lamelles

**Annexe 02 : Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique de la plante.****Tableau 02 : Composition des réactifs utilisés pour le screening phytochimique**

<b>Réactif</b>	<b>Composition</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>hydroxyde de sodium (1/10)</li></ul>	-Dissoudre 0.2g de NaOH dans 50mL d'eau distillée
<ul style="list-style-type: none"><li>Mayer</li></ul>	-0.136g chlorure de mercure -0.5g Iodure de potassium -Qsp 10mL eau distillée
<ul style="list-style-type: none"><li>Wagner</li></ul>	-0.2g Iodure de potassium -0.127g Iode -Qsp10mL eau distillée
<ul style="list-style-type: none"><li>Chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub> à 1%</li></ul>	-0.1g Chlorure ferrique -10mL eau distillée
<ul style="list-style-type: none"><li>Acide Trichloracétique TCA</li></ul>	-dissoudre 0.5g d'acide trichloracétique dans 20mL eau distillée

## Annexe 03 : Description et principe du Rotavapor

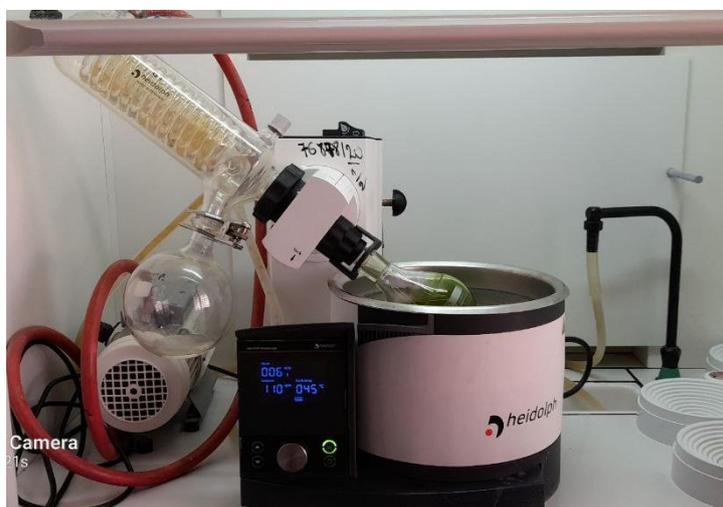
### 1- Principe

Le principe du Rotavapor, également connu sous le nom d'évaporateur rotatif, repose sur la réduction de la pression pour abaisser le point d'ébullition du solvant, la rotation de l'échantillon pour augmenter la surface effective, et le chauffage de la solution.

### 2- Description du Rotavapor

Le Rotavapor est composé des éléments suivants :

- Un ballon d'évaporation en verre contenant l'échantillon à traiter.
- Un bain-marie ou bain d'huile qui chauffe uniformément le ballon d'évaporation.
- Un moteur qui fait tourner le ballon à une vitesse constante.
- Un condenseur en verre à haut rendement refroidi par de l'eau.
- Un ballon récepteur pour recueillir le distillat condensé.
- Un système de réduction de pression (trompe à eau ou pompe à vide).



**Figure 16 : Le Rotavapor (Photo personnelle, 2024)**

### 3- Fonctionnement

les principales étapes de son fonctionnement :

---

- L'échantillon est placé dans un ballon d'évaporation en verre qui est chauffé uniformément par un bain-marie.
- Le ballon tourne à une vitesse constante, créant une fine pellicule de solution sur les parois. Cela augmente la surface de contact avec l'air.
- La pression est réduite dans le système à l'aide d'une trompe à eau ou d'une pompe à vide. Cela abaisse le point d'ébullition du solvant.
- La chaleur du bain-marie fait alors bouillir le solvant qui s'évapore. La vapeur est canalisée vers le condenseur.
- Le condenseur, composé de deux tubes en verre avec de l'eau circulant entre eux, refroidit la vapeur qui se condense alors en liquide.
- Le liquide condensé s'écoule dans un ballon récepteur

## Annexe 04 : Les étapes de La coloration de Gram

### 1- Principe

Le principe de la coloration de Gram repose sur une technique de coloration différentielle permettant de visualiser la morphologie, le mode de groupement des bactéries, et de distinguer les bactéries Gram positifs des Gram négatifs en se basant sur la composition de leur paroi cellulaire.

### 2- Les étapes de la coloration

**Tableau 03** : les étapes de la coloration de Gram (Photos personnelles, 2024)

Etape	Préparation	But	
01	Coloration au violet de gentiane ou cristal violet (30 sec à 1min)	Colorer en violet le contenu des bactéries	
02	Mordantage au lugol (solution iodo-iodurée) (30 sec à 1min)	Fixer la coloration violette à l'intérieur des bactéries	
03	Décoloration rapide à l'alcool (+acétone)	Décolorer les bactéries à paroi mince (G -) tout en gardant la coloration des bactéries à paroi épaisse (G +)	
04	Recoloration à la safranine ou fuchsine (30 sec à 1 min)	Colorer en rose les bactéries décolorées (Gram négatives) pour les différencier des violettes (Gram positives)	

**Annexe 05 : Préparation des milieux de culture et eau physiologique**

**Tableau 04 : Préparation des milieux solides et liquides**

<b>Les milieux Solides</b>		
<b>Les milieux</b>	<b>composition</b>	<b>Préparation</b>
Gélose nutritive (GN)	-Extrait de viande : 1g/L -Extrait de levure :2,5g/L -Peptone : 5g/L -Chlorure de sodium : 5g/L -Agar-agar : 15 g -ph =7	-dissoudre 20g GN déshydraté dans 1L d'eau distillée. - autoclaver à 121°C pendant 15-20min
Muller Hinton (MH)	-Hydrolysate acide de caséine : 17,5g -Extrait de viande : 2 g -Amidon de maïs : 1,5g -Infusion de viande de bœuf : 300 mL -ph = 7,3± 0,2	Prêt à l'emploi
<b>Les milieux liquides</b>		
Bouillon nutritif (BN)	-Peptone: 10 g -Extrait de bœuf: 1g déshydraté. -Extrait de levure: 2g -Chlorure de sodium : 5g -ph: 6.8±0.2	-Dissoudre 13 g de BN déshydraté dans 1L d'eau distillée . - Autoclaver à 121°C pendant 15-20min
Bouillon Muller Hinton (BMH)	-Hydrolysate de caséine: 17,5g -Infusion de viande: 2g -Amidon: 1,5 g -ph-7,40,2	-Dissoudre 21g de MH déshydraté dans 1L d'eau distillée. - Autoclaver à 121°C pendant 15-20min
<b>L'eau physiologique</b>		
	-Chlorure de sodium.....9g -Eau distillée.....1000g	-Dissoudre 9g de chlorure de sodium dans 1000g d'eau distillée -Ajuster le ph -Stériliser à l'autoclave pendant 30 min

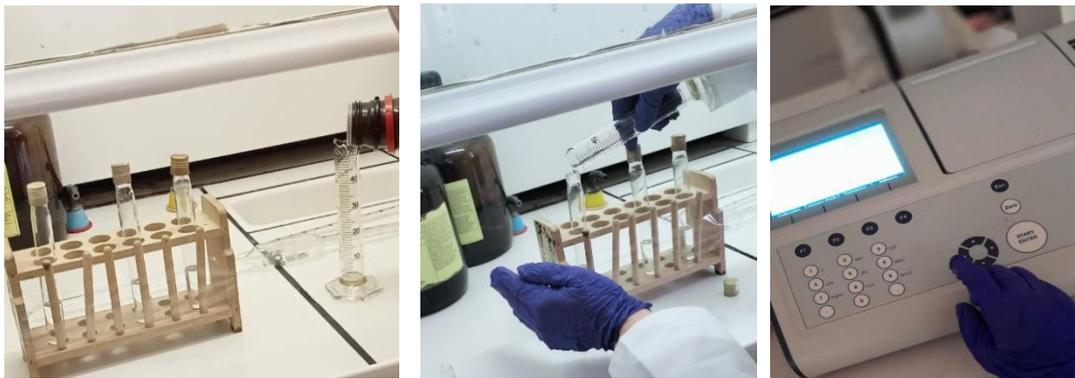
**Annexe 06 : Préparation du standard 0.5 McFarland****1- Définition**

La solution 0.5 McFarland est un outil essentiel pour standardiser la densité bactérienne dans de nombreux tests microbiologiques, en particulier les antibiogrammes.

