

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique
Université de Ghardaïa



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par:

HERMA Anfal

TALEB AHMED Manal

Thème :

**Etude de l'activité antimicrobienne des
extraits des feuilles de *Ruta graveolens* de la
région de Zelfana- wilaya de Ghardaïa**

M. BELGHIT Saïd

Mme.BENSANIA Wafa

Melle. ROUARI Linda

M^{elle} BAALI Faiza

MCA Université de Ghardaïa

MCB Université de Ghardaïa

MCB Université de Ghardaïa

MCA Université de Ghardaïa

Président

Promotrice

Co-promotrice

Examinatrice

Année universitaire 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

Je remercie Dieu, car c'est par l'aide et la grâce d'Allah que nous avons pu achever ce modeste travail

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail...

À mon père, mon modèle et mon pilier, dont l'absence a laissé une empreinte profonde. Depuis ton départ, chaque jour est un défi, mais ton souvenir, ta force et ton amour m'accompagnent et me donnent le courage d'avancer. Tu n'es plus là physiquement, mais ton esprit veille sur moi à chaque étape. Ce travail t'est dédié avec émotion et gratitude. J'espère de tout cœur que, là où tu es, tu peux voir mon parcours et être fier de moi.

À ma chère mère, Safia, femme de cœur et de courage, qui a su nous protéger malgré les épreuves, et m'a appris à être forte, persévérante et fidèle à mes rêves. Ton amour inconditionnel, ta présence et tes sacrifices sont ma plus grande source de force. Merci pour tout. Mon ange gardien ton amour et ta présence dans ma vie et le fait d'être ma Mère continueront d'éclairer mon chemin.

Tu es et resteras la lumière de ma vie.

A mes bras droits: Messaoud, Amar, Djalil, et à mon petit frère « **SALIM** » mon épaule constante pour leurs patience, leurs conseil pour leurs véritable et sincère amour et leurs encouragements.

À ma sœur chérie «Fatiha » et leurs enfants **Marwa, Youcef, Sara, Djalil** ,Que Dieu te préserve à mes côtés et vous donne du succès dans votre vie.

A Toute ma famille, que je chéris pour être dans ma vie petite et grande.

A mes meilleurs amis d'enfance « Imen , Nafissa, Yassmine » et d'université« Amina , Messaouda, Anfel » je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

A mes camarades de la promotion du master 2025.

Mon binôme « Herma Anfel », je vous remercie pour votre soutien moral, votre patience et votre dévouement à ce travail.

A toutes les personnes qui je porte dans mon cœur.

Manel

Dédicace

*Je remercie **Dieu**, car c'est par l'aide et la grâce d'**Allah** que nous avons pu achever ce modeste travail.*

C'est avec un immense plaisir que je dédie ce modeste travail

*À ma chère **mère**, pour son amour inconditionnel, ses encouragements et ses sacrifices*

*À mon **père**, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordée*

*À mes adorables frères : **Ahmed et Anes***

*À mes chères sœurs : **Naïma et Amani***

À tous mes amis, pour leur soutien moral, leur patience et leurs encouragements tout au long de cette période

À tous ceux qui m'ont soutenu et qui m'ont soutenu, chacun par son nom et sa place dans mon cœur

À mes camarades de la promotion du master 2025

*Je le dédie également spécialement à ma partenaire : **Taleb ahmed manel***

Anfal

REMERCIEMENT

Louange à Dieu Tout-Puissant, Maître des cieux, qui nous a accordé la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à **Dr. BENSANIA Wafa**, maître au département de biologie à l'Université de Ghardaïa, pour avoir proposé le sujet de ce mémoire et pour avoir assuré son encadrement avec rigueur et bienveillance. Sa disponibilité, ses conseils éclairés et la confiance qu'elle nous a accordée ont été essentiels à la réalisation de ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements vont également à **Dr. ROUARI Linda**, co-encadreuse de ce mémoire, pour son accompagnement constant, sa patience, la richesse de ses conseils et son soutien précieux tout au long de ce projet.*

*Nous exprimons aussi notre gratitude aux membres du jury **M .elle BAALI Faiza** et **M.BELGHIT Saïd**, Maîtres de Conférences A de l'Université de Ghardaïa, pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à Madame **Baali Faïza** pour son aide précieuse, son accompagnement constant et ses conseils tout au long de ce travail.*

Nous souhaitons exprimer une reconnaissance particulière à l'ensemble de nos enseignants du département de biologie pour la qualité de leur enseignement, leur dévouement et leur transmission de savoir tout au long de notre parcours universitaire. Leur accompagnement a été pour nous une source d'inspiration et de motivation. Une mention spéciale est adressée à tous ceux qui, par leur bienveillance et leur passion pour l'enseignement, ont marqué notre formation et contribué à notre développement personnel et académique.

*Nos remerciements vont également à **Hicham** et **Bachir**, responsable du magasin des produits chimiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, pour sa disponibilité et son appui constant.*

*Nous remercions chaleureusement **M. MOULAY A.**, pour son engagement dans la gestion des laboratoires, ainsi que **M. BENSALAH B.**, pour ses efforts et la valeur de son travail, qui ont grandement contribué au bon déroulement de nos expériences.*

Enfin, nous tenons à remercier l'ensemble du personnel technique des laboratoires de notre faculté pour leur aide précieuse et leur collaboration tout au long de la réalisation de ce mémoire

ملخص الدراسة

. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم أنشطة جديدة محتملة لمركبات طبيعية مضادة للميكروبات، مستخلصة من أوراق نبات *Ruta graveolens* (المعروف محليًا باسم "فيجل")، التي جُمعت من منطقة زلفانة (ولاية غرداية). ويُعزى هذا الاهتمام إلى الاستخدامات التقليدية الواسعة لهذا النبات، مما يشير إلى امتلاكه إمكانات بيولوجية معتبرة. تم الحصول على المستخلصات بواسطة النقع البارد لمسحوق الأوراق في ثلاثة مذيبات مختلفة: الماء، الإيثانول، وأسيئات الإيثيل. وقد سُجل أعلى مردود استخلاص باستخدام المستخلص المائي بنسبة 24.64%. أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مركبات ذات نشاط بيولوجي، من بينها الفلافونويدات، التانينات، والقلويدات، كما أكدت التحاليل النوعية هذه النتائج. أما التحاليل الكمية فقد بينت أن المستخلص المائي كان الأغنى بالبولىفينولات الكلية (0.009 ± 15.54 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من الكتلة الجافة)، وبالفلافونويدات (0.126 ± 1.26 ملغ مكافئ الروتين/غ)، وكذلك بالتانينات المتكثفة (0.099 ± 0.034 ملغ مكافئ الكاتيشين/غ). في المقابل، سُجلت أعلى نسبة من الأحماض الفينولية في مستخلص أسيئات الإيثيل (0.000 ± 0.134 ملغ مكافئ حمض الكافيك/غ من الكتلة الجافة). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستخدام طريقة الانتشار على وسط الآغار، وقد أظهرت النتائج غيابًا عامًا للنشاط ضد معظم السلالات البكتيرية المختبرة، بينما لوحظ نشاط مضاد للفطريات متوسط (قطر منطقة التثبيط من 7 إلى 9 مم) مع مستخلصي أسيئات الإيثيل والإيثانول ضد *Candida albicans*. تشير هذه النتائج إلى أن *Ruta graveolens* يُظهر نشاطًا مضادًا للميكروبات ضعيفًا في ظل الشروط التجريبية المعتمدة، مما يستدعي إجراء دراسات إضافية لتقييم إمكاناته العلاجية بدقة وتحديد المركبات النشطة المسؤولة عن هذا النشاط.

الكلمات المفتاحية: *Ruta graveolens* ، الفحص الكيميائي النباتي، البولىفينولات، النشاط المضاد للميكروبات.

Résumé

Cette étude vise à évaluer de nouvelles activités antimicrobiennes naturelles à partir d'extraits des feuilles de *Ruta graveolens* (« Fidjel »), récoltées dans la région de Zelfana (Ghardaïa), plante reconnue pour ses applications traditionnelles. Les extraits ont été préparés par macération à froid de la poudre foliaire dans trois solvants (eau, éthanol et acétate d'éthyle), avec un rendement d'extraction maximal obtenu pour l'extrait aqueux (24,64 %). Le criblage phytochimique a révélé la présence de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. Les analyses quantitatives ont montré que l'extrait aqueux était particulièrement riche en polyphénols totaux ($15,54 \pm 0,009$ mg EAG/g MS), en flavonoïdes ($1,26 \pm 0,126$ mg ER/g MS) et en tanins condensés ($0,034 \pm 0,099$ mg EC/g MS), tandis que la teneur en acides phénoliques la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait à l'acétate d'éthyle ($0,134 \pm 0,000$ mg EAC/g MS). L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque a révélé une absence d'effet significatif contre la majorité des souches bactériennes testées, à l'exception d'une activité antifongique modérée (zones d'inhibition de 7 à 9 mm) observée avec les extraits éthanolique et à l'acétate d'éthyle vis-à-vis de *Candida albicans*. Ces résultats mettent en évidence une faible activité antimicrobienne de *Ruta graveolens* dans les conditions expérimentales appliquées, ce qui souligne la nécessité de recherches complémentaires afin de mieux caractériser son potentiel thérapeutique et d'identifier les composés bioactifs responsables.

Mots clés : *Ruta graveolens*, criblage phytochimique, polyphénols, activité antimicrobienne.

Abstract

This study aims to explore new natural antimicrobial agents derived from leaf extracts of *Ruta graveolens* "Fidjel" collected from the Zelfana region (Ghardaïa). This plant holds considerable potential for biological activity, largely due to its widely known traditional applications. The extracts were prepared by cold maceration of the leaf powder using three solvents (water, ethanol, and ethyl acetate). Among these, the aqueous extract yielded the highest extraction rate (24.64%). Phytochemical screening revealed the presence of bioactive compounds such as flavonoids, tannins, and alkaloids, confirmed through qualitative tests. Quantitative analyses indicated that the aqueous extract was the most efficient in extracting total polyphenols (15.54 ± 0.009 mg GAE/g DM), flavonoids (1.26 ± 0.126 mg QE/g DM), and condensed tannins (0.034 ± 0.099 mg CE/g DM). However, the highest content of phenolic acids was observed in the ethyl acetate extract (0.134 ± 0.000 mg CAF/g DM). Antimicrobial activity, evaluated using the disk diffusion method, generally showed no activity against most of the tested bacterial strains. However, a moderate antifungal activity (7 to 9 mm inhibition zones) was observed with the ethyl acetate and ethanolic extracts against *Candida albicans*. These results suggest that *Ruta graveolens* exhibits weak antimicrobial activity under the experimental conditions used, highlighting the need for further analyses to better assess its therapeutic potential and to identify the active compounds responsible.

Keywords: *Ruta graveolens*, phytochemical screening, polyphenols, antimicrobial activity.

ATBs : Antibiotiques.

ATCC: American Type Culture Collection.

CFI : Concentration Fongicide Inhibitrice.

CIP : Ciprofloxacine.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

COVID-19 : Corona Virus Disease 2019.

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde.

DO : Densités Optiques.

EAC : Equivalent d'Acide Caféique.

EAG : Equivalent d'Acide Gallique.

EC : Equivalent de catéchine.

ER : Equivalent de Rutine.

GC-MS: Gas Chromatography-Mass Spectrometry.

GEN: Gentamicine.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

MH : Gélose Mueller-Hinton.

MRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

ONUSIDA: Organisation des Nations Unies contre le SIDA.

PAL : Phénylalanine Ammonialyase.

PBP2a : Penicillin-Binding Protein 2a (*protéine de liaison à la pénicilline 2a*).

PH : logarithme négatif de la concentration en ions hydrogène (H^+).

PUVA : Psoralène + Ultraviolet A.

RAM : Résistance Antimicrobienne.

REO : huiles Essentielles de *Ruta graveolens* (*Ruta graveolens* essential oils).

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise.

Spp : Espèce (Species).

TPC : Total Phenolic Content .

UFC : Unité Formant Colonie.

UV : Ultraviolet, des rayonnements électromagnétiques.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition phytochimique de différent extraits de <i>Ruta graveolens</i>	12
Tableau 2: Criblage phytochimique de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	15
Tableau 3 : Echelle de sensibilité des germes	21
Tableau 4 : Caractérisation organoleptique des extraits foliaires de <i>Ruta graveolens</i>	23
Tableau 5: Criblage phytochimique des extraits des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	27
Tableau 6 : Évaluation des diamètres des zones d'inhibition bactérienne	41
Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne	43
Tableau 8 : Diamètres de zone d'inhibition de la croissance de <i>candida albicans</i> testé	46

Liste des figures

Figure 1: situation géographique de Zelfana par application de Google Earth	9
Figure 2: Planche botanique de rue	11
Figure 3: Extraction par macération	13
Figure 4: Evaporation des extraits bruts	14
Figure 5: préparation des extraits de <i>Ruta graveolens</i> pour l'activité antimicrobienne.	20
Figure 6: Repiquage des souches bactériennes par méthode de strie	20
Figure 7: Rendement de l'extraction des feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	25
Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	29
Figure 9: Teneur en polyphénols totaux de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	30
Figure 10: Courbe d'étalonnage de la rutine.....	32
Figure 11: Teneur en flavonoides des différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	32
Figure 12: Courbe d'étalonnage de la catéchine	34
Figure 13: Teneur en tannins condensés de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	35
Figure 14: Courbe d'étalonnage de l'acide caféique.....	37
Figure 15: Teneur des acides phénoliques de différents extraits de <i>Ruta graveolens</i>	38

Table des matières

Dédicace 1

Dédicace 2

Remerciement

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figure

Liste des annexes

Introduction1

Chapitre I Matériel et Méthodes

1. Présentation de la zone d'étude.....9

2. Matériel10

2.1. Matériel non biologique 10

2.2. Matériel biologique 11

2.2.1. Matériel végétal..... 11

2.2.2. Souches microbiennes testées 13

3. Méthodologie.....13

3.1. Préparation des extraits 13

3.2. Calcul du Rendement d'extraction 15

3.3. Criblage phytochimique 15

3.4. Analyses quantitatives..... 17

3.4.1. Dosage des phénols totaux 17

3.4.2. Dosage des flavonoïdes 18

3.4.3. Dosage des Tanins condensés 19

3.4.4. Dosage des acides phénoliques 19

3.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits du *Ruta graveolens* 20

3.5.1. Préparation des extraits et de l'inoculum 20

3.5.2. Méthode de diffusion des disques 21

3.5.2.a- L'activité antibactérienne.....21

3.5.2.b-L'activité antifongique21

Chapitre II Résultats et Discussion

1. Rendement d'extraction23

2. Criblage phytochimique26

3. Analyses quantitatives.....	28
3.1. Dosage des polyphénols totaux	29
3.2. Dosage des flavonoïdes	31
3.3. Dosage des tanins condensés.....	34
3.4. Dosage des acides phénolique	37
4. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	40
4.1. Evaluation de l'effet antibactérien des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	41
4.1.1. Test d'antibiogramme	41
4.1.2. Test d'antibiosensibilité par diffusion sur disque d'extraits de <i>Ruta graveolens</i>	43
4.2. Evaluation de l'effet antifongique des extraits de <i>Ruta graveolens</i>	47
Conclusion Générale	50
Références bibliographiques	52
Annexes	

Annexes 1 : Activité antimicrobienne des extraits aqueux, éthanolique et acétate d'ethyle de *Ruta graveolens* contre les souches testé.

Annexe 2 : Spectre d'action, mode d'action de Gentamicine et Ciprofloxacine.

Annexe 3 : Matrice de corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en tanins condensés et en acides phénols.

Introduction

Introduction :

Au fil des années, le terme microbiologie devient de moins en moins approprié comme terme générique pour les nombreuses disciplines qu'il tente d'englober. La bactériologie, l'immunologie, la virologie, la mycologie et la parasitologie ont chacune évolué pour devenir des disciplines distinctes et indépendantes. Elles sont réunies dans un seul ouvrage non pas parce qu'elles sont d'une manière ou d'une autre liées, mais simplement parce qu'elles traitent des agents de maladies infectieuses chez l'homme et des mécanismes de défense mis en œuvre par l'hôte **(Boucif, 2018)**.

Vers la fin des années 1970, la perspective d'une éventuelle disparition des maladies infectieuses commençait à émerger. Cet espoir reposait sur les avancées significatives dans leur prévention et leur contrôle, rendues possibles par l'amélioration des conditions d'hygiène, la mise en place de systèmes d'assainissement, l'introduction d'agents antimicrobiens, le développement de vaccins et les campagnes de vaccination en particulier celle ayant permis l'éradication de la variole –ainsi que sur des progrès sociaux notables. Cependant, l'émergence de nouveaux agents pathogènes, la propagation du sida, la montée de la résistance aux antibiotiques et le lien établi entre certaines infections et des maladies chroniques ont conduit, deux décennies plus tard, à reconsidérer l'idée d'une disparition des maladies infectieuses **(Ellwanger et al., 2021)**.

La relation, entre l'homme, et les microorganismes est complexe, variant entre une symbiose bénéfique et une pathogénèse capable de provoquer des maladies sévères. Tout au long de l'histoire, ces interactions ont profondément marqué l'humanité, causant de lourdes pertes **(Chaouche, 2015)**. En effet, les êtres humains sont continuellement exposés à des agents infectieux d'origine bactérienne, virale, fongique ou parasitaire. Heureusement, le système immunitaire joue un rôle essentiel en limitant leur prolifération et en maintenant un équilibre. Cependant, lorsqu'une infection échappe à cette régulation, elle peut provoquer des complications sévères, voire mortelles **(Cumming et al., 2024)**.

Les infections microbiennes résultent de l'invasion et de la multiplication de microorganismes pathogènes dans un hôte, entraînant des lésions tissulaires par leur prolifération et la production de toxines. Elles surviennent lorsque l'équilibre entre les défenses immunitaires et les facteurs de virulence du pathogène est rompu. En fonction de leur extension, ces infections peuvent être localisées, touchant un organe spécifique, ou systémique lorsqu'elles se propagent

par la circulation sanguine. Les agents infectieux pénètrent dans l'organisme par différentes voies : respiratoire, digestive, génito-urinaire ou encore cutanée **(Prabhu, 2023)**.

Cette réalité se reflète dans les statistiques : en 2020, les infections ont causé environ 1 millions de décès, soit 9 % de la mortalité mondiale **(OMS, 2021)**. Parmi les principales causes, les infections respiratoires aiguës, arrivaient avec 2,5 millions de morts, suivies selon le rapport de l'ONUSIDA de maladies liées au SIDA 650 000 [500 000-820 000] personne, la COVID-19(8,8 millions), des maladies diarrhéiques (1,5 millions), de la tuberculose (1,25 million) principale cause de mortalité chez les décès liées à la résistance aux antimicrobiens. Du paludisme (597 000 décès). La rougeole entraîne environ 136 000 décès **(OMS, 2022)**, soit une augmentation de 43 % par rapport à 2021. Cela remonte à la baisse de la couverture vaccinale contre la rougeole. D'autres infections ont aussi entraîné des décès, bien que leur impact ait été plus limité.

Au XXe siècle, pour lutter contre ces infections, des substances antimicrobiennes appelées antibiotiques sont utilisées. Ces molécules, qu'elles soient d'origine naturelle ou synthétique, agissent selon deux modes : l'effet bactéricide, qui détruit directement les bactéries, ou l'effet bactériostatique, qui inhibe leur croissance et leur multiplication sans les tuer directement **(Ishak et Mazonakis, 2024)**. Elles ciblent des processus métaboliques spécifiques aux bactéries sans affecter directement les cellules de l'organisme humain. Parmi les quelles :les bêta-lactamines (inhibent la synthèse de la paroi bactérienne), les fluoroquinolones (bloquent la réplication de l'ADN), les macrolides et tétracyclines (empêchent la synthèse des protéines essentielles à la survie bactérienne), la pénicilline (empêche la formation de la paroi cellulaire en bloquant la trans-peptidation lors de sa synthèse), l'érythromycine (agit en se liant à la sous-unité ribosomique 50S, inhibant la peptidyl-transférase et stoppant ainsi la synthèse des protéines), le chloramphénicol (bloque la peptidyl-transférase en se fixant sur les ribosomes), la rifampicine (inhibe l'ARN polymérase et empêche ainsi la transcription de l'ADN en ARN), la tyrocidine (perturbe l'intégrité de la membrane cellulaire, affectant ses fonctions essentielles), la streptomycine (se lie aux ribosomes 30S et bloque l'incorporation des acides aminés dans les peptides, perturbant ainsi la synthèse des protéines) **(Mushtaq et al., 2021)**.

Cependant, l'usage excessif et inapproprié des antibiotiques a favorisé l'émergence de souches bactériennes résistantes. Dans lequel, la résistance antimicrobienne (RAM) représente l'une des principales menaces mondiales pour la santé publique et le développement. En 2019, il a été estimé que la RAM bactérienne a directement causé 1,27 million de décès dans le monde

et a contribué à 4,95 millions de décès (OMS, 2023). Ces bactéries ont développé divers mécanismes de défense pour contrer l'action des antibiotiques. Parmi ces mécanismes, on retrouve la production d'enzymes inactivant les antibiotiques, des modifications dans la structure des cibles d'action des antibiotiques, la substitution de ces cibles, des altérations de la perméabilité membranaire aux antibiotiques, la formation de biofilms et l'activation de systèmes d'efflux. A cause de ces résistantes rendant certaines infections plus difficiles à traiter (Lemaoui et al., 2017).

De ce fait, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a établi une liste des pathogènes résistants aux antibiotiques prioritaires, incluant douze familles bactériennes menaçant la santé. Ces pathogènes sont classés par niveau d'urgence, dont le groupe critique inclut *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et certaines *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Serratia*). Le groupe à haute priorité comprend *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, et *Helicobacter pylori*, tandis que le groupe à priorité moyenne regroupe *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Shigella spp.* (OMS, 2017). Ainsi, des pathogènes comme : *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*, ont développé des mécanismes de résistance (les biofilms fongiques) présentant une tolérance élevée à la plupart des antifongiques compromettant l'efficacité des traitements actuels (Peyclit et al., 2021).

Malgré les succès indéniables de la chimiothérapie antibiotique, qui a sauvé d'innombrables vies au cours des trois dernières décennies, les microbes continuent de causer des infections qui nécessitent une grande attention de la part des médecins (Walsh et Wanbcezwicz, 2013). Des découvertes nouvelles et surprenantes concernant les agents infectieux, leurs mécanismes de résistance et leur comportement à différents niveaux, moléculaire, cellulaire et organique, sont constamment rapportées. Cela souligne la nécessité de rationaliser l'utilisation des antibiotiques et de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour limiter la propagation des infections résistantes. (Brooks & Brooks, 2014)

Dans ce contexte, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) souligne l'importance cruciale de lutter contre les maladies infectieuses et la résistance aux antimicrobiens. Cette dernière menace le cœur même de la médecine moderne et la viabilité à long terme d'une riposte efficace de la santé publique mondiale face aux infections émergentes. Pour y faire face, des stratégies mondiales ont été mises en place, telles que le plan d'action mondial de l'OMS contre

la résistance antimicrobienne, qui vise à promouvoir un usage raisonné des antimicrobiens, renforcer la surveillance et développer la recherche. **(Angot, 2021)**

En parallèle, l'approche "Une seule santé" (One Health) s'impose comme un pilier essentiel, en intégrant la santé humaine, animale et environnementale dans une vision holistique de la prévention **(Zinsstag et al., 2015 ; Ellwanger et al., 2021)**. Cette approche permet une meilleure anticipation des menaces sanitaires et favorise le développement d'alternatives thérapeutiques comme les vaccins, les bactériophages ou les peptides antimicrobiens, réduisant ainsi la dépendance aux antibiotiques classiques. L'efficacité de ces actions repose sur une coordination internationale, une veille scientifique proactive et des systèmes de santé robustes capables de détecter et de répondre rapidement aux crises infectieuses **(Desenclos et al., 2004)**. En favorisant une collaboration étroite entre ces domaines, cette approche permet d'élaborer des stratégies préventives plus efficaces, de réduire l'usage inapproprié des antimicrobiens et de promouvoir des alternatives thérapeutiques durables, telles que l'exploitation des plantes médicinales aux propriétés antimicrobiennes prometteuses **(Sahli, 2017)**.

Dans ce cadre, les plantes médicinales suscitent un intérêt croissant en tant que sources potentielles de nouveaux agents antimicrobiens. Des recherches sont en cours pour identifier et isoler des composés actifs présents dans diverses plantes, dans le but de développer de nouveaux traitements capables de surmonter la résistance actuelle aux médicaments **(Derbak et al., 2024)**. Par exemple, l'unité de recherche Resinfit de l'université de Limoges se consacre à la lutte contre l'antibiorésistance. Cette approche s'inscrit dans la stratégie globale de l'OMS visant à encourager l'innovation et les investissements dans la recherche et le développement de nouveaux médicaments antimicrobiens, y compris ceux dérivés de sources naturelles **(OMS, 2022)**.

Il convient de souligner que, bien qu'encore à l'étude, les remèdes à base de plantes suscitent un intérêt croissant, notamment en raison de leur usage traditionnel largement reconnu. Dans un contexte , la recherche de nouvelles sources thérapeutiques s'impose comme une nécessité. Les plantes médicinales constituent une alternative prometteuse, en raison de leur richesse en composés bioactifs dotés de propriétés antimicrobiennes **(Chaouche, 2015)**. L'Organisation mondiale de la santé prévoit que la dépendance mondiale aux traitements à base de plantes médicinales augmentera dans les années à venir **(Özay, 2024)**.

Les plantes médicinales sont de véritables usines naturelles produisant des composés précieux. Depuis des siècles, l'être humain utilise différentes parties de ces plantes (feuilles, racines ou fleurs) pour soigner diverses maladies. On estime qu'environ 80 % de la population mondiale a recours aux plantes médicinales pour répondre à ses besoins de santé de base. La relation entre les plantes, les médicaments et l'homme retrace l'histoire même de l'humanité. Ces plantes produisent des substances naturelles qui présentent un fort potentiel pour le développement de traitements modernes, en particulier dans le traitement de maladies incurables. En effet, les plantes produisent plusieurs classes de composés bioactifs reconnus pour leurs activités pharmacologiques. Parmi les plus connus figurent les stéroïdes, les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les huiles essentielles, qui possèdent diverses propriétés biologiques. Au fil du temps, de nombreuses méthodes ont été mises au point pour extraire et isoler ces composés (**Sultana et al., 2024**).

Parmi ces plantes, la famille des Rutacées regroupe une grande variété d'espèces environ 2070 espèces réparties sur 150 à 170 genres, et elle appartient à l'ordre des Sapindales. Les membres de cette famille sont principalement des arbustes ou des arbres, et leur distribution s'étend à travers le monde, principalement dans les régions tropicales et tempérées chaudes. Ces plantes se caractérisent par des feuilles aromatiques qui produisent des glandes huileuses, et bien que leurs fleurs soient généralement parfaites, il arrive qu'elles soient unisexuées. La famille des Rutacées est particulièrement réputée pour sa richesse en composés phytochimiques, conférant à ses membres des propriétés médicinales reconnues (**Sultana et al., 2024**).

En Algérie, le genre *Ruta* est principalement présent dans les zones montagneuses de l'intérieur, notamment sur l'Atlas Saharien et dans les pelouses arides. Il regroupe huit espèces, incluant des arbustes à feuilles caduques ou persistantes, ainsi que des sous-arbrisseaux et des herbacées vivaces. Ces plantes sont adaptées aux milieux secs et rocheux de la région méditerranéenne, s'étendant du nord-est de l'Afrique jusqu'au sud-ouest de l'Asie. Leurs fleurs et leurs feuilles sont connues pour leur arôme caractéristique. De plus, il existe plusieurs espèces parmi lesquelles: *Ruta chalepensis* (Rue d'Alep), *Ruta angustifolia*, *Ruta montana* (Rue des montagnes.), *Ruta graveolens* (Rue domestique, Rue des jardins, Rue commune) qu'elles sont connues par leurs activités biologiques (**Abdi et Tirouche, 2022**).

Ruta graveolens L. est une plante arbustive et pérenne originaire de la région méditerranéenne, appartenant à la famille Rutacées. Elle a été introduite du sud de l'Espagne

au Mexique et dans les régions tropicales d'Amérique. Aujourd'hui, *R. graveolens* est cultivée à travers le monde, notamment en Europe, ainsi que dans plusieurs pays d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du Sud, tels que l'Éthiopie, la Chine et le Japon (**Luo et al., 2024**). Elle présente un large spectre d'activités biologiques, parmi lesquelles on note : antioxydants, anti-inflammatoire, antidiabétique, sédative et spasmolytique. Elle est également utilisée en thérapie PUVA (Psoralène + Ultraviolet A) pour traiter des maladies de la peau comme le vitiligo et le psoriasis (**Naikodi et al., 2023**). Ces activités biologiques de la plante *R. graveolens* consiste grâce à leur richesse en composés bioactifs, notamment des coumarines (simples, furanocoumarines, dihydrofuranocoumarines), des acides phénoliques (comme l'acide férulique, caféique et chlorogénique), divers, types d'alcaloïdes (acridiniques, quinoléiniques, furoquinoléiniques), des flavonoïdes (rutoside, quercétine, kaempférol) ainsi qu'une huile essentielle (0,2 à 0,7 %) (**Szewczyk et al., 2022**).

Aussi, cette plante connue aux multiples usages, notamment dans les domaines alimentaire (aromate) , cosmétique et pharmaceutique pour ses propriétés antioxydants ,anti-inflammatoires, antiparasitaires et analgésiques. En plus, selon l'étude de (**Carvalho et al., 2015**), l'extrait foliaire de *R. graveolens* a également montré une activité mutagène dans des essais sur *Salmonella spp.* En médecine traditionnelle, elle est reconnue pour ses effets thérapeutiques variés, notamment en Iran, en Amérique latine et en Chine. Elle est réputée pour éliminer les toxines, réduire la chaleur corporelle, fluidifier le sang et dissiper les stagnations sanguines. Elle est ainsi prescrite dans les cas de fièvre, de rhume, de douleurs rhumatismales, de paralysie, de convulsions infantiles, de plaies infectées, de morsures venimeuses, d'aménorrhée, ainsi que diverses affections cutanées et fiévreuses. Ces usages sont documentés dans plusieurs textes médicaux anciens, bien que leur efficacité doive encore être validée scientifiquement (**Luo et al., 2024**).

Par ailleurs, cette plante suscite aujourd'hui un grand intérêt pour leur activité antimicrobienne. Cette activité serait liée à la richesse de la plante en composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les huiles essentielles (**Feng et al., 2024**), qui peuvent posséder une capacité inhibitrice contre plusieurs micro-organismes. Cette capacité s'explique par le potentiel de leurs métabolites secondaires à inhiber directement les agents infectieux, notamment les composés phénoliques, qui perturbent les fonctions vitales des micro-organismes en se liant à leurs protéines et polysaccharides. Ainsi, les flavonoïdes et les terpénoïdes altèrent les membranes microbiennes, entraînant leur désintégration. Aussi, certains flavonoïdes, alcaloïdes et terpénoïdes bloquent les pompes à efflux, empêchant les bactéries

d'expulser les antibiotiques. D'autres composés comme les quinones et les terpénoïdes ciblent les protéines PBP2a. Par ailleurs, les polypeptides végétaux empêchent l'adhésion des agents pathogènes aux cellules hôtes. De plus, certaines substances végétales préviennent la formation des biofilms (structures protectrices qui rendent les bactéries résistantes) comme les huiles essentielles contre *Candida albicans* (Chaouche, 2015). Ces propriétés suggèrent le potentiel de *Ruta graveolens* comme alternative naturelle dans la lutte contre les infections.

Dans le cadre de l'élargissement du spectre d'activités biologiques des espèces locales et de la valorisation des ressources biologiques, le présent travail vise à évaluer l'activité antimicrobienne des composés bioactifs d'une plante médicinale, *Ruta graveolens*, récoltée de la région de Zelfana (wilaya de Ghardaïa), sur certaines souches microbiennes impliquées dans des infections et présentant des résistances acquises aux antibiotiques. De ce fait, l'activité des extraits végétaux a été testée contre plusieurs micro-organismes pathogènes d'intérêt médical, à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et la levure *Candida albicans*.

Cette étude vise à évaluer les propriétés antimicrobiennes de *Ruta graveolens* à travers une approche expérimentale. Elle est structurée en trois parties principales :

- Introduction générale : Présente le contexte scientifique lié à l'utilisation croissante des plantes médicinales, en particulier dans la lutte contre les infections microbiennes, et définit les objectifs spécifiques de l'étude.
- Étude expérimentale :
 - ❖ Le premier chapitre décrit les méthodes utilisées, notamment la préparation des extraits dans divers solvants, les analyses phytochimiques, la sélection des souches microbiennes, et la méthode de diffusion sur disque.
 - ❖ Le second chapitre présente les résultats obtenus sur étude phytochimique et leur activité antimicrobienne, suivis d'une discussion comparée aux données de la littérature.
- Conclusion générale : Résume les principaux résultats, souligne le potentiel antimicrobien de *Ruta graveolens*, et propose des perspectives de recherche futures. Une bibliographie complète est également incluse.

Chapitre I

Matériel et Méthodes

1. Présentation de la zone d'étude

Le matériel végétal a été récolté de la commune de Zelfana, une localité saharienne faisant partie de la wilaya de Ghardaïa, en Algérie. Cette région se situe à environ 65 kilomètres au nord-est du chef-lieu de wilaya. Elle est localisée géographiquement à une latitude de 32°23'50" Nord et une longitude de 4°13'34" Est (**Wikipédia**), ce qui la place au cœur du désert septentrional algérien (**Figure 01**).

Grâce à sa position géographique, Zelfana bénéficie d'un climat aride caractéristique du Sahara, ce qui confère à la région des particularités écologiques intéressantes à étudier dans le cadre de travaux scientifiques.

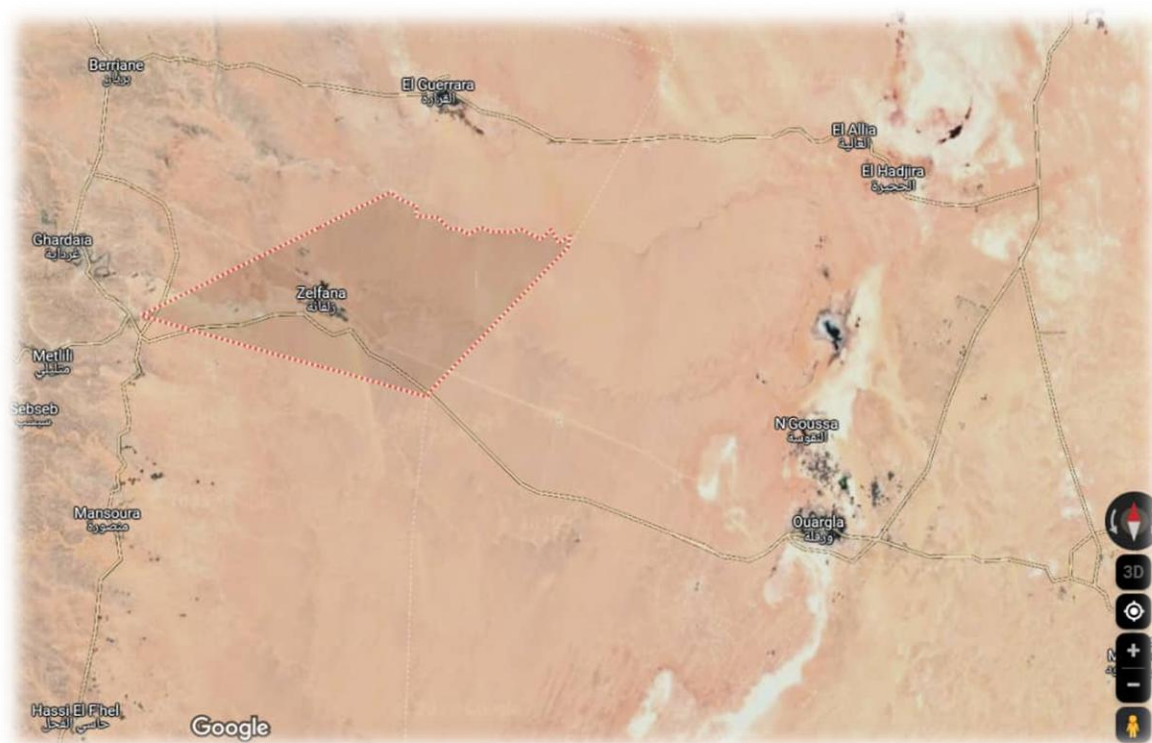


Figure 1: Situation géographique de Zelfana par application de Google Earth.

2. Matériel

2.1. Matériel non biologique

- **Les produits chimiques et les solvants organiques utilisés :** Hydroxyde de sodium (NaOH), Chlorure de fer (FeCl_3), Chloroforme (CHCl_3), Acide sulfurique (H_2SO_4), Acide chlorhydrique (HCl), Solution d'ammoniac (NH_4OH), Eau distillée (H_2O), réactif de Folin-Ciocalteu, Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$), Chlorure

d'aluminium (AlCl_3), Rutine, Vanilline, Acide acétique glacial, Catéchine, Réactif d'Arnow, Acétate d'éthyle, Éthanol.

- **Les milieux de culture:** gélose Mueller-Hinton (MH), gélose Saboraud.
- **Antibiotiques :** Ciprofloxacin et Gentamicine. Ils ont été sélectionnés pour leur disponibilité et de leur efficacité sur les souches bactériennes à tester.
- **Les équipements :** utilisés pour notre expérimentation incluent un évaporateur rotatif de type Heidolph (Allemagne), une balance (Ohaus, Chine), un spectrophotomètre UV-visible (Secomam, France), une étuve (Mettler, Allemagne) et un bain-marie (Mettler, Allemagne).

2.2. Matériel biologique

2.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est les feuilles de *Ruta graveolens*, d'origine de "Zelfana-Ghardaïa". La récolte a été effectuée au cours du mois Janvier 2025.

Ruta graveolens, appelée communément rue officinale, En grec ancien, le terme *Rut* signifie « aide » ou « sauveur », tandis que *graveolens* fait référence à sa « forte odeur ». C'est une plante médicinale aromatique appartenant à la famille des Rutacées.

Elle est originaire du bassin méditerranéen, ainsi répandue dans plusieurs régions tempérées du monde notamment en Europe du Sud, en Afrique du Nord et en Asie (Inde et Chine) (Shahrajabian, 2024).

Elle pousse naturellement sur des terrains rocailleux, secs et ensoleillés, mais elle est également cultivée pour ses propriétés médicinales et ornementales. La rue préfère un climat chaud et modérément humide, avec un sol bien drainé et une bonne exposition au soleil.

Elle tolère les conditions climatiques variées, allant de la sécheresse aux températures froides, ce qui la rend adaptable à différents écosystèmes (Luo et al., 2024).

R. graveolens ou « rue du jardin » est une plante herbacée vivace pouvant atteindre jusqu'à 1 mètre de hauteur. Elle se distingue par ses feuilles vert bleuté, longues de 6 à 12 cm, finement divisées en segments ovales, et recouvertes de glandes translucides contenant des huiles essentielles. Ces feuilles dégagent une odeur forte et caractéristique lorsqu'on les froisse.

Ses tiges deviennent ligneuses près de la base tout en restant herbacées vers les extrémités (Özay, 2024).

La floraison a lieu entre mars et juin, avec de petites fleurs jaune vif mesurant environ 2 cm de diamètre, regroupées en ombelles. Les fleurs possèdent quatre pétales, huit étamines et un ovaire divisé en quatre loges. Après la floraison, la plante produit un fruit capsulaire contenant des graines brun foncé, de forme réniforme.

Par son port touffu, ses couleurs distinctives et son parfum, *R. graveolens* est facilement reconnaissable et souvent utilisée à des fins décoratives en plus de ses usages médicinaux (Luo et al., 2024).

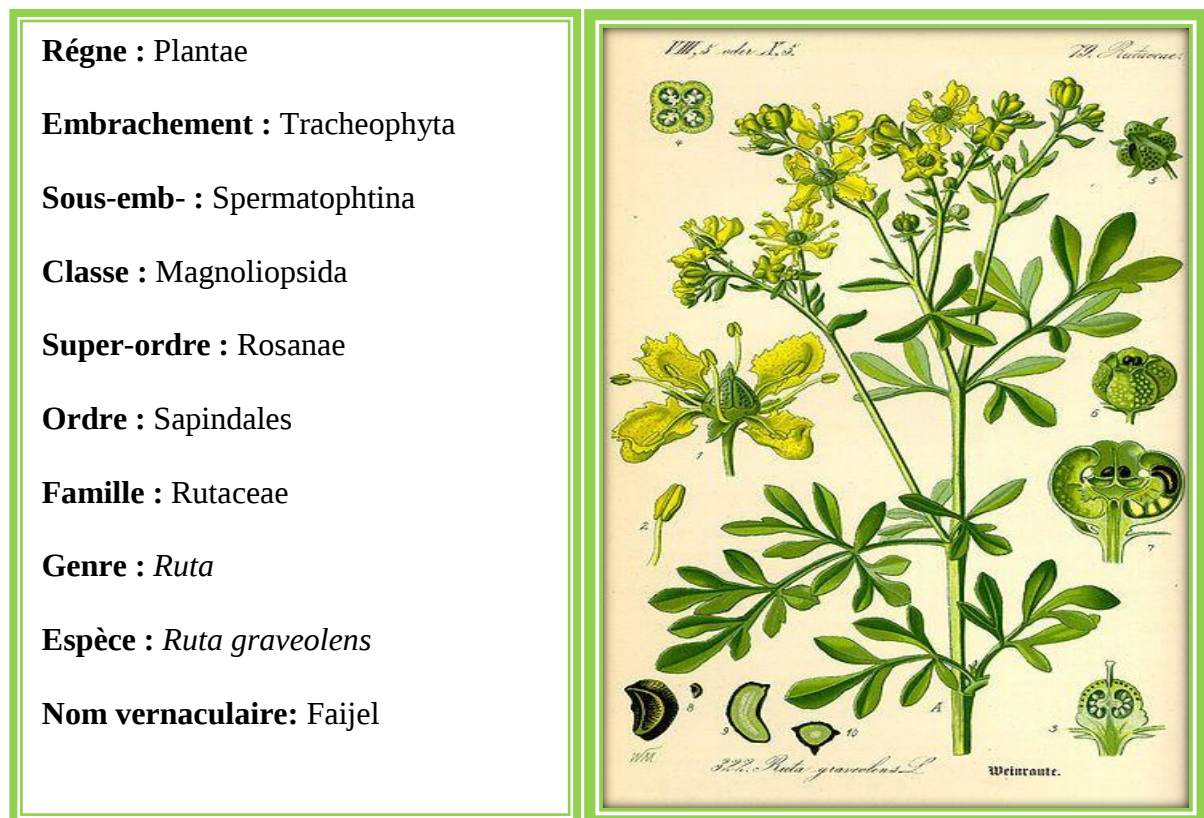


Figure 2: Planche botanique de rue (Maifi et Salmi, 2017)

Depuis l'Antiquité, *Ruta graveolens* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. En plus de ses applications thérapeutiques générales.

Cette plante médicinale est connue pour être riche en composés phytochimiques bioactifs, comprenant notamment des huiles essentielles, des coumarines, des flavonoïdes, des alcaloïdes acridoniques et quinoléiques, des furoquinolines, des tanins et glycosides, des

saponines et des terpénoïdes (Özay, 2024). D'après les études, plus de 200 constituants chimiques ont été identifiés dans cette espèce, répartis entre les parties aériennes et les racines. Les feuilles de *R. graveolens* renferment des alcaloïdes appelés gravéoline et principalement la rutine, un flavonoïde actif reconnu pour ses propriétés thérapeutiques (Özay, 2024).

Tableau 1 : Composition phytochimique de différent extraits de *Ruta graveolens* (Özay, 2024).

Type d'extrait	Composés identifiés
Extrait éthanolique	2-décanone, 2-dodécanone, 2-nonanol, 2-nonanone, 2-tridécanone, 2-undécanol, 2-undécanone, dihydroxymaltol, acide dodécanoïque, élémol, géyrène, graveoline, pipéronylacétone, acétate de sec-undécyle, varamol-106
Extrait aqueux	Sinapoylféruloyl dihexoside (ex. 1-sinapoyl-2-féruloylgentiobioside), bergaptène, isopimpinelline, isorhamnétine, isorhamnétine-3-O-rutinoside, kokusagimine, O-méthyl-daphnorétine, quercétine-3-O-glucosyl-rhamnosyl galactoside, quercétine-3-O-rutinoside (rutine), rutamarine, skimmianine, xanthotoxine
Extrait hydro-alcoolique	Acide 4-O-féruloylquinique, acide 4-O-p-coumaroylquinique, 6,8-C-dihexosyl-apigénine, 7,30-O-diméthyl-gossypétine-3-O-rutinoside, acacétine, cnidioside A, disinapoyldihexoside (ex. 1,2-disinapoylgentiobioside), furanocoumarine (ex. isorutarine), gentiobiose, ranupénine-3-O-rutinoside

2.2.2. Souches microbiennes testées

Dans cette étude, trois souches bactériennes et une souche fongique, fréquemment impliquées dans les pathologies humaines, ont été sélectionnées à partir de la collection internationale américaine (American Type Culture Collection ; ATCC) à savoir :

- *Staphylococcus aureus*, bactérie à Gram positif, ATCC 29213.
- *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie à Gram négatif ATCC 27853.
- *Escherichia coli*, bactérie à Gram négatif ATCC 25922.
- *Candida albicans*, ATCC 10231.

Ces souches ont été fournies par le laboratoire de recherche de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, d'Université de Ghardaïa. Toutes les souches ont été stockées à 4°C dans un réfrigérateur jusqu'à leur utilisation.

3. Méthodologie

3.1. Préparation des extraits

Les feuilles récoltées de *Ruta graveolens*, de la région de Zelfana-Ghardaïa, ont été nettoyées avec l'eau distille et étalées sur une couverture propre pour les séchées à l'aire libre et à l'abri de la lumière durant quelques jours. Après le séchage, elles ont été broyées très fine et conservées dans des bouteilles en verre portant des étiquettes à température ambiante jusqu'à leurs utilisations.

Dans cette étude, l'extraction des molécules bioactives a été effectuée par une macération à froid. Cette méthode consiste à laisser la poudre végétale en contact avec le solvant, avec ou sans agitation pour extraire les principes actifs (Ben Saleh *et al.*, 2021). En effet, trois solvants de polarités différentes ont été utilisés pour maximiser l'extraction d'une variété de composés qu'ils sont : Éthanol, Acétate d'éthyle, Eau distillée (Diem Do *et al.*, 2014).

Protocole expérimental : Une quantité de 10 g de poudre végétale des feuilles de *Ruta graveolens* a été introduite dans des flacons contenu 100 mL de chacun des solvants (éthanol 70%, acétate d'éthyle et eau distillée), soit un rapport solide/liquide de 1:10 (p/v). Les mélanges ont été laissés à l'abri de la lumière et à température ambiante (Figure 3).

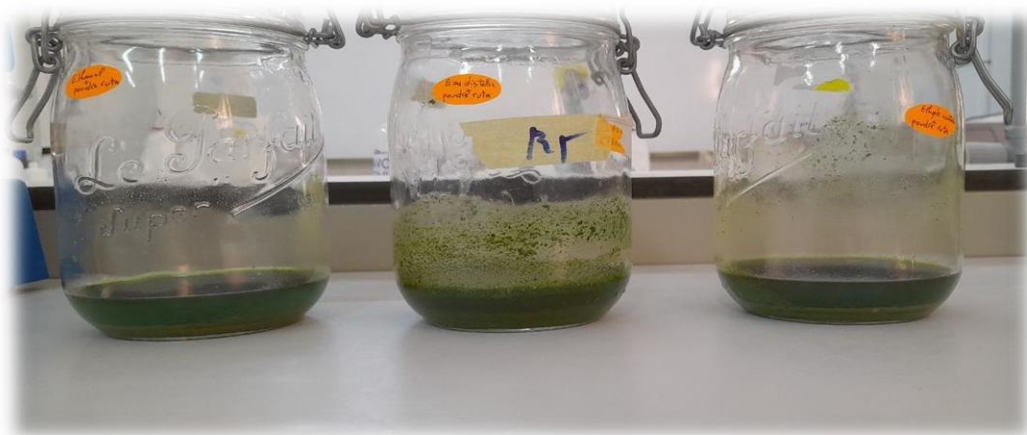


Figure 3: Extraction par macération (Photo original 2025).

Après 48 heures, les macérats ont été filtrés à l'aide de papier filtre (type Whatman N°1) afin d'éliminer les débris végétaux. Les filtrats obtenus, représentant les extraits bruts, ont ensuite été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif pour éliminer les solvants. Par la suite, les concentras ont été récupérés à l'aide de petits volumes de solvants, puis conservés dans des flacons ambrés à 4 °C jusqu'à leur utilisation. (**Figure 4**).



Figure 4: Evaporation des extraits bruts (**Photo originale 2025**).

3.2. Calcul du Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre la masse du extrait sec obtenu et la masse de la matière végétale sèche, et en exprimant ces résultats en pourcentage (**Ould elhadj et al., 2006**). Le rendement de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = ((M_{\text{ext}} / M_v) \times 100)$$

R : Rendement(%).

M (ext) : Masse du résidu sec d'extrait (**g**).

M (v): Masse de matière végétale initiale (**g**).

3.3. Criblage phytochimique

Ce procédé est une étape préliminaire essentielle dans l'étude des extraits végétaux. Il s'agit d'un ensemble de tests qualitatifs ayant pour objectif de détecter la présence ou l'absence des grandes classes de métabolites secondaires dans une plante à partir de sa poudre ou de ses extraits infusés. Il permet notamment d'identifier les molécules mises en évidence : les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes, coumarines et quinones libres), les composés

terpéniques (terpénoïdes, stéroïdes et saponines), les composés azotés (alcaloïdes) et les composés réducteurs (**Chaouche, 2015**).

Ces tests reposent principalement sur des réactions colorimétriques ou de précipitation, simples à mettre en œuvre, qui produisent un changement de couleur ou la formation d'un précipité en présence de certaines familles de composés chimiques. Ainsi, ils permettent de fournir une première indication de la composition chimique des extraits analysés (**Habera et Laoudi, 2019**).

Le tableau suivant regroupe les différentes réactions chimiques et les méthodes spécifiques utilisées pour la mise en évidence de chacun de ces composés secondaires (**Tableau 1**).

Tableau 2: Criblage phytochimique de différents extraits de *Ruta graveolens*

Groupe chimique	Protocol	Résultats positifs
Flavonoïdes	Un volume de 1 mL de chaque extrait a été mélangé avec 0,4 mL d'une solution de NaOH à 10 %	Apparition d'une coloration jaune intense (Lerato et al., 2017).
Tanins	Dans un tube à essai, 0,2 mL de l'extrait sont mélangés avec quelques gouttes d'une solution de chlorure de fer (FeCl ₃) à 1 %. Incubation à 50 °C pendant 15 minutes.	Formation d'une coloration verte foncée à bleu noirâtre (Evans et al., 2002).
Coumarines	Un volume de 0,5 mL de extrait à 5 % est placé dans un tube, puis 0,8 mL de NaOH à 10 % y est ajouté. La solution est ensuite agitée.	Coloration jaune indique la présence de coumarines (Diallo, 2000).
Composés Réducteurs	Un volume de 0,25 mL de l'extrait est traité avec 0,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL de liqueur de Fehling. Le mélange est ensuite chauffé au bain-marie à 40 °C.	Formation d'un précipité rouge brique (EL-Haouz et al., 2018).
Alcaloïdes	Un volume de 0,5 mL de chaque extrait est mélangé avec 0,5 mL d'HCl à 1 %, puis le mélange est chauffé pendant 20 minutes. Après refroidissement, 1 mL du réactif de Mayer est ajouté goutte à goutte.	Apparition d'un précipité verdâtre ou crème indique une réaction positive (Lerato et al., 2017).

Quinones Libre	Dans un tube à essai 0,5 mL de l'extrait est mélangé avec quelques gouttes de NaOH (1%).	Développe d'une couleur rouge jaune ou Violète (Dohou et al., 2003).
Saponosides	Quelques gouttes d'eau distillée ont été ajoutées à 1 mL de chaque extrait, puis le mélange a été agité pendant 20 minutes.	Formation d'une mousse de 1 à 2 cm (15 à 20 min) indique un test positif (Trease et Evans, 1987).
Stéroïdes	À 0,25 mL de chaque extrait, 2,5 mL de chloroforme et 2,5 mL d'H ₂ SO ₄ ont été ajoutés.	Le test est positif en cas de virage de couleur du violet au bleu ou au vert, ou d'apparition d'un anneau bleu-vert. Une coloration rouge en surface, accompagnée d'une teinte jaune et d'une fluorescence verte dans la phase sulfurique, confirme également un résultat positif (Lerato et al., 2017).
Anthocyanine	Un volume de 0,5 mL de chaque extrait a été mélangé à 0,5 ml de HCl 2N, puis à 0,5 mL de solution d'ammoniac.	Développement d'une coloration rose-rouge virant au bleu-violet a été observé (Lerato et al., 2017).
Terpénoïdes	Dans un tube à essai ,1 mL d'extrait a été ajouté à 0,4 mL de chloroforme et 0,2 mL d'acide sulfurique.	Apparition d'une solution de couleur grise (Larbi, 2024).

3.4. Analyses quantitatives

3.4.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux des différents extraits de *Ruta graveolens* est effectué selon la méthode de **Singleton et Ross (1965)** à l'aide le réactif de Folin-Ciocalteu.

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu, composé d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique, réagit en milieu alcalin avec les composés polyphénoliques, provoquant une réaction d'oxydoréduction qui génère une coloration bleue (**Martí-Quijal et al., 2021**). L'intensité de cette couleur mesurée par spectrophotométrie entre 750 et 765 nm (**Le et al., 2025; Peng et al., 2022**), est proportionnelle à la teneur en phénols totaux, et l'acide gallique comme standard de référence. (**Kouadio Kouassi et al., 2021**).

Protocole du dosage

Dans des tubes à essai, 100 µL de chaque extrait végétal, ou d'acide gallique à différentes concentrations, ont été mélangés avec 500 µL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au dixième. Après agitation, le mélange est laissé 5 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, 2 mL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 % ont été ajoutés avec une agitation vigoureuse. L'incubation se poursuit pendant 30 minutes dans les mêmes conditions. L'absorbance est ensuite mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (SPECTROSCAN 40). Chaque mesure est effectuée en triple pour garantir la reproductibilité des données.

Les concentrations en polyphénols totaux dans les extraits de feuilles de *Ruta graveolens* ont été calculées à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-0,35mg/mL). Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g MS).

3.4.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée selon une méthode modifiée de **Lamaison et Carnat (1991)** utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

Principe

Les flavonoïdes possèdent des groupements hydroxyle et carbonyle capables de former, en milieu acide, un complexe stable de couleur jaune avec les ions aluminium (Al^{3+}). Cette réaction repose sur la chélation du métal par les atomes d'oxygène des fonctions phénoliques, conduisant à une absorption maximale à 409 nm (**Villela et al., 2019**).

Protocol de dosage

Brièvement, 1 mL d'extrait végétal est placé dans un tube à essai, puis mélangé à 1 mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 2 %. Après une incubation pendant 20 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en utilisant un blanc contenant tous les réactifs sauf l'extrait. Toutes les analyses ont été effectuées en triplicata.

La teneur en flavonoïdes totaux dans chaque extrait est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la rutine qui est réalisée en parallèle avec les mêmes conditions précédentes à différentes concentrations, et les résultats sont exprimés en mg équivalent de la rutine par gramme de la matière végétale sèche (mg ER/g MS).

3.4.3. Dosage des Tanins condensés

Principe

La quantification des tanins condensés repose sur la réaction colorimétrique vanilline-HCl, selon la méthode décrite par **(Sun et al., 1998)**. En milieu acide, les tanins subissent une dépolymérisation, puis réagissent avec la vanilline pour former des anthocyanidols de teinte rouge. Ces composés présentent une absorption maximale à 510 nm, permettant leur détection par spectrophotométrie **(Beddou, 2015)**.

Protocol de dosage

Dans un tube à essai, 0,2 mL d'extraits végétal sont introduit, suivi de l'ajout de 1 mL d'une solution fraîche de vanilline à 1 % (p/v) préparée dans un mélange d'acide acétique glacial et d'acide chlorhydrique dans un rapport 98:2 (v/v). Le mélange est ensuite incubé pendant 20 minutes à 30 °C, à l'abri de la lumière afin d'éviter la dégradation des réactifs. Après incubation, l'absorbance est mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Simultanément, une gamme d'étalonnage est réalisée à partir des concentrations d'une solution standard de catéchine (0 à 1 mg/mL), préparée selon les mêmes conditions expérimentales. Alors, la teneur en tanins condensés est exprimée en mg équivalent catéchine par gramme de matière végétale sèche (mg EC/g MS).

3.4.4. Dosage des acides phénoliques

Principe

L'estimation du taux des acides phénoliques est effectuée selon la méthode décrite par **(Arnou, 1937)**. Cette méthode repose sur la réaction d'acide caféique (possédant un noyau catéchol) réagit avec le réactif Arnou (acide nitrique + nitrite de sodium + hydroxyde de sodium) pour former un complexe rouge dont l'intensité est proportionnelle à la concentration d'acide caféique.

Protocol de dosage

Un volume de 1 mL d'échantillon a été mélangé à 5 mL d'eau distillée, suivi de l'ajout de 1 mL d'acide chlorhydrique (0,5 M), de 1 mL du réactif d'Arnou (solution contenant 10 % de molybdate de sodium et 10 % de nitrite de sodium) et de 1 mL d'hydroxyde de sodium (1 M). Ensuite, le volume réactionnel du mélange a été complété à 10 mL avec de l'eau distillée.

La lecture de l'absorbance est faite à 490 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (Spectroscan-40). L'acide caféique a été utilisé comme référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide caféique par gramme de poids sec du extrait brute (mgEAC/g MS).

3.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits du *Ruta graveolens*

L'activité antimicrobienne des différents extraits des feuilles de *Ruta graveolens* a été réalisée par la méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé décrite par **(Bauer et Kirby, 1940)**, en mesurant les zones d'inhibition (en mm).

3.5.1. Préparation des extraits et de l'inoculum

Les extraits testés de *Ruta graveolens* (Eau distillé-Acétate d'éthyle-Éthanol) ont été préparés à une concentration mère de 200 mg/mL, en le dissolvant dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO). Après dissolution, des dilutions successives ont été réalisées pour obtenir les concentrations finales de 10,20, 40, 50, 100, 150 et 200 mg/mL.

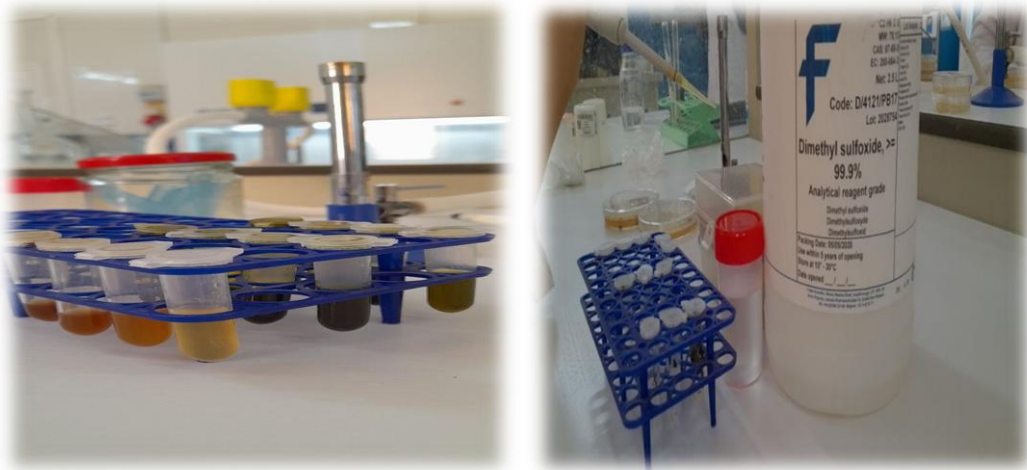


Figure 5: Préparation des extraits de *Ruta graveolens* pour l'activité antimicrobienne. (Photo originale 2025).

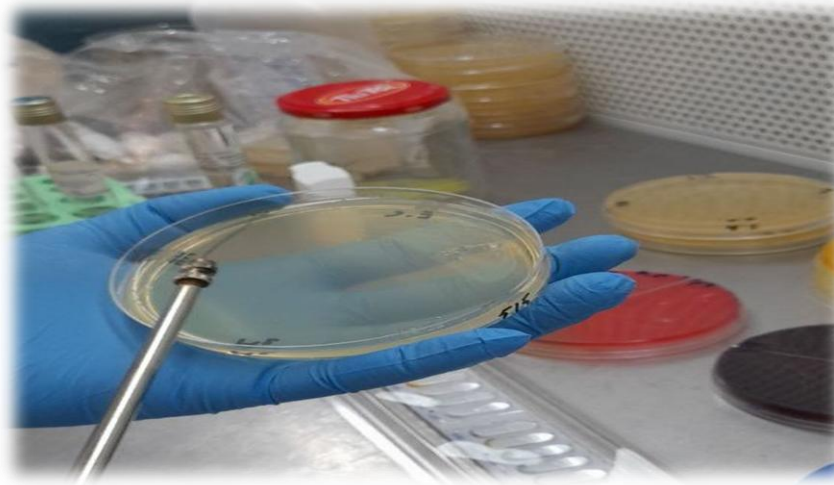


Figure 6: Repiquage des souches bactériennes par méthode de strie (Photo originale 2025).

Une pré-culture des souches bactériennes et la levure est préparée afin d'obtenir des cultures en phase de croissance exponentielle. Dans des conditions stériles, les souches microbiennes ont été repiquées par la méthode des stries sur milieu Mueller-Hinton (MH), puis incubées dans une étuve à 37 °C pour la bactérie et 30°C pour la souche fongique pendant 24 heures. Après incubation, 3 à 5 colonies bactériennes identiques ont été prélevées et suspendues dans l'eau physiologique stérile jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à 0,5 sur l'échelle de McFarland. La standardisation de l'inoculum à une concentration de 10^6 Unité Formant Colonies/mL (UFC/mL) a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 600 nm. Les densités optiques (DO) devaient se situer entre 0,08 et 0,15 qui correspondent approximativement des concentrations de 10^7 à 10^8 UFC/mL (UFC : Unité Formant Colonie).

L'ensemencement a été effectué sur la surface de milieux Mueller-Hinton pour les souches bactérienne à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans l'inoculum.

3.5.2. Méthode de diffusion sur disques

Cette méthode a été appliquée par la déposition des disques de papier imprégnés par des différents extraits sur des milieux gélosés ensemencés avec des souches bactériennes et fongiques pathogènes. Après incubation, les zones d'inhibition formées autour des disques ont permis de comparer l'efficacité antimicrobienne relative de chaque extrait et en comparaison avec les témoins positif et négatif. L'apparition ou l'absence de ces zones reflète la capacité des composés bioactifs présents dans nos extraits.

3.5.2.a - Activité antibactérienne :

Des disques de papier filtre Whatman de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec 10 µL de différents extraits de *Ruta graveolens* aux concentrations de 10, 20, 40, 50, 100, 150 et 200 mg/mL. Ces disques imprégnés des extraits ont été ensuite déposés soigneusement à la surface de la gélose (MH) ensemencée à l'aide d'une pince stérile. En parallèle, des disques imprégnés de DMSO, Gentamicine et ciprofloxacine ont été testés comme des témoins négatifs et positifs respectivement. Ensuite, les boîtes Pétri sont d'abord laissées pendant 2 h à 4°C, pour une pré-diffusion des extraits dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier, puis incubées à 37°C pendant 24 h. Le diamètre de chaque zone d'inhibition a été mesuré en mm. Cette mesure est représentée à travers divers symboles proportionnels à l'activité antibactérienne.

Tableau 3 : Echelle de sensibilité des germes (Correa *et al.*, 2018).

Inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité
0	0	Résistant
<8	±	Non sensible
8 < Ø < 14	+	Sensibilité modérée
15 < Ø < 19	++	Sensibilité élevée
> 20	+++	Sensibilité très élevée

3.5.2.b - Activité antifongique :

Des disques de papier filtre Whatman (6 mm de diamètre) ont été imprégnés avec 10 µL des extraits de *Ruta graveolens* aux concentrations de 10, 20, 40, 50, 100, 150 et 200 mg/mL. Ces disques ont été déposés aseptiquement sur la surface de la gélose Sabouraud ensemencée avec la souche fongique *candida albicans*. Des mêmes procédures ont été suivi que l'évaluation

de l'activité antibactérienne dont des disques imprégnés de DMSO ont été utilisés comme témoins négatifs, tandis qu'un antifongique de référence cycloheximide, a servi de témoin positif. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés après 24 à 48 h.

Chapitre II

Résultats et Discussion

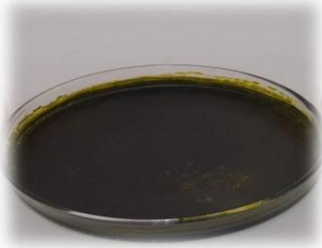
1. Caractérