

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955-SKIKDA



**Faculté des sciences**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Mémoire Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Filière: Sciences Biologiques**

**Option: Microbiologie Appliquée**

**Intitulé :**

**Valorisation de *Ruta montana*: Pouvoir antibactérien.**

**Présenté par:**

- Derouiche Khaoula
- Annan Ikram
- Belhi Ikram
- Bougueroua Chaima

**Membre du jury:**

<b>Dr. Slimani Souheila</b>	<b>Pr</b>	<b>Président</b>	<b>Université 20 Août 1955 – Skikda</b>
<b>Dr. Gueddah Doria</b>	<b>MCB</b>	<b>Directeur de mémoire</b>	<b>Université 20 Août 1955 – Skikda</b>
<b>Dr. Belambri Sahra Amel</b>	<b>MCA</b>	<b>Examineur</b>	<b>Université 20 Août 1955 – Skikda</b>

**Année universitaire 2021/2022**

## *Dédicace*

*Au nom de dieu élément de miséricordieux : Je dédie ce modeste travail à :*

*A ma très chère mère Salima, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont elle ne cesse de me combler, que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A mon père Rabah qui m'a éclairé mon chemin et qui m'a encouragé et soutenu tout au long de mes études depuis ma naissance.*

*A mes frères Rezak Anouar Et Bourhane.*

*A Mes Sœurs soumia et khadidja Sans oublier mes Neveux SALÂH et ADEM.*

*A mes amis la beauté Khouloud, Yousra, Rayen et Nour pour leurs soutien aux moments difficiles de mon travail et surtout pour leurs patiences.*

*A tous ceux qui m'aiment, tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*\*Khaoula\**

## **Remerciement :**

*Tout d'abord, louange à « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.*

*Je tiens à exprimer toute mes reconnaissances et remerciements au Dr. GUEDDAH Doria ; maitre de conférence B au département de Biologie, Faculté des sciences, Université 20 aout 1955 à Skikda, pour avoir accepté la charge d'être le directeur de ce mémoire. Je la remercie pour sa disponibilité, ses pertinents conseils, ses orientations et pour les efforts qu'elle avait consentis durant la rédaction de ce mémoire, ainsi pour son soutien moral et scientifique qui m'a permis de mener à terme ce projet.*

*Mes Remerciements vont également à Dr. SLIMANI Souheïla, Professeur au département de Biologie, Faculté des sciences, Université 20 aout 1955 à Skikda, qui m'a fait l'honneur de présider le jury qui va juger ce travail.*

*J'adresse mes remerciements à Dr. BELAMBRI SAHRA Amel ; Maître de Conférences A au département de biologie, Faculté des sciences, Université 20 aout 1955 à Skikda pour sa disponibilité à juger ce travail.*

*Je remercie tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

## Sommaire

Résumé	
abstract	
الملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
1. Etude botanique.....	02
1.1. Présentation de la famille des rutacées.....	02
1.2. Position systématique.....	03
1.3. Description botanique.....	03
1.3.1. La partie aérienne.....	04
1.3.2. Partie souterraine.....	04
1.4. Nom vernaculaire de l'espèce.....	05
2. Répartition géographique en Algérie.....	05
3. Phytochimie de Ruta.....	05
4. Utilisation du <i>Ruta montana</i> en médecine traditionnelle.....	06
5. Toxicité de la plante.....	07
5.1. Activités mutagène et carcinogène.....	07
5.2. Action sur les enzymes.....	07
5.3. Photo-toxicité.....	07
5.4. Circonstances et symptomatologie de l'intoxication.....	08
6. Métabolite secondaire.....	08
6.1. Généralités sur les huiles.....	08
6.1.1. Définition.....	08
6.1.2. Rôle des huiles essentielles.....	08
6.1.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante.....	08
6.1.4. Compositions chimiques de l'huile essentielle.....	09
6.2. Flavonoïdes.....	09
6.2.1. Définition.....	09
6.2.2. Classification.....	10
7. Activité biologique.....	11
7.1. Activité antioxydant.....	11
7.1.1. Les antioxydants.....	11
7.1.2. Le stress oxydatif.....	11
7.1.3. Les radicaux libres.....	11
7.2. Activité antibactériennes.....	12
7.2.1. Généralité sur les bactéries utilisées.....	12
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	
1. Cadre d'étude.....	16
2. Echantillonnage.....	17
3. Matériel et méthodes.....	17
3.1. Extraction des huiles essentielles.....	17
3.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	18

3.3.1. Principe.....	18
3.3.2. Souches bactériennes utilisés.....	19
3.3.3. Préparation de suspension bactérienne.....	19
3.3.4. Préparation solution mère et dilution.....	19
3.3.5. Préparation des disques.....	20
3.3.6. Préparation des boites de Pétri.....	21
3.3.7. Ensemencement.....	21
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
1. Rendement des huiles essentielles.....	22
2. Activité antibactérienne.....	22
Conclusion.....	26
Références bibliographiques.....	27
Annexe.....	34

**Résumé :**

Depuis des décennies, l'humanité a utilisé, exploité les plantes comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leurs richesses en composants des valeurs thérapeutiques.

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques, les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques : antitoxiques, anti-oxydantes, antibactériennes, antifongiques et insecticides et plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

Parmi les espèces les plus connues et utilisés, on trouve *Ruta montana*, communément appelée « Fidjel » par la population locale. Elle est très largement répondeuse en Afrique, particulièrement dans notre pays « l'Algérie ».

L'objectif de notre travail est valoriser cette plante en étudiant leur pouvoir antibactérien. Dans ce contexte, nous avons réalisé une extraction des huiles essentielles d'une plante de *Ruta montana* récolté de la région de Mila par technique éthanolique, par la suite une évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* a été effectuée par la méthode des disques, en mesurant la zone d'inhibition de croissance autour les disques.

L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de *Ruta montana* par entrainement à la vapeur d'eau a révélé un rendement de 0,35%.

Le test des disques a présenté une bonne activité antibactérienne des huiles essentielles à l'égard des souches pathogènes.

Les extraits de *Ruta montana* ont empêché la croissance des bactéries testés avec un diamètre de zone d'inhibition qui varie en fonction des concentrations des échantillons testés.

**Mots clés :** *Ruta montana*- Huiles essentielles- Activité antibactérienne- *Escherichia coli*- *Klebsiella pneumoniae* - *Staphylococcus aureus*.

**Abstract:**

For decades, humanity has used and exploited plants as remedies for human diseases thanks to their richness in components of therapeutic values.

Several research works have focused on the essential oils extracted aromatic plants, the various published results indicate that they are endowed with several biological properties: antitoxic, antioxidant, antibacterial, antifungal and insecticidal and more recently, they are also known to have anti-cancer properties.

Among the most known and used species, we find *Ruta montana*, commonly called "Fidjel" by the local population. It is very widely answered in Africa, particularly in our country "Algeria".

The objective of our work is to enhance this plant by studying their antibacterial power. In this context, we carried out an extraction of essential oils from a *Ruta montana* harvested from the Mila region by ethanolic technique, subsequently an evaluation antibacterial activity of extract against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococci aureus* was performed by the disc method, measuring the area growth inhibition around the discs.

The extraction of essential oils from the aerial part of *Ruta montana* by training steam showed a yield of 0.35%.

The disc test showed good antibacterial activity of essential oils against pathogenic strains.

*Ruta montana* extracts inhibited the growth of bacteria tested with a diameter zone of inhibition which varies according to the concentrations of the samples tested.

**Keywords:** *Ruta montana*- Essential oils - Antibacterial activity - *Escherichia coli*- *Klebsiella pneumoniae* - *Staphylococcus aureus*.

## الملخص:

لعمود من الزمان ، استخدمت البشرية واستغلت النباتات كعلاج امراض الإنسان بفضل ثرائها في مكونات القيم العلاجية ركزت العديد من الأعمال البحثية على الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات عطرية ، تشير النتائج المختلفة المنشورة إلى أنها موهوبة بالعديد من الخصائص البيولوجية: مضاد للسموم ، مضاد للأكسدة ، مضاد للجراثيم ، مضاد للفطريات ومبيد للحشرات ومؤخرًا ، عرف أيضًا أن لها خصائص مضادة للسرطان

روثا مونتانا من بين الأنواع الأكثر شهرة واستخدامًا ، توجد بشكل شائع يطلق عليه السكان المحليون "فيجل". يتم الرد عليه على نطاق واسع في إفريقيا ولا سيما في بلادنا "الجزائر".

الهدف من عملنا هو تعزيز هذا النبات من خلال دراسة قوتها المضادة للبكتيريا. في هذا السياق ، قمنا باستخراج الزيوت الأساسية من نبات روثا. تم حصاد مونتانا من منطقة ميلا بالتقنية الإيثانولية ، وبعد ذلك تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص ضد الإشريكية القولونية ، الكلبسيلا الرئوية والمكورات العنقودية الذهبية طريقة القرص ، وقياس المنطقة تثبيط النمو حول الأقراص.

استخراج الزيوت العطرية من الجزء الجوي لروثا مونتانا عن طريق التدريب أظهر البخار عائد 0.35%.

أظهر اختبار القرص نشاطًا جيدًا مضادًا للبكتيريا للزيوت الأساسية ضد السلالات المسببة للأمراض.

تمنع مستخلصات روثا مونتانا نمو البكتيريا التي تم اختبارها بقطر منطقة التثبيط والتي تختلف باختلاف تركيزات العينات المختبرة

**الكلمات المفتاحية:** روثا مونتانا - الزيوت الأساسية - النشاط المضاد للبكتيريا - الإشريكية القولونية - البكتيريا الرئوية - المكورات العنقودية الذهبية.

*Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b>	Les noms vernaculaires de <i>Ruta montana</i> .	05
<b>Tableau 02</b>	Type d'usage de <i>Ruta montana</i> .	06
<b>Tableau 03</b>	Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes.	10
<b>Tableau 04</b>	Origine de souches pathogènes utilisées.	19
<b>Tableau 05</b>	Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) obtenus avec les huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> .	24

*Liste des figures*

<b>Figure 01</b>	Feuilles de <i>Ruta Montana</i>	02
<b>Figure 02</b>	Fleurs de <i>Ruta montana</i>	02
<b>Figure 03</b>	<i>Ruta montana</i>	03
<b>Figure 04</b>	<i>Ruta Montana</i>	04
<b>Figure 05</b>	Sites de répartition de R. Montana d'Algérie	05
<b>Figure 06</b>	Structure de la Rutine	06
<b>Figure 07</b>	Les composés chimiques présents dans diverses huiles essentielles	09
<b>Figure 08</b>	Schéma illustrant le cadre d'étude	16
<b>Figure 09</b>	Photographie de l'extraction par technique éthanolique	17
<b>Figure 10</b>	Principe de la méthode de diffusion sur disque	18
<b>Figure 11</b>	Schéma illustrant la préparation des dilutions.	20
<b>Figure 12</b>	Les dilutions	20
<b>Figure 13</b>	Extrait des huiles essentielles et rendement	22
<b>Figure 14</b>	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> sur <i>Escherichia coli</i>	23
<b>Figure 15</b>	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
<b>Figure 16</b>	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Ruta montana</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	24

***Liste des abréviations***

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**C** : Celsius.

**cm** : centimètre.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines.

**K. pneumoniae**: Klebsiella pneumoniae.

**ml** : millilitre.

**mm** : millimètre.

**NO** : oxyde nitrique.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion Superoxyde.

**OH** : radicaux hydroxyles.

**R. montana** : Ruta montana.

**RO** : radicaux alcoxy.

**ROO** : radicaux peroxy.

**S. aureus** : Staphylocoques aureus.

**UV** : Ultra-violet.

## Introduction :

Les plantes aromatiques et médicinales constituent actuellement un enjeu économique et culturel très important (Guerraf *et al.*, 2013).

Elles ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leurs richesses en composants des valeurs thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, flavonoïdes tannins et coumarines) (Khadhri, 2013).

L'Algérie, de fait de sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutique (Mansour *et al.*, 1990).

Parmi les espèces les plus connues, on trouve *Ruta montana*, communément appelée Fidjel qui est largement utilisée comme plante médicinale (Belkassam *et al.*, 2011). En raison de sa disponibilité de divers composés tel que les huiles essentielles (cétones aliphatiques), coumarines (rutarine, furanocoumarines: psoralène, bergaptène, xantotoxine), furoquinolines et dérivés d'acridone), flavonoïdes (rutoside) et tanins (Djarri *et al.*, 2013), elle possède des propriétés abortives et anti-fertilité, antispasmodique, analgésique, antirhumatismale, emménagogue et antiparasitaire, antifongique, médicament anti-inflammatoire; désinfectant; antipyrétique (Belkassam *et al.*, 2011).

L'objectif de notre travail donc est de valoriser la plante de *Ruta montana* en contribuant à une étude du pouvoir antibactérien de cette dernière, et pour se faire nous avons eu recours à la méthode de diffusion sur disques en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri (Rasooli *et al.*, 2008).

Notre travail est présenté en trois chapitres :

- Synthèse bibliographique: généralités sur la plante *Ruta montana*.
- Une deuxième partie pratique comprenant le matériel et les méthodes analytiques.
- La dernière partie est consacrée aux résultats détaillés et leurs discussions suivies par une conclusion générale.

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### I. Etude botanique :

*Ruta Montana* est une plante médicinale de la famille des Rutacées qui pousse dans le Bassin méditerranéen, notamment en Afrique du Nord.

Depuis très longtemps, les plantes médicinales ont joué un rôle décisif dans le maintien de la santé humaine et de la survie humaine. Ils sont utilisés pour leurs propriétés bénéfiques particulières pour la santé humaine. En fait, ils sont utilisés de différentes manières, décoctions, trempettes et infusions. Peut utiliser une ou plusieurs de leurs parties, racines, feuilles, fleurs. (Delattre, 2011).



**Figure 01 :** Feuilles de *Ruta Montana* (Bennaoum, 2018)



**Figure 02 :** Fleurs de *Ruta Montana* (Bennaoum, 2018)

#### 1.1. Présentation de la famille des rutacées :

Le genre *Ruta* appartient à la sous famille des Rutoïdées. *Ruta* vient du grec « rhyté » qui signifie sauver, prévenir (Doerper, 2008). On rencontre en Algérie quatre espèces :

- *Ruta montana*
- *Ruta chalepensis*
- *Ruta. tuberculata*
- *Ruta. latifolia.*

La famille des Rutaceae comprend environ 1 500 espèces de répartition cosmopolite, mais néanmoins essentiellement tropicales et subtropicales. Celles-ci sont regroupées en 155 genres, dont les plus importants sont : *Zanthoxylum*, *Melicope*, *Agathosma*, *Boronia*, *Citrus*, *Ruta*. (Bottineau, 2010).

## 1.2. Position systématique :

**Règne** : Plante.

**Sous règne** : Tracheobionta (plantes vasculaires).

**Super division** : Spermatophyta (plantes à graine).

**Division** : Magnoliophyta (plantes à fleurs).

**Sous division** : Angiospermae.

**Classe** : Magnoliopsida (dicotylédons).

**Sous classe** : Rosidae.

**Ordre** : Sapindales.

**Famille** : Rutaceae.

**Genre** : *Ruta*.

**Espèce**: *Ruta Montana*.

(**Bonnier, 1999, Wiart, 2006, Takhtajan, 2009**)



**Figure 03:** *Ruta Montana*

## 1.3. Description botanique :

*Ruta montana* appelée communément rue des montagnes est un arbrisseau de la famille des Rutaceae, du genre *Ruta*. C'est une plante méditerranéenne semi arbustive, de 40 cm à un mètre de haut environ, très ramifiée et ligneuse à la base. (**Fournier, 1948 ; Hammiche et Azzouz, 2013 ; Hammiche et al. 2013**).

### 1.3.1. La partie aérienne

- Tiges : Droites, cylindriques, très rameuses, glabres et glauques de 2 à 5 pieds de hauteurs.
- Feuilles : Pétiolées, alternes, éparses, composées, d'un vert glauque, à folioles ovales.
- Obtuses, épaisses, légèrement dentées sur les bords ou entières.
- Fleurs : Jaunes, à cinq pétales concaves qui renferment dix étamines bien plus longues que les pétales et terminées par des anthères presque ronds, pédonculées en corymbe terminal (**Miller (1785), Villars (1789)**).
- Fruits : Des capsules globuleuses à lobes arrondies et pédoncule court (4 mm) et se terminent par 4 ou 5 lobes arrondis, apparents ; libérant à maturité de petites graines noirâtres. (**Hammiche et al., 2013**).
- Semences : Réniformes, à embryon renfermé dans un albumen charnu. (**Thielens, 1862**).
- Odeur nauséabonde et saveur chaude et amère.

### 1.3.2. Partie souterraine

Racines : Blanches, fibreuses et à nombreuses radicules (**Thielens, 1862**).



**Figure 04** : *Ruta Montana* (**Amoen, 1756**)

#### 1.4. Nom vernaculaire de l'espèce :

En Algérie, Le genre *Ruta* connu par "El fijel" en arabe et "awermi" en berbère.

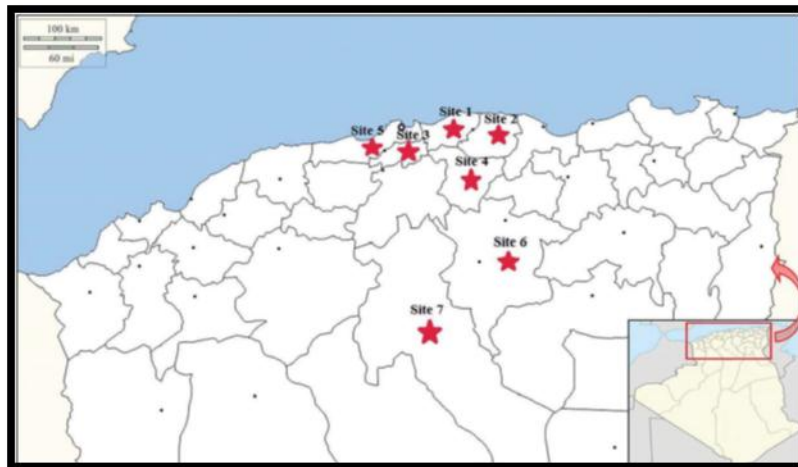
**Tableau 01** : Les noms vernaculaires de *Ruta montana*.

Langue	Nom
<b>Arabe</b>	El fijel
<b>Berbère</b>	Awermi
<b>Français</b>	Rue des montagnes
<b>Allemand</b>	Raute
<b>Italien</b>	Ruta
<b>Anglais</b>	Mountain Rue
<b>Espagnol</b>	Ruda

#### 2. Répartition géographique en Algérie :

La Rue pousse spontanément dans les rochers, les lieux arides, vieux murs, collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires des régions méditerranéennes.

Elle est présente dans les Rocailles, pâturages et pelouses du Tell, communément retrouvée dans les zones montagneuses de l'intérieure jusqu'à l'Atlas saharien. (Allon, 2013).



**Figure 05** : Sites de répartition de *R. Montana* d'Algérie ( Mohammédi,2019)

#### 3. Phytochimie de *Ruta* :

Les investigations phytochimiques réalisées sur *R. montana* ont indiqué la présence des flavonoïdes, les alcaloïdes, les huiles essentielles, les coumarines, les phénols, les saponines les lignines et les triterpènes.

La Rue contient une huile essentielle riche en cétones (undécan-2-one, nonan-2-one) et des flavonoïdes, principalement la rutine. (Kambouche et al., 2008).

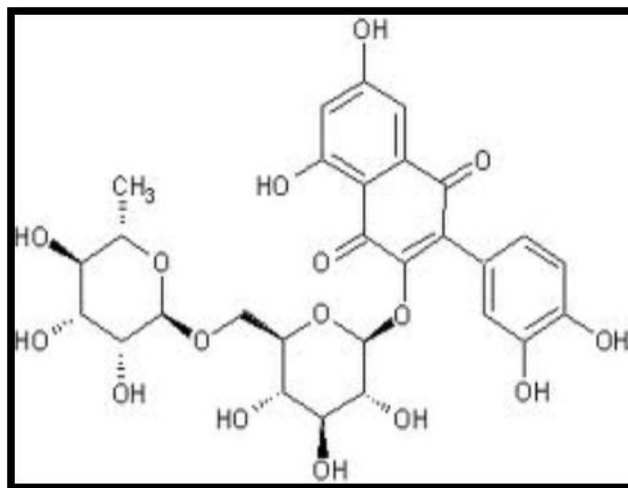


Figure 06 : Structure de la Rutine (Kambouche et al., 2008)

#### 4. Utilisation du *Ruta montana* en médecine traditionnelle :

*Ruta montana* est la plante thérapeutique par excellence, les parties les plus couramment utilisées sont les feuilles et les racines. Cette plante est utilisée dans diverses préparations, à savoir décoctions, infusions et macérations ; De plus, les huiles essentielles qu'il contient ont également des propriétés cicatrisantes. Une pincée par semaine est la dose la plus recommandée pour éviter une éventuelle intoxication. (Daoudi et al., 2015).

Tableau 02: Type d'usage de *Ruta Montana* (Hammiche et al., 2013).

Pour l'usage interne	Pour l'usage externe
<p>Comme emménagogue puissant, pour les règles douloureuses, les accouchements difficiles et à doses fortes, comme abortif et comme aphrodisiaque.</p> <p>Pour les affections respiratoires sévères, les gastralgies, les troubles intestinaux les spasmes, la goutte, épilepsie, les troubles nerveux, la paralysie et comme vermifuge.</p> <p>En injections vaginales comme abortif en lavements comme anthelminthique.</p>	<p>La décoction dans l'huile, en friction, soulage les rhumatismes, les courbatures et, appliquée sur la peau, a la réputation d'améliorer le vitiligo et le psoriasis.</p> <p>L'infusion en collyre est employée contre les ulcérations de la cornée, en gouttes auriculaires pour les otites et les bourdonnements d'oreille; par voie nasale les gouttes traitent l'ozène. Ainsi que les fièvres et les vomissements du nourrisson et du jeune enfant.</p>

## 5. Toxicité de la plante :

Si depuis Hippocrate bien des utilisations ont traversé les siècles, la toxicité, mieux connue a probablement contribué à éliminer plusieurs usages. (Pollio et al., 2008).

C'est une plante à manier avec précaution car son huile essentielle est toxique; elle contient des alcaloïdes, de flavonoïdes, de la vitamine C et des furo-coumarines. (LE Moine, 2001).

Les feuilles sont irritantes et vésicantes, propriétés dues aux huiles essentielles particulièrement à la méthylnonylcétone qui est un rubéfiant. (El Haji, 1995).

### 5.1. Activités mutagène et carcinogène :

Certains furs coumarines, associées à des rayonnements UV, présentent une activité mutagène, voire létale, vis-à-vis de micro-organismes fongiques ou bactériens (Roelandts, 2002). Leur propriété d'intercalation dans l'ADN est invoquée par les caractères mutagènes et carcinogènes potentiels de ces molécules (Dardalhon et al. 1998). L'addition des dérivés du psoralène peut affecter également les acides gras insaturés membranaires ainsi que certaines protéines. D'autres furocoumarines activent la croissance de certaines cellules tumorales. (Pathak et Fitzpatrick, 1992).

### 5.2. Action sur les enzymes :

Les furocoumarines linéaires sont des inhibiteurs d'enzymes de type cytochrome P450 dans le foie des mammifères ou chez les insectes (Fouin-Fortunet et al., 1990). Ces enzymes sont impliquées dans la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, lors d'une prise médicamenteuse associée à une consommation d'aliments contenant des furocoumarines comme le jus de pamplemousse, intervient une inhibition des enzymes hépatiques, ce qui conduit à une accumulation, potentiellement toxique, du médicament chez le sujet (Chan et al., 1998).

### 5.3. Photo-toxicité :

Les furocoumarines sont photo sensibilisantes et causent de graves dommages cutanés en particulier le 5-méthoxypsoralène (bergaptène) et le 8-méthoxypsoralène (xanthotoxine) composés volatils présents dans les huiles essentielles de *Ruta montana* et *Ruta graveolens*.

Plusieurs cas de réactions photo toxiques sont signalés chez l'homme, à la suite de contact cutané avec des espèces appartenant à la famille des Rutaceae. Cela se traduit par des érythèmes des dermatites bulleuses parfois sévères, simulant des brûlures, qui diffèrent des réactions de photo allergie. (Allouni, 2018).

#### **5.4. Circonstances et symptomatologie de l'intoxication :**

Les cas d'intoxication les plus fréquents sont observés à la suite de tentatives d'avortement au cours desquelles la rue fraîche, sèche ou en poudre, est administrée sous forme de décoction buvable et/ou sous forme d'injections vaginales. Elle est souvent associée à d'autres espèces toxiques (*Peganum*, *Cannabis*, etc.). Ce qui potentialise la toxicité et égare le diagnostic. La symptomatologie se manifeste par une salivation importante avec gonflement de la langue une gastroentérite violente, des signes neuropsychiques (excitation, vertiges, puis somnolence voire de prostration, tremblements). Des douleurs abdominales et des hémorragies utérines suivent. Dans les cas graves, coma et mort peuvent intervenir. (Jougard, 2008; Bellakhdar, 2008).

#### **6. Métabolite secondaire :**

##### **6.1. Généralités sur les huiles :**

###### **6.1.1. Définition :**

Ce sont des substances organiques aromatiques liquides qui se trouvent naturellement dans diverses parties des plantes. Ils sont très concentrés, volatils, généralement huileux et sensibles à la décomposition sous l'action de la chaleur (Turgeon, 2001).

Les huiles essentielles sont définies comme : "Produits obtenus à partir de matières premières végétales par distillation à la vapeur ou hydro distillation. Les huiles essentielles sont séparées de la phase aqueuse par un procédé physique (Hernandez, 2005).

Les huiles essentielles se trouvent presque exclusivement dans les plantes, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques (fleurs, feuilles, fruits, tiges, rimes et racines, graines, bois et écorces) (Teixeira et al, 2013).

###### **6.1.2. Rôle des huiles essentielles :**

Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales. D'autres considèrent que les huiles sont des messagers entre sorte de parasites et de microbes (Willem, 2009).

###### **6.1.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante :**

Les huiles essentielles se rencontrent quasiment que chez les végétaux supérieurs : cependant elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que les Lamiacées les Lauracées, les Rutacées, les Astéracées, les Apiécées, les Cupressacées, les Zingibéracées les Pipéracées, les Myrtacées, et les Poacées (Bruneton., 1999). Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs et les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante (YAHYAOU, 2005), variant en fonction de la zone productrice du végétal, comme

les sommités fleuries (ex: Lavande, Menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex: Vétiver Gingembre), dans les écorces (ex: Cannelles), le bois (ex: Camphrier), les fruits (ex: Citron) les graines (ex: Muscade). Elles sont contenues dans des structures spécialisées, à savoir, les poils les canaux sécréteurs et les poches (**Bendif., 2017**). Les essences sont stockées soit dans ces cellules, soit dans des cellules de réserve, et ne deviennent huiles essentielles qu'après distillation (**Joanna., 2012**).

#### 6.1.4. Compositions chimiques de l'huile essentielle :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variés de constituants qui appartiennent presque exclusivement à deux groupes aux profils biogénétiques distincts ; d'une part des groupes terpénoïdes et des groupes de composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents. D'autre part, ils peuvent également contenir divers produits résultant de processus de dégradation impliquant des composants (**Bruneton, 1999**).

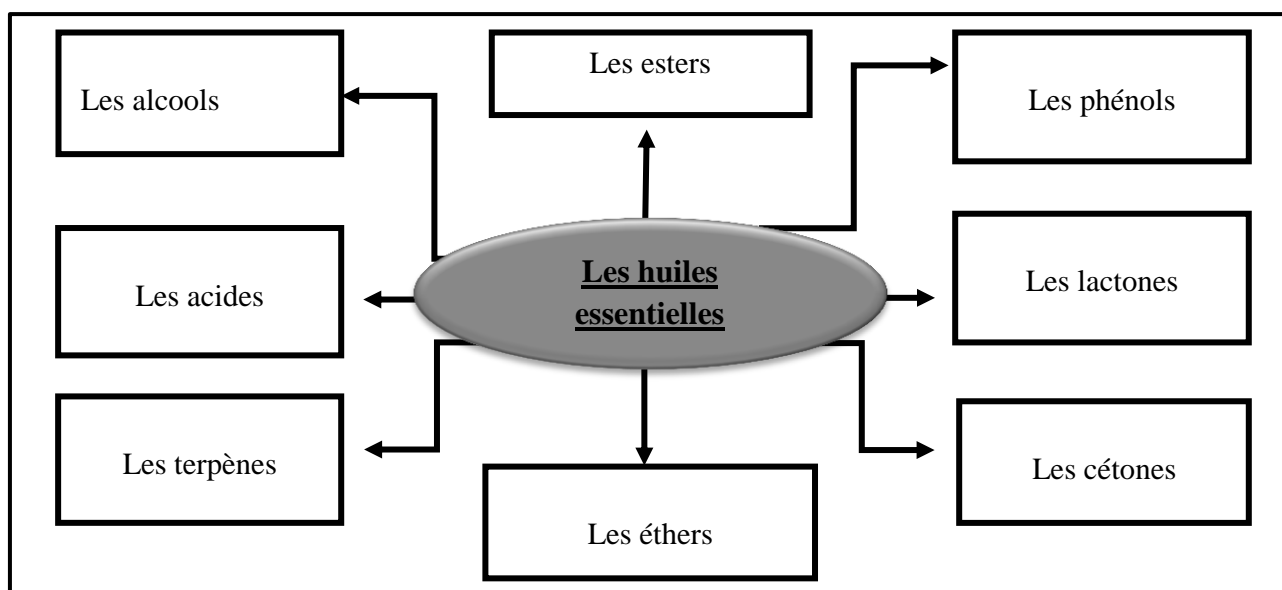


Figure 07: Les composés chimiques présents dans diverses huiles essentielles (**Merghache, 2009**)

## 6.2. Flavonoïdes :

### 6.2.1. Définition :

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux souvent responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles. (**Bruneton, 1999**).

Ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (**Fritch et Griesbach, 1975**) .Ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans

l'industrie alimentaire et des colorants. Ils possèdent en outre un intérêt médical considérable. (Vauzour et al., 2001).

### 6.2.2. Classification :

Les flavonoïdes se répartissent en fonction de la structure de molécules. En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées (Harborne et Williams, 2000).les plus importantes sont les flavones isoflavandiols, flavanols, flavandiols, aures, chalcones, anthocyanins (Effendi et al., 2008).

**Tableau 03:** Distribution alimentaire des principales classes des flavonoïdes  
(W-Erdman et al., 2005).

Flavonoïdes	Caractéristiques	Exemples
Flavonols	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.	Quercétine Kaempférol Myricétine
Flavones	Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et la réaction de coloration.	Utéoline Apigénine Chrysin
Flavanones	Caractérisés par le structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.	Genisteine Daidzeine Naringénine
Flavan3-ols	Flavan3ols ainsi que flavan3, 4diols sont tous les deux impliqués dans la biosynthèse de pro anthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques	Catéchine EPI catéchine EPI allo catéchine

## 7. Activité biologique :

### 7.1. Activité antioxydant :

L'étude de la capacité antioxydant est un défi scientifique important, un concept largement rapporté dans l'étude des propriétés biologiques des plantes médicinales.

#### 7.1.1. Les antioxydants :

Les antioxydants sont définis comme toutes les substances qui retardent ou empêchent l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (**Yanishlieva et al. 1999**).

#### 7.1.2. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif est caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydant de l'organisme (**Beaudeau et Durand, 2011**). La production d'espèces réactives de l'oxygène est utile mais peut être néfaste pour l'organisme lors d'une production excessive et en l'absence de mécanismes de défense. C'est ce que l'on appelle le stress oxydatif. Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré (**Belaïch et Boujraf, 2016**).

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes, la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments (**Médart, 2009**).

#### 7.1.3. Les radicaux libres :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomiques ou moléculaires, contenant un ou plusieurs électron(s) libre(s) non apparié(s) sur leurs orbitales externes (**Lehucher-Michel et al., 2001**). Cela lui confère une grande réactivité donc une demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote pour devenir plus stable. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (EOR ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS) (**Goudable et Favier, 1997**).

#### A. Types des radicaux libres

##### a. Les radicaux primaires :

Le principal radical libre provenant directement de l'oxygène, l'anion Superoxyde ( $O_2^-$ ) les radicaux hydroxyles (OH), l'oxyde nitrique (NO), les radicaux peroxy (ROO) et les radicaux alcoxy (RO). (**Favier, 2003**)

**b. Les radicaux secondaires :**

Radicaux libres secondaires tels que peroxy ROO•, alcoxy RO•, Ils sont formés par la réaction de ces radicaux libres primaires avec les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

**7.2. Activité antibactériennes :**

En Algérie, comme dans d'autres pays en développement, la maladie Les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique car elles fréquence et gravité. La situation est encore plus préoccupante du fait de l'émergence de la souche l'émergence de micro-organismes résistants aux antibiotiques et d'infections rare (Vanden et Vlietlncka 1991), où Compromettre le traitement avec les médicaments existants. C'est essentiel Recherche de nouvelles substances antibactériennes efficaces avec des effets à large spectre. Une des stratégies de cette recherche est d'explorer les plantes médicinales traditionnelle. Les propriétés antibactériennes des plantes aromatiques et médicinales sont bien connues depuis les temps anciens. Cependant, jusqu'au début du XXe siècle, Les scientifiques commencent à s'y intéresser. Beaucoup de plantes, parfumées, les plantes à épices et d'autres plantes ont des propriétés biologiques très importantes, ils ont trouvé Largement utilisé en médecine, pharmacie, beauté et autres domaines Agriculture. (Bahorun, 1997).

Les recherches actuelles sur les molécules antibactériennes d'origine naturelle Concentrez-vous principalement sur les plantes car elles sont plus facilement disponibles La sélection se fera en fonction de leur utilisation en médecine traditionnelle (Yano *et al.*, 2006).

Aujourd'hui, leur utilisation se fait sur une base scientifique et rationnelle car de nombreux de nombreuses études ont porté sur les propriétés antimicrobiennes des plantes médicinal. (Dorman,(2000). Flamini, (1999)).

**7.2.1. Généralité sur les bactéries étudiées :**

**A. Les bactéries à Gram négatif ( Enterobacteriaceae ) :**

Les entérobactéries constituent une famille hétérogène de bactéries à gram négatif qui est fréquemment impliqué dans les infections humaines et animales. Elle se compose d'environ 30genres de bactéries et de plus de 100 espèces (Lagha, 2015).

Elles sont fréquemment rencontrées en bactériologie clinique, alimentaire, et dans les eaux. (Delarras, 2007).

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0.6 microns de large).
- mobiles avec ciliature péri triche ou immobiles.
- poussant sur milieux de culture ordinaires.
- Aéro- anaérobies facultatifs.
- fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- réduisant les nitrates en nitrites.
- oxydase négatif (**Bactériologie, 2003**).

**a. Escherichia coli :**

Le genre *Escherichia* ne comporte qu'une seule espèce *Escherichia coli* (*E. coli*) intéressante en bactériologie médicale, et qui est l'espèce la plus fréquemment isolée dans le laboratoire d'analyses médical de bactériologie (**Ndiaye , 2005** ) .

*E. coli* (colibacille) , est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole ( **web9** ) .

Ce colibacille est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux sang chaud c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments ( **Delarras , 2007** ).

**i. Habitat :**

Concernant l'habitat, on trouve *E. coli* en abondance dans la flore commensale, en particulier dans le tube digestif. Par ailleurs, elle est très répandue dans l'environnement : eau, sols, et aliments ( **Baraduc et al . , 2000** ).

**ii. Pouvoir pathogène :**

*E. coli* est un agent pathogène polyvalent et dévastateur impliqué dans une large gamme de pathologies intestinales et extra - intestinales Les infections intestinales sont causées par plusieurs pathovars :

- *E. coli* entérovirulente et *E. coli* entéro - pathogène se manifestent par une diarrhée.
- *E. coli* entéro - toxigène qui est responsable de diarrhées très liquides.
- *E. coli* entéro - invasif qui est isolée de syndromes dysentériques tant chez l'adulte que chez l'enfant.
- *E. coli* entéro - hémorragique responsable d'épidémies de diarrhées aqueuses puis hémorragique (colite hémorragique).

- *E. coli* entéro - agrégatif qui peut être responsable de diarrhée persistante.

La majorité des infections urinaires de la femme jeune observées en pratique médicale est due à *E. coli*. Les souches provenant de la flore fécale contaminent les urines par voie ascendante. C'est la classique « colibacillose ». On trouve également les méningites néo - natales dont un tiers d'entre elles est due à *E. coli*. Cette bactérie est responsable de septicémie et de plusieurs infections génitales ( **Kosek et al. , 2003 ; Russo et Johnson , 2003** ).

**b. Klebsiella pneumoniae :**

Les Klebsielles sont des bactéries immobiles , en diplobacilles , généralement capsulées et fermentant de nombreux glucides , commensales de l'homme , des malades hospitalières chez responsables d'infections opportunistes fragilisés ( **Delarras , 2007 ; Avril et al. , 1992** ).

**i. Habitat :**

*Klebsiella pneumoniae* ( *K. pneumoniae* ) et *Klebsiella oxytoca* ( *K. oxytoca* ) sont des bactéries très répandus dans la nature ( l'eau , le sol , les végétaux , la flore fécale des animaux ) , sur la peau les muqueuses et surtout les voies respiratoires supérieurs de l'homme provoquant ainsi des pneumonies mortelles ( **Leminor et Veron , 1989** ).

**ii. Pouvoir pathogène :**

Elles sont isolées principalement de broncho - pneumopathies aiguës ou subaiguës où elles provoquent des changements de structures, à savoir la nécrose, l'inflammation l'hémorragie et les expectorations mucoïdes épaisses. Elles sont également responsables des infections urinaires, hépato - biliaires et de pus divers. ( **Mandell et al. , 2009 ; Nordmann et al. , 2009** )

**B. Les bactéries à Gram positif :**

**a. Staphylocoques aureus :**

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper et le (*S. aureus* amas. L'espèce, *Staphylocoques aureus*). aussi appelé Staphylocoque doré) , tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales ( **Nauciel et Vildé , 2005** ) . *S. aureus* est l'espèce majeure, qui peut être d'origine humaine, animale (volaille, bovin. ovin, caprin ...) environnementale ou non spécifique ( **Delarras , 2007** ) .

**i. Habitat :**

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes qui peuvent vivre :

- En bactéries saprophytes dans la nature (sols, air, eaux..).

- En bactéries commensales sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (mammifères) (**Delarras, 2007**). Chez l'homme , environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses ( principalement les fosses nasales ) et des zones cutanées humides ( périnée , aisselles ) ( **Nauciel et Vildé , 2005** ) .
- En bactéries pathogènes, agents responsable d'infections humaines ou animales qui peuvent être redoutables ( **Delarras , 2007** ).

**ii. Pouvoir pathogène :**

*S. aureus*, une bactérie à coagulase positive, est fréquemment rencontrée chez l'homme. Elle peut être responsable d'infections cutanées (impétigo, furoncles ...). infections de la sphère ORL (sinusites, otites ...). Infections septicémiques redoutables, d'infections nosocomiales. ainsi que les intoxications alimentaires individuelles ou collectives ( **Delarras , 2007** )

## Chapitre II : Matériels et méthodes

### 1. Cadre d'étude :

La partie pratique a été réalisée au niveau du laboratoire microbiologie situé dans hall de technologie de l'université 20 Aout 1955 Skikda durant la période de 48j de 14 mars 2022 à 30 avril 2022.

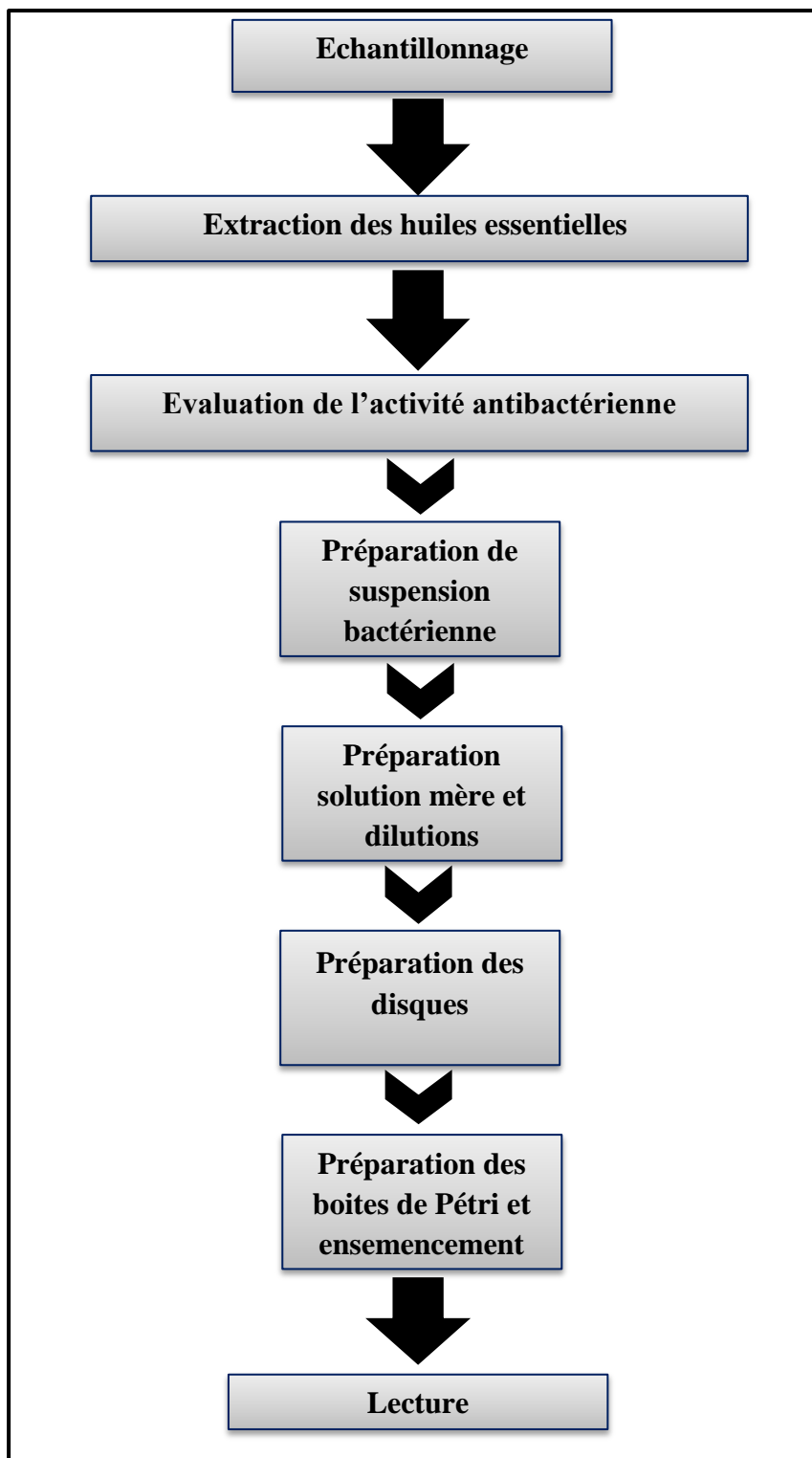


Figure 08 : Schéma illustrant le cadre d'étude

## 2. Echantillonnage :

Dans le but d'étudier l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *Ruta montana*, on a effectué une récolte de cette dernière en 2022 à la région de Mila.

## 3. Matériels et méthodes:

### 3.1. Extraction des huiles essentielles :

Après la récolte l'identification de la plante *Ruta montana* a été faite puis nous avons procédé :

- Nettoyage et broyage de la plante.
- Filtration à l'aide d'un tamis pour obtenir une poudre fine.
- Dans un bêcher, ajouter 1L d'éthanol (96°) à 500g de poudre de *Ruta montana*.
- Agiter manuellement à l'aide d'une grande cuillère.
- Emballer le réceptacle à l'aide du papier aluminium, puis agiter à l'aide d'un agitateur électrique pendant 1h.
- Placer le réceptacle dans un dessiccateur et laisser séjourner.
- Effectuer une filtration sur papier wattman.
- Placer le filtrat dans une appareil de rotation et évaporation (Rotavap) à 60°C.
- Récupérer l'extrait dans une boîte pétri recouvert d'un papier aluminium troué par aiguille, le placer dans une étuve à 40°C pendant 24H.
- Conservation au réfrigérateur.

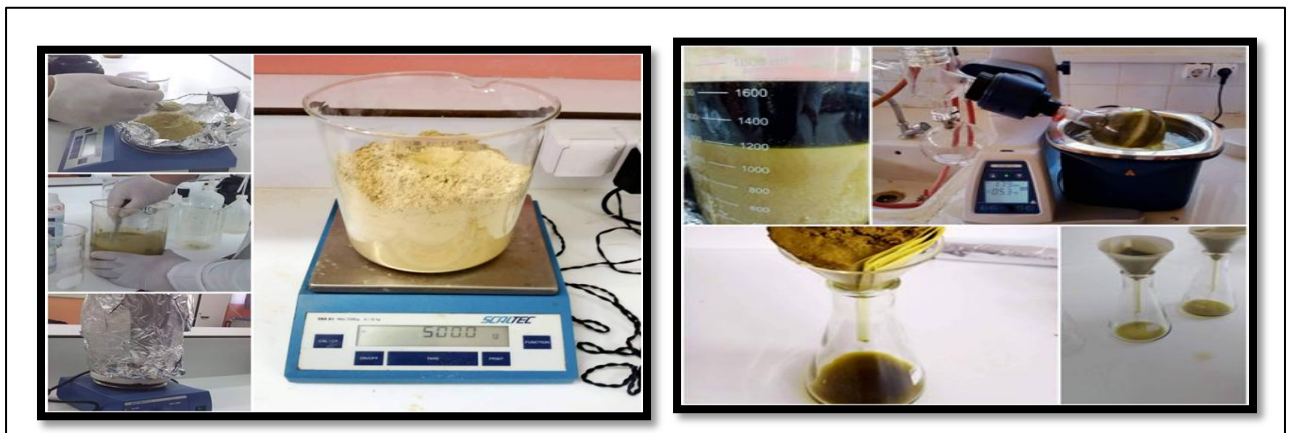


Figure 09 : Photographie de l'extraction par technique éthanolique

Le rendement exprimé en pourcentage (%) Il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \frac{M'}{M} \cdot 100$$

Dont :

- **RHE**: Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).
- **M'**: Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).
- **M**: Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

### 3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Ruta Montana* est évaluée par la méthode des disques, en mesurant la zone d'inhibition de croissance autour des disques. La méthode de l'aromatogramme, c'est une technique de laboratoire identique à celle de l'antibiogramme qui sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques où les antibiotiques sont remplacés par les huiles essentielles. (Belaïche P., 1979. Girault M., Bourgeon J., 1971).

#### 3.2.1. Principe :

C'est une méthode de mesure in vitro de l'effet antibactérien de ou des substances actives extraites (principes actifs) qui consiste à déterminer le spectre d'activité de ces composés sur des espèces bactériennes pour essayer de vérifier la sensibilité ou la résistance des germe pathogènes vis-à-vis de ces principes naturels.

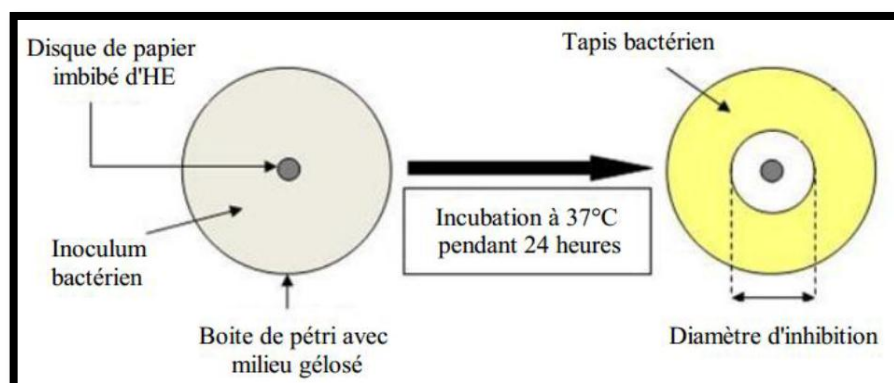


Figure 10 : Principe de la méthode de diffusion sur disque

### 3.2.2. Souches bactériennes utilisés :

Pour la détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Ruta Montana* 3 souche bactérienne. Ces bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance. Les souches pathogènes utilise sont présentes dans le tableau.

**Tableau 04:** Origine des souches pathogènes utilisées.

Souches bactérienne	Gram	Origine de l'isolement	Pouvoir pathogène	Sexe
<i>Escherichia coli</i>	Négatif (-)	ECBU	Responsables d'infection intestinales	Femme
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif (-)	ECBU de crachats	Responsable d'infection communautaires, d'infection nosocomiale et d'infection urinaires	Femme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif (+)	Pus	L'espèce <i>Staphylococcus aureus</i> responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses.	Femme

### 3.2.3. Préparation des suspensions bactériennes :

- Pour préparer une bactérie jeune on met le bouillon nutritive dans un écouvillon.
- Prendre une souche bactérienne a partir d'une colonie isolée et mettre dans l'écouvillon.
- Incubation a 37 °C pendant 24h.

### 3.2.4. Préparation de la solution mère et des dilutions :

Comme première étape, des solutions mères des huiles essentielles ont été préparées par dissolution dans l'éthanol ;

- Dans un tube à essai stérile on ajoute 1 ml d'éthanol plus 1 ml de l'extrait
- On prépare 4 tubes en verre stériles (10, 10, 10, 10);
- Le premier ( $10^{-1}$ ) contient 9 ml éthanol et ajoute 1 ml de solution mère.

Le même procédé est répété à diverses concentrations jusqu'à ( $10^{-4}$ ) selon la figure 10.

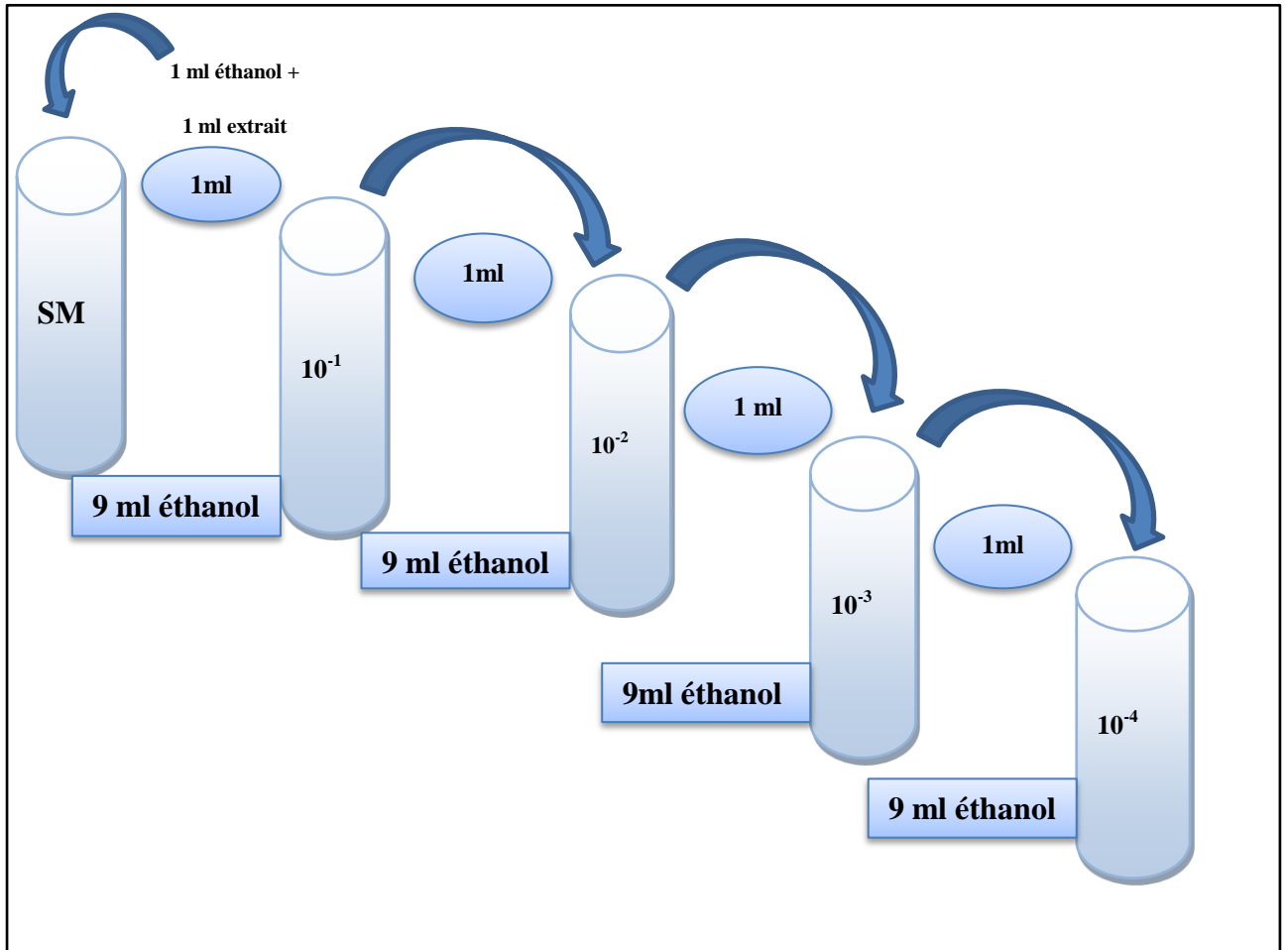


Figure 11 : Schéma illustrant la préparation des dilutions.

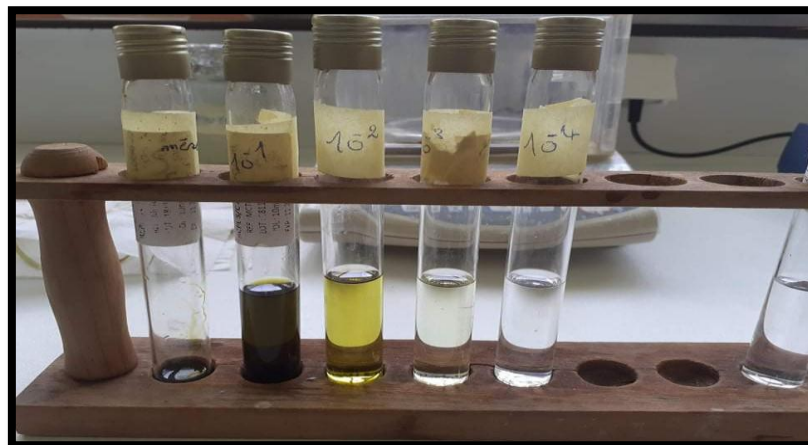


Figure 12 : Les dilutions

### 3.2.5. Préparation des disques :

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman, avec un diamètre de 6 mm. A l'aide d'un perforateur. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube à essais et stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à  $120^{\circ}\text{C}$ , puis stockés à une température ambiante dans un tube à essai hermétiquement fermé.

### **3.2.6. Préparation des boîtes de Pétri :**

La gélose de Muller-Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles. L'épaisseur de la gélose est de 4-5 mm répartie uniformément dans les boîtes et placées à côté du bec bunsen jusqu'à la solidification de la gélose.

### **3.2.7. Ensemencement :**

Les boîtes de pétrie ont étéensemencées avec le coton de l'écouvillon par étalement sur la totalité de la surface gélosée après préparation des boîtes de pétri témoin puis nous avons suivi le protocole suivant :

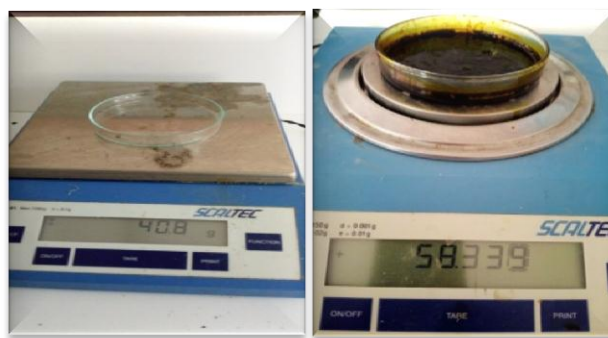
- Dans chaque boîte de pétriensemencée on applique 5 disques. Au centre de la boîte on met le disque imprègne de la solution mère, pour les quatre autres;
  - Le premier est un disque imbibé d'une concentration  $10^{-1}$
  - Le deuxième imbibé d'une concentration  $10^{-2}$
  - Le troisième imprégné d'une concentration  $10^{-3}$
  - Le quatrième disque imbibé d'une concentration  $10^{-4}$
- Incubation des boîtes à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24H.
- La lecture des résultats s'effectuant par mesure des diamètres d'inhibitions autour des disques.

## Chapitre III: Résultats et discussion

### 1. Rendement des huiles essentielles :

Notre étude nous a permis d'avoir une activité antibactérienne de l'extrait éthanolique sur quelques souches bactériennes.

Après calcul, nous avons noté que l'extraction des parties aériennes de la Rue par l'entraînement à la vapeur d'eau (**Fig.13**) a donné un rendement de 0,35%.



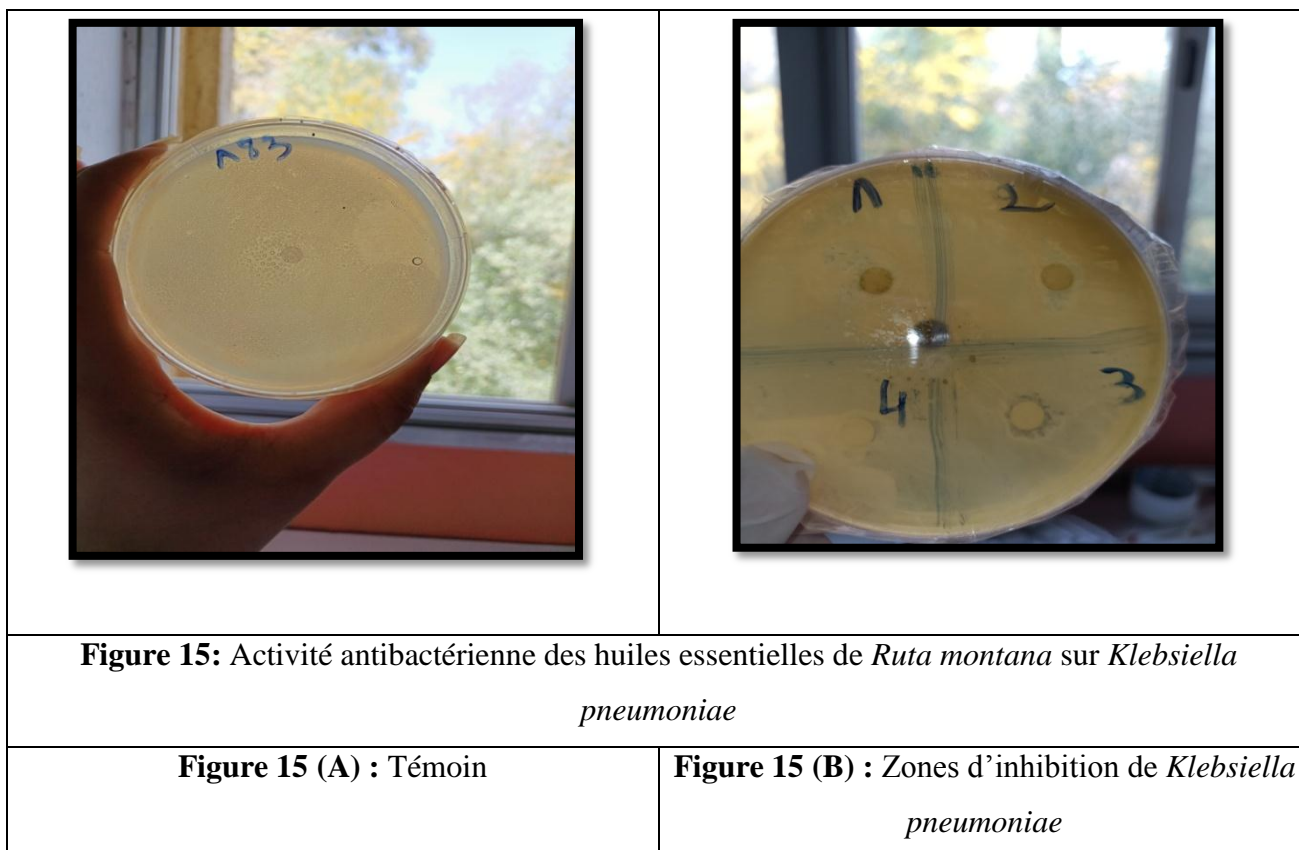
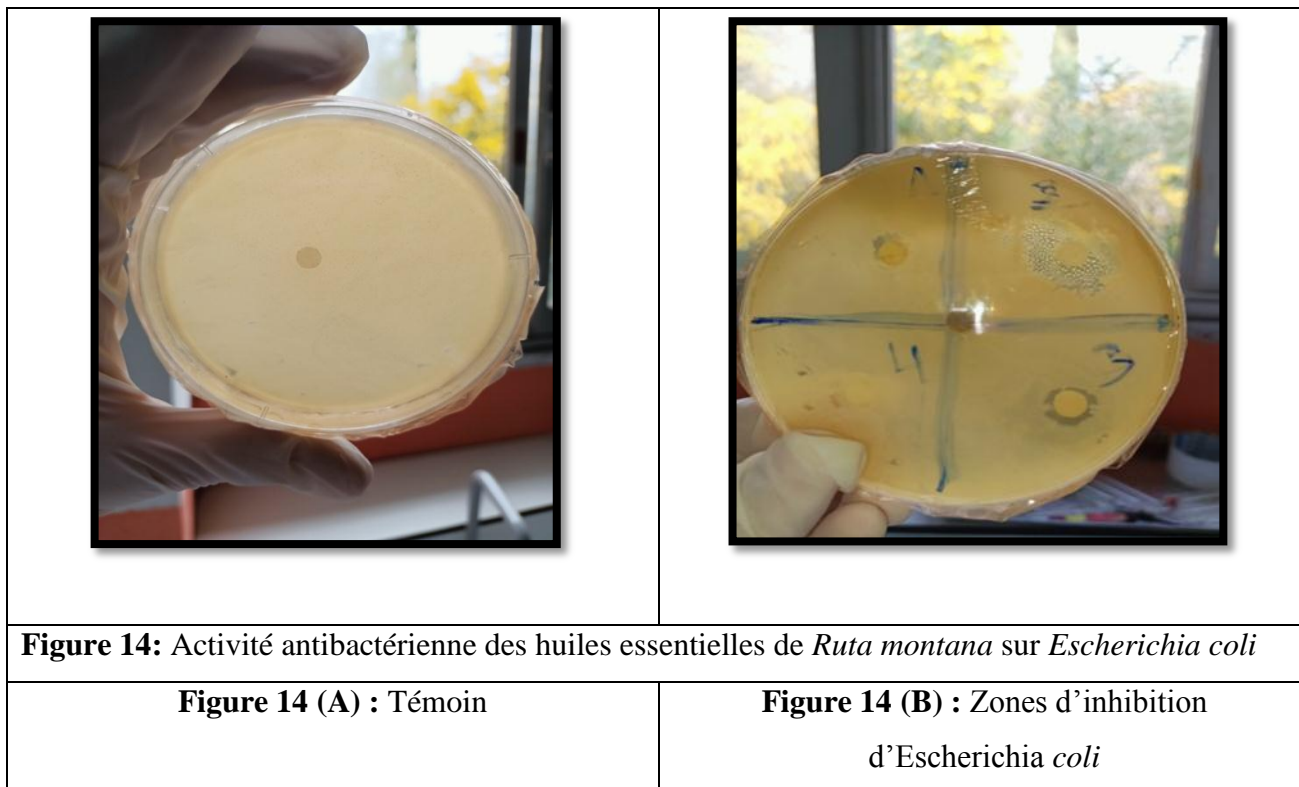
**Figure 13** : Extrait des huiles essentielles et rendement

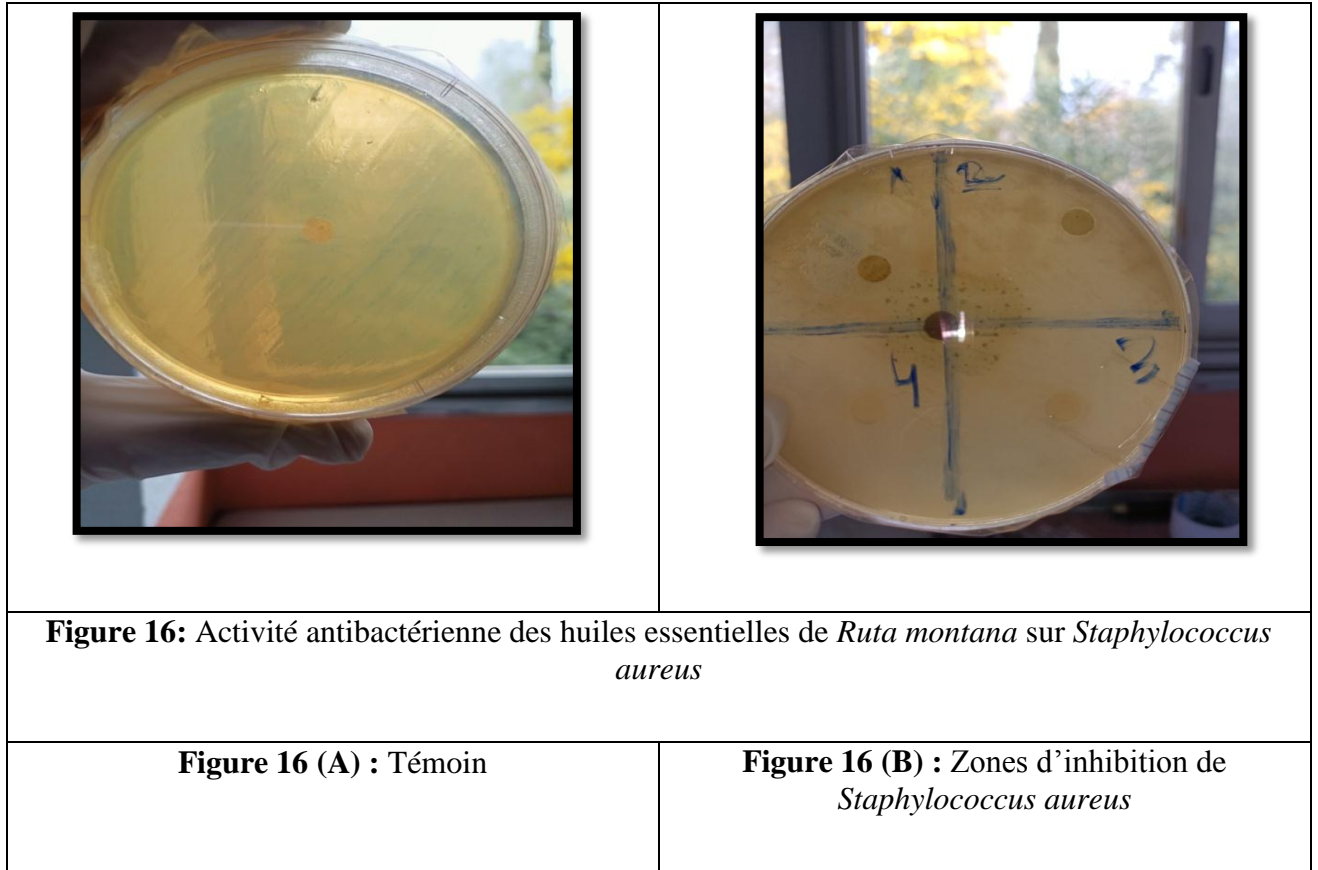
Selon **Kambouch et al., (2008)**, le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Ruta Montana* était de 1,63%.

### 2. Activité antibactérienne :

Nous avons évalué l'activité antibactérienne d'extrait de la plante *Ruta Montana* par la méthode des disques, cette activité a été révélée sur trois souches bactériennes de référence *Klebsiella Pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Pour chaque disque nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition de croissance (**Fig.14, Fig.15, Fig.16**). L'activité antibactérienne quand elle existe, est évaluée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques chargés en huile essentielle (**Tableau 05**). D'après **Celikel et Kevas (2008)** la sensibilité à l'HE est classée selon les diamètres (D) :

- ✓ Extrêmement sensible :  $D > 20\text{mm}$ .
- ✓ Très sensibles :  $15 < D < 19\text{mm}$ .
- ✓ Sensible :  $9 < D < 14\text{mm}$ .
- ✓ Non sensible :  $D < 8\text{mm}$ .





**Figure 16:** Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Ruta montana* sur *Staphylococcus aureus*

**Figure 16 (A) :** Témoin

**Figure 16 (B) :** Zones d’inhibition de *Staphylococcus aureus*

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau suivant :

**Tableau 05:** Diamètres des zones d’inhibition des différentes souches (en mm) obtenus avec les huiles essentielles de *Ruta montana*.

Les souches bactériennes	Figure	Témoin	HE diluée (diamètre en mm)
<i>Escherichia coli</i>	<b>Fig. 13 (B)</b>	Stérile	SM=6 10 <sup>-1</sup> =5 10 <sup>-2</sup> =16 10 <sup>-3</sup> =6 10 <sup>-4</sup> = 0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>Fig. 14 (B)</b>	Stérile	SM= 0 10 <sup>-1</sup> =12 10 <sup>-2</sup> =12 10 <sup>-3</sup> =6 10 <sup>-4</sup> =4
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Fig. 15 (B)</b>	Stérile	SM = 2 10 <sup>-1</sup> =15 10 <sup>-2</sup> = 1 10 <sup>-3</sup> = 0 10 <sup>-4</sup> = 0

A partir des résultats des diamètres des zones d’inhibition selon le tableau 05 et les figures 14, 15 et 16 nous avons noté ce qui suit :

- HE de *R. Montana* possède une forte activité contre les bactéries Gram négatives comparativement aux bactéries gram positif.
- Les HE de *R. Montana* ont un effet antibactérien très élevé contre les bactéries des souches *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* pratiquement à toutes les concentrations.
- En revanche, *S. aureus* possède un potentielle de résistance relativement élevée par rapport à *E. coli*. Ce qui indique une sensibilité plus marquée chez les Gram (-) par rapport aux Gram (+) vis-à-vis de l'extrait de *Ruta montana*.
- L'extrait éthanolique de *Ruta montana* présente une extrême sensibilité (33mm± 34mm) contre *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* suivies de *S. aureus* (18mm).

Nos résultats sont confirmés par de nombreuses études (**Lopez et al., 2005 ; Bozin et al.,2006 ; Bouzouita et al., 2008**) ayant montré que les bactéries Gram (-) sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram (+).

L'étude de Allouni (2018) ; a montré que tous les extraits de *Ruta montana* ont empêché la croissance des bactéries testés avec un diamètre de zone d'inhibition qui augmente proportionnellement avec les concentrations des échantillons testés ce qui est comparable aux résultats obtenus par notre étude.

L'étude de **Allouni (2018)** a également révélé que l'inhibition obtenue sur les souches de bactéries varie de 6,5mm à 34,5mm; de 6,5mm à 34,46mm et de 6,5mm à 32,5mm pour l'extrait alcaloïdique et l'extrait méthanoïque des graines et des feuilles respectivement. Il s'est avéré que toutes les bactéries testées ont été sensibles vis-à-vis des trois extraits notamment *Bacillus cereus* tous les extraits ont empêché la croissance des bactéries testés avec une concentration CMI=3,125mg/ml qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 6,5mm. L'effet de ces extraits est plus important que ceux obtenus avec les antibiotiques standards utilisés.

**Conclusion :**

En botanique et en pharmacie, les plantes médicinales sont reconnues pour offrir par leur administration un effet bienfaisant et thérapeutique sur l'organisme. A l'époque moderne les progrès de la biochimie et de l'analyse organiques, ainsi que ceux de la physiologie végétale ont permis de commencer un tri scientifique dans la masse des actions attribuées aux végétaux.

A l'issue du présent travail qui représente l'étude de l'activité antibactérienne de la plante *Ruta montana*, connue sous le nom Fidjel, de la famille des Rutaceae du l'Est du l'Algérie, et après extraction des huiles essentielles nous sommes arrivés à des résultats qui nous ont permis de déduire que cette plante possède une forte activité contre les bactéries Gram négatives comparativement aux bactéries gram positif.

Les résultats obtenus dans cette étude peuvent être approfondis par :

- Etude des méthodes d'extraction et leur influence sur la composition chimique et les capacités biologiques.
- L'étude de l'activité antioxydante, antimicrobienne et antivirale des HEs.
- Extraction des composés phénoliques des plantes testées et étude de leurs capacités biologiques.

### **Références bibliographiques**

**ALLON, k (2013)**. Composition chimique et activités antyoxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L), de la sauge (*Salvia officinalis* L), et de la rue des montagnes (*Ruta montan* L) . Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de magister en Agronomie, Alger.

**ALLOUNI, R (2018)**. Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana*. Thèse de doctorat en sciences. Université, Ferhat Abbas Sétif 1. P- 3; 9.

**ALLOUNI, R. (2018)**. Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana*.126page.these de doctorat, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie.

**AMOEN, A (1976)**. *Ruta montana*, la flore électronique de Tela Botanica.

**AVRIL J-L., DEBERNAT H., DENS F., MONTEIL H (1992)** bactériologie clinique .2 ème edition ellipses.Pp : 185,189 ,193.

**BAHORUN, T (1997)**. Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. *Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius*. 83-94.

**BARADUC R. , DARFEILLE - MICHAUD , A. , FORESTIER C. , JALLAT C. , JOLY B. , and LIVRELLY D. , ( 2000 )** . Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA. Pp : 1115-1126.

**BEAUDEUX J-L, DURAND.G., (2011)**. ‘‘Biochimie médicale Marqueurs actuels et perspectives (2e Ed.)’’ . ; Médecine sciences publications / lavoisier, Année 9/2011.

**BELAÏCH, R. And BOUJRAF, S. (2016)**. Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), pp.38-42.

**BELAICHE, P(1979)**. Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie, Tome 1. Ed. Maloine. Paris, 136-138.

**BELKASSAM, A., ZELLAGUI, A., GHERRAF, N., LAHOUEL, M ET RHOUATI (2011).** Essential oil composition of Algerian *Ruta montana* (Clus.) L. and its antibacterial effects on microorganisms responsible for respiratory infections. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 5(3), 264-268.

**BELLAKHDAR, J (2008).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press, Paris, France. P- 480; 2.

**BENDIF, H (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord et Fourr., thèse de doctorat, l'école normale supérieure de KOUBA-Alger, département des sciences naturelles, biotechnologie végétale, P. 26.

**BENNAOUM, Z. (2018).** Enveloppe écologique, caractères microphytodermiques et effets allélopathiques des composés phytochimiques des espèces du genre *Ruta* dans la région nord occidentale oranaise. Thèse doctorat. Université, DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES. P- 66.

**BONNIER, G.1999.** La Grande flore en couleur; Ed : Belin; Tome 3; p:205 - 206.

**BOTTINEAU, M. (2010).** Botanique, systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier, Paris, p: 772-773.

**BOUZOUITA N, KACHOURI F, BEN HALIMA M, CHAABOUNI M (2008).** Composition

**BOZIN B, MIMICA-DUKIC N, SIMIN N, ANACKOV G (2006).** Characterization of the

**BRUNETON, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation Lavoisier, Paris. P- 915.

**BRUNETON, J. (1999),** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Ed. Paris: Tec & Doc Lavoisier. caractères, les synonymes et les vertus générales), p 582- 583.

**CELIKEL, G (2008).** Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech J .food sci* ,volume 26,pages 174-181.

chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *J Soc Chim Tunis*, 10:119-25.

**DARDALHON, M. MASSY, B. NICOLAS, A. ET AVERBECK, D. (1998).** Mitotic recombination Localized DNA double-strand breaks are induced after 8-methoxypsoralen and UVA irradiation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Curr Genet*, 34: 30–42.

**DELARRAS C. , ( 2007 ) .** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôles sanitaire . Editions : médicales internationales . Paris : Lavoisier.357 , Pp : 248 , 250 , 339 .

**DELATTRE, J. BEAUDEUX J. L, ET BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). *Medicine/sciences* 2011; 27: 405-12.

**DJARRI, L., FERHAT, M., MERABET, G., CHELGHOUM, A., LAGGOUNE, S., SEMRA, Z., SMATI, F ET KABOUCHE, Z (2013).** Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta montana* from Constantine (Algeria). *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre* , 5 (4):70-73.

**DORMAN, H.J.D., DEANS, H.J.D. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2), 308–316.

**EFFENDI, L. YAJUN. Y, MATTHEOS, A. ET KOFFAS, G. (2008).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab.Eng*, 8: P- 172; 181.

**EL HAJI, M. (1995).** Contribution à l'étude des plantes toxiques médicinales dans les régions Nord du Maroc. (Provinces de Tanger, Tétouan, et Chefchaouan). Thèse de Doctorat vétérinaire, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc, 1995, P- 275.

**FLAMINI, G. CIONI, P.L., PULEIO, R., MORELLI, I., PANIZZI, L. (1999).** Antimicrobial activity of the essential oil of *Calamintha nepeta* and its constituent pulegone against bacteria and fungi. *Phytotherapy Research*. 13 (4), 349-351.rrq vv

**FOUIN-FORTUNET, H. TINEL, M. ET DESCATOIRE, V. (1990).** Inactivation of cytochrome P-450 by the drug methoxsalen. *J Pharmacol Exp Ther*, 236: 237- 47.

**FOURNIER, P. 1948.** Les plantes médicinales et vénéneuses en France. Ed Paul

**FRITCH, H et GRIESBACH, H. (1975).** Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem*, 14: P- 2437; 42.

**GHERRAF, N., ZELLAGUI, A., KABOUCHE, A., LAHOUEL, M., SALHI, R., RHOUATI, R. (2013).** Chemical constituents and antimicrobial activity of essential oils of *Ammodaucus leucotricus*. *Arabian Journal of Chemistry*. 10 (2), 2476-78.

**GIRAULT M., BOURGEON J (1971).** Les cahiers de biothérapie, Vol. 29, d'après <http://fr.wikipedia.org/wiki/Aromatogramme>

**GOUDABLE, J et FAVIER, A. 1997.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants.

**HAMMICHE, V et AZZOUZ, M (2013).** Les rues « ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité », phytothérapie 11 : 22-30.

**HAMMICHE, V., MERAD , R et AZZOUZ, M., (2013).** Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, Springer, p 212.

**HARBORNE, J.B et WILIAMS, C.A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992 Phytochemistry, 55. P- 481; 504.

**HERNANDEZ, OCHOA L.R (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse. P- 10.

**JOANNA, H (2012).** Le guide des huiles essentielles et leurs applications thérapeutiques. Le courrier du livre, paris.

**JOUGLARD, J. (2008).** Intoxications d'origine végétale. Encyclopédi médicochirurgicale, 16065 A20-6, Paris.

**Kambouche N, Merah B, Belahoual S, Bouayad J, Dicho . A, Lagunez.R .L (2006).** Étude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.

**KAMBOUCHE, N. MERAH, B. BELLAHOUEL, S. ET BOUAYED, J. (2008).** Chemical Composition and Antioxidant Potential of *Ruta montana L.* Essential Oil from Algeria. Journal of Medicinal Food, 11(3): 593- 595.

**KHADHRI, A. El MOKN, I. R. et SMITI, S. (2013).** Composes phenoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu: *Atractylis gummifera*. Revue Soc. Sci.Nat. de Tunisie 2012 - 2013 T: 39. P- 44; 52.

**KOSEK M.,BERN C.,GUERRANT R.L., (2003).** The global burden of diarrhoeal disease,as estimated from studies published between 1992and 2000.Bull world health organ.81:197-204.

**LAGHA, N et BENMESMOUDI (2015) .** Etude de la résistance aux antibiotiques des enterobactéries productrices de B- Lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hopital de Laghouat. Thèse de doctorat : Biologie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd . Pp : 04.

**LE MOINE, E. (2001).** Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : Molière (Paris). P- 92.

**LEHUCHER-MICHEL, M. P., LESGARDS, J. F., DELUBAC, O., STOCKER, P., DURAND, P ET LECHVALIER, TOME III(2001),** Paris, p : 356-361.

**LEON LEMINOR . , MICHEL. (1989).** Veron. Bactériologie Médicale.2eme Edition. Paris. , Pp: 396-795.

**LOPEZ P, SANCHEZ C, BATLLE R, NERIN C (2005).** Solid-and vapor-phase antimicrobial  
**MANDELL G. , BENNETT J. , AND DOLIN R. , ( 2009 ) .** Enterobacteriaceae , Principles and Practice of Infectious Diseases . 7th ed . Churchill Livingstone, An Imprint of Elsevier Pp : 56 . Page 56.

**MASRI, W., BELWAER, I., KHLIFI, F., NOUIOUI, A., BEN SALAH, D., AMIRA, D., HEDHILI, A (2015).** A propos d'un cas d'intoxication aigüe par *Ruta montana*, Acute poisoning by *Ruta montana*: A case report ; Phytothérapie, 13:36-38.

**MEDART, J (2009).** Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. Editions De Boeck Supérieur, p 49.

**MERGHACHE, S. HAMZA, M. ET TABTI, B. (2009).** Etude physicochimique de l'huile de *Ruta Chalepensis L.* de Tlemcen, Algérie. Afrique Science, 05(1): 67- 81.

Miller, P. 1785. Dictionnaire des jardiniers, ouvrage traduit de l'Anglais sr la huitième édition, p 410-411.

**MOHAMMEDI, H. MECHERARA-IDJERI, S et HASSANI, A (2019).** Variability in essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Ruta montana L.* collected from different geographical regions in Algeria. DOI: 10.1080/10412905.2019.1660238.

**NAUCIEL C. , VILDE JL . , ( 2005 ) .** Bactériologie médicale . Ed . Masson . France . Pp : 77 , 141.

**NDIAYE . , ADJAOUMOU KAÏRY . , EPOUSE LOUM . , ( 2005 ) .** Les entérobactéries secretrices de Beta - Lactamases à spectre élargi . Thèse de doctorat : Pharmacie . Dakar : Université Cheikh Anta Diop.2005.Pp : 07

**NORDMANN P. , CUZON G. , NAAS T. , ( 2009 ) .** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase - producing bacteria . Lancet Infect Dis , 9 ( 4 ) : Pp : 228-236 . Page 57

**NOVELLI, G. P. 1997.** Role of free radicals in septic shock. *J. Physiol. Nutrition clinique et métabolisme*, 11,115-120.

*Pharmacol*, 48: 517-527.

**POLLIO, A. DE NATALE, A. ET APPETITI, E. (2008).** Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (Rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *J. Ethopharmacol* 116: 82- 469.

**RASOOLI, I., FAKOOR, M. H., YADEGARINIA, D., GACHKAR, L., ALLAMEH, A et REZAEI, MB (2008).** *Food Chem*, 135-140.

**ROELANDTS, R. (2002).** Mutagenicity and carcinogenicity of methoxsalen plus UV-A. *Arch Dermatol*, 120: 9- 662.

**S. MANSOUR, M.A. TARIQ, M.A. YAHYA, S. RAFATULLAH, O.T. GINNAWI and A.M.AGEEL, J (1990).** *Ethnopharmacol*, 28: 305-312

**TAKHTAJAN, A. (2009).** *Flowering Plants*; Ed 2: Springer; p: 33 - 41, 375.

**TEIXEIRA, B. MARQUES, A. RAMOS, C. (2013).** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 43: 587- 595.

**THIELENS, A (1862).** *Flore medicale Belge*, p 255-256.

**TURGEON, M. (2001).** Profil des produits forestiers première transformation. Huiles essentielles. Gouvernement du Québec Ministère des Ressources naturelles, Bibliothèque nationale du Québec. P- 1.

**VANDEN, B.D.A., VLIETLNCKA, J. (1991).** Screening methods for antibacterial and antiviral agent form higher plants. *Academie Press*. 6, 47-58.

**VAUZOUR, D. ARNAUDINAD, V. KARISA, S. CHEZE, C. ET VERCAUTEREN, J. (2001).** Étude de la voie biogénétique menant aux flavan-3-ols". 2ème Journée Scientifique de l'Université Victor Segalen Bordeaux 2.

**VILLARS, M (1789).** *Histoire des plantes de Dauphiné (Contenant les espèces).*

volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(5) : 1822- 8.

**Web 9 : Bactériologie , 2003 :** Université PARIS - VI Pierre et Marie Curie . Faculté de Médecine Pitié - Salpêtrière , Bactériologie , DCEM1 , 2002-2003 , service de bactériologie  
Mise à jour mars le : 24 2003.122p.http

//www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf

**W-ERDMAN, J. BALENTINE, J.D. ARAB, L. BEECHER, G. DWYER, J. FOLTS, J. HARNL, Y. HOLLMAN, J.P. L-KEEN, C. MAZZA, G. MESSINA, M. SCALBERT, A. VITA, J. WILLIAMSON, G. ET BURROWES, J. (2005).** Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. Washington. Journal of Nutrition, (3) 137: 718- 737.

**WIART, C. (2006).** Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future; Ed: WORLD SCIENTIFIC; p: 401 - 416.

**WILLEM, JP. (2009).** 60 maux soignés par les huiles essentielles: l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les mini pockets de santé. P- 7; 17; 77.

**YAHYAOUI N. (2005)** - Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de Menthe Spicata L sur *Rhyzoperlu dominicu* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.

**YANISHLIEVA N.V., MARINOVA E.M., GORDON M.H. ET RANEVA V.G., (1999).**Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chem. 64: 59–66.

**YANO, Y., SATOMI, M., OIKAWA, H. (2006).** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibriopara haemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*. 111, 6-11.

## ***Annexe***

### **1. Préparation de milieu de culture Miller Hinton :**

38g de poudre dans un litre d'eau.

Placer le mélange dans un agitateur.

Verser le dans des flacons.

Placer les flacons Miller Hinton dans un autoclave pendant 2 H.

## *Valorisation de Ruta montana -pouvoir antibactérien-*

*Par : Derouiche Khaoula- Annan Ikram - Belhi Ikram -Bougueroua Chaima -*

### **Résumé :**

Depuis des décennies, l'humanité a utilisé, exploité les plantes comme remèdes pour les maladies humaines grâce à leurs richesses en composants des valeurs thérapeutiques.

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques, les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques : antitoxiques, anti-oxydantes, antibactériennes, antifongiques et insecticides et plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

Parmi les espèces les plus connues et utilisés, on trouve *Ruta montana*, communément appelée « Fidjel » par la population locale. Elle est très largement répandue en Afrique, particulièrement dans notre pays « l'Algérie ».

L'objectif de notre travail est valoriser cette plante en étudiant leur pouvoir antibactérien. Dans ce contexte, nous avons réalisé une extraction des huiles essentielles d'une plante de *Ruta montana* récolté de la région de Mila par technique éthanolique, par la suite une évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* a été effectuée par la méthode des disques, en mesurant la zone d'inhibition de croissance autour les disques.

L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de *Ruta montana* par entraînement à la vapeur d'eau a révélé un rendement de 0,35%.

Le test des disques a présenté une bonne activité antibactérienne des huiles essentielles à l'égard des souches pathogènes.

Les extraits de *Ruta montana* ont empêché la croissance des bactéries testés avec un diamètre de zone d'inhibition qui varie en fonction des concentrations des échantillons testés.

**Mots clés :** *Ruta montana*- Huiles essentielles- Activité antibactérienne- *Escherichia coli*- *Klebsiella pneumoniae* - *Staphylococcus aureus*.

# **Introduction**

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

# Chapitre II

## Matériel et méthodes

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

# Conclusion

# Annexe

# Références bibliographiques