**2- Objectif**

L'objectif principal de la solution 0.5 McFarland est de standardiser approximativement le nombre de bactéries dans une suspension liquide en microbiologie.

C'est un étalon de turbidité utilisé pour ajuster visuellement la densité cellulaire d'une suspension bactérienne. Sa turbidité est comparable à une suspension bactérienne d'environ  $1,5 \times 10^8$  cellules/mL. Cette valeur de turbidité correspond à une absorbance de 0,08 à 0,1 mesurée à 625 nm dans un spectrophotomètre avec un trajet optique de 1 cm.

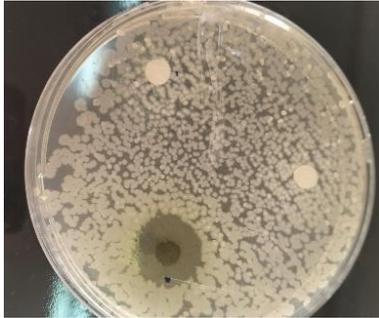
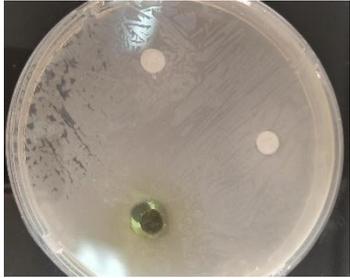
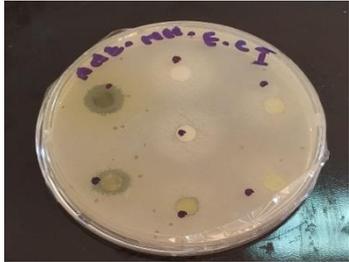
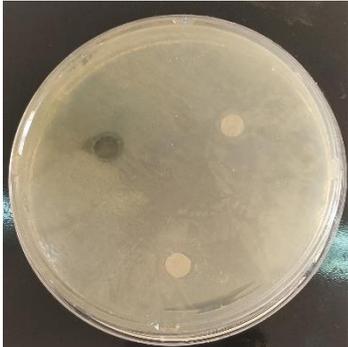


**Figure 17 : Préparation de la solution 0.5 McFarland (Photos personnelles, 2024)**

---

## Annexe 07 : Mesure des diamètres d'inhibition

Tableau 03 : Effet antibactérien de l'extrait hydroéthanolique sur les souches bactériennes testées (Photos personnelles, 2024).

Souches bactériennes	Test préliminaire	Test quantitative
<i>Bacillus subtilis</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>Escherichia coli</i>		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		/

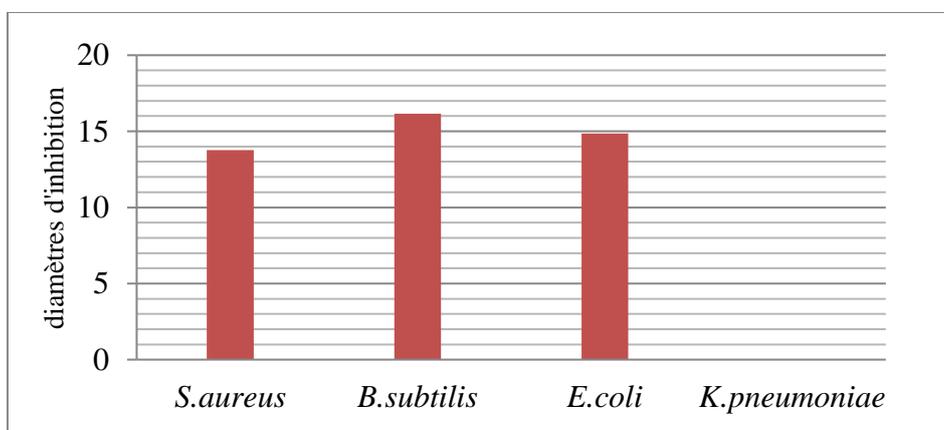


**Figure 18 :** Pied à coulisse pour mesurer le diamètre des zones d'inhibition

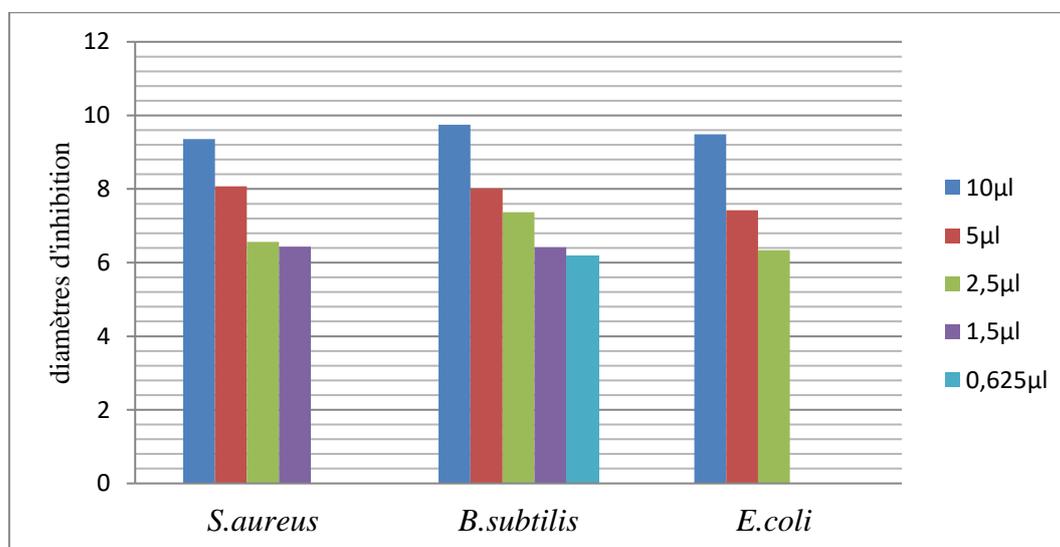
**(Photos personnelles, 2024).**

---

---

**Annexe 08 : Résultats du test préliminaire et de l'étude quantitative de l'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*****1- Résultats du test préliminaire**

**Figure 19 :** Histogramme du diamètre des zones d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique pure de *Ruta graveolens* sur les souches bactériennes testées

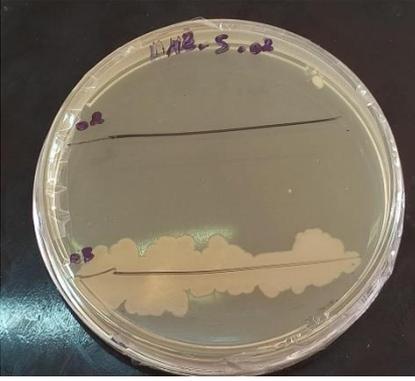
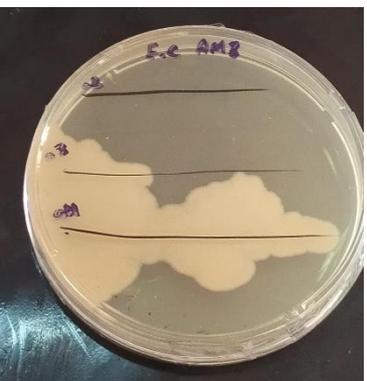
**2- Résultats de l'étude quantitative**

**Figure 20 :** Histogramme du diamètre des zones d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique dilué de *Ruta graveolens* sur les souches bactériennes testées.

---

Annexe 09 : Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB de l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens*

Tableau 04 : CMB de l'extrait hydroéthanolique de *R.graveolens* sur les différentes souches bactériennes testées (Photos personnelles, 2024)

CMB de l'extrait hydroéthanolique de <i>R.graveolens</i> sur :	
	
<i>Bacillus subtilis</i>	
	
<i>Staphylococcus aureus</i>	
	
<i>Escherichia coli</i>	

المكتبة الجامعية المركزية

معلومات حول الأطروحة أو المذكرة

الطالبة:

الطالبة:

الكلية: كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة و الحياة

القسم: علوم طبيعة و الحياة

التخصص: مكروبيولوجيا التطبيقية

المستوى: ثانية ماستر

عنوان المذكرة :

**Screening phytochimique et évaluation in vitro de  
l'activité antibactérienne d'une plante locale de la famille  
des *Rutacées***

المؤطر:

تاريخ المناقشة للأطروحة (اليوم والشهر والسنة): 2024/06/08

السنة الجامعية: 2024-2023

الملخص كاملا بجميع اللغات المتوفرة:

## **Abstract**

*Ruta graveolens*, Awermi en berbère et Fidjel en dialecte arabe. Une plante herbacée de la famille des Rutacées, très répandue en Algérie. Utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs troubles notamment en ophtalmologie, rhumatologie et traumatologie. L'objectif de cette étude consiste à effectuer une analyse phytochimique de l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de cette plante et à évaluer son potentiel antibactérien in vitro contre la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Le rendement de l'extrait hydroéthanolique a été estimé de 17,07 %. Les diamètres d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices ont été mesurés en utilisant les techniques de diffusion en milieu solide et de dilution en milieu liquide. Des tests de caractérisation basés sur des réactions physico-chimiques ont été utilisés pour effectuer le criblage phytochimique. Les diamètres d'inhibitions de l'extrait pure étaient compris entre 13,77 mm et 16,16 mm. Les valeurs de CMI variaient de 25 à 50 mg/mL. Le rapport CMB/CMI indique un effet bactéricide sur les souches bactériennes testées. L'analyse phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, de saponosides, de tanins catéchiques, de terpène et de stéroïdes et l'absence des quinones, alcaloïdes et des tanins galliques. Selon cette recherche, il a été démontré que l'extrait hydroéthanolique de *Ruta graveolens* possède une bonne activité antibactérienne et renferme diverses familles de substances chimiques.

**Mots clés :** *Ruta graveolens*, extrait hydroéthanolique, screening phytochimique, activité antibactérienne, métabolites secondaires.

## Resume

*Ruta graveolens*, Awermi in Berber and Fidjel in Arabic dialect. A herbaceous plant of the family Rutaceae, very much responded in Algeria. Used in traditional medicine to treat several disorders including ophthalmology, rheumatology and traumatology. The objective of this study is to perform a phytochemical analysis of the hydroethanolic extract of the aerial part of this plant and to evaluate its antibacterial potential in vitro against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The yield of hydroethanolic extract was estimated at 17.07%. Inhibition diameters and minimum inhibitory concentrations were measured using solid medium diffusion and liquid medium dilution techniques. Characterization tests based on physicochemical reactions were used to perform phytochemical screening. The DIs of pure extract ranged from 13.77 mm to 16.16 mm. Minimum inhibitory concentrations values ranged from 25 to 50 mg/mL. The CMB/CMI ratio indicates a bactericidal effect on the bacterial strains tested. A phytochemical analysis revealed the presence of flavonoids, saponosides, catechetical tannins, terpene and steroids. Based on this research, hydroethanolic extract of *Ruta graveolens* has been shown to have a strong antimicrobial capacity and contains various families of chemicals.

**Key words:** *Ruta graveolens*, hydroethanolic extract, phytochemical screening, antibacterial activity, secondary metabolites.

## الملخص

### نبات "Ruta graveolens" المعروف

اسم "أورامي" الأمازيغية و "الفيجل" أو "السذاب الأذفر" اللغة العربية. هو نبات عشبي ينتمي إلى عائلة "السذابية". منتشر بشكل واسع في الجزائر. يستخدم في الطب التقليدي للتداوي من العديد من الأمراض، لا سيما في طب العيون، أمراض الروماتيزم والعظام. يهدف هذا البحث إلى إجراء فحص كيميائي نباتي لمستخلص "الهيدروإيثانول" للجزء الهوائي للنباتة، وتقييم قدرته المضادة للبكتيريا في المختبر "in vitro". أجريت تجارب على كل من *Staphylococcus aureus*, "*Bacillus subtilis*", "*Escherichia.coli*" و "*Klebsiella pneumoniae*". تم تقدير مردود مستخلص النبات في القضاء على البكتيريا الساق ذكرها وتثبيط تكاثرها نسبة 17.07%. تم استخدام طرق الانتشار في الوسط الصلب والتخفيف في الوسط السائل لتحديد أقطار مناطق التثبيط وأدنى تركيزات مثبّطة. كما تمت عملية العزل الكيميائي لمستخلص النبات باستخدام اختبارات تحديد تعتمد على التفاعلات الفيزيائية والكيميائية. تراوحت أقطار مناطق التثبيط للمستخلص الخاليين 13.77 ملم و 16.16 ملم، وكانت أدنى تركيزات مثبّطة بين 25 و 50 ملغ/مل تشير نسبة CMB/CMI إلى وجود تأثير مضاد للبكتيريا. كشف الاختبار الكيميائي النباتي عن وجود "الفلافونات، الصابونين، التانين المكثف، التربين، الستيرويد". غياب الكينونات، التانين القابل للتحلل، القلوانيات. في الأخير يمكن القول أن هذه الدراسة أظهرت أن المستخلص الهيدروإيثانولي لنباتة الفيجل يمتلك قوة مضادة للبكتيريا ويحتوي على عدة عائلات من المركبات الكيميائية.

**الكلمات المفتاحية** "Ruta graveolens". لمستخلص "الهيدروإيثانول". فحص كيميائي نباتي. المركبات الكيميائية

نشاط مضاد للبكتيريا



Université Echahid Echeikh Larbi Tébessa - Tébessa  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie

Département biologie Appliquée

Filière : *sciences biologiques*

Spécialité : *microbiologie appliquée*

Année universitaire : 2023/2024



## Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

Données d'identification du candidats (es) :

Nom et prénom du candidat : - *Ait Yahia Meriem*  
- *Zelouia Dikra*

Données d'identification du Président de jury :

Nom et prénom : *Bouabida Hayette*

Grade : *Pr*

Lieu d'exercice : Université Larbi Tébessa - Tébessa-

Vu le procès-verbal de soutenance de la thèse sus citée comportant les réserves suivantes :

- *Le logo de l'université*

- *Le grade de la présidente*

Et après constatation des modifications et corrections suivantes :

- *toutes les remarques ont été élévées*

Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de l'attestation de succès.

Le : *02-07-2024*

Président de jury de soutenance : (Nom/Prénom et signature)

*Pr. Bouabida Hayette*



Département de... *Biologie appliquée*.....  
Filière : ...*Sciences biologiques*.....  
Spécialité : ...*microbiologie appliquée*.....  
Année universitaire 2023/2024

## Déclaration sur l'honneur de non-plagiat (A joindre obligatoirement avec le mémoire)

Je, soussigné(e)

Nom et prénom : ...*Ait Yahia Meriem*.....

Régulièrement inscrit (e) :

.....en...*Master II*...au département...de...*biologie appliquée*.....

N° de carte d'étudiant :

.....*12012023181834016793*.....

Année universitaire : ...*2023/2024*.....

Domaine : ...*Sciences de la nature et de la vie*.....

Filière : ...*Sciences biologiques*.....

Spécialité : ...*microbiologie appliquée*.....

Intitulé :

...*Screening phytochimiques et évaluation in vitro de l'activité antibactérienne d'une plante locale de la famille des Rutacées*.....

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité, je certifie également que je n'ai ni copié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité de plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année de Master.
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : *02/07/2024*.....

Signature de l'étudiant (e)



*Ait Yahia Meriem*

صندوق إدارتها كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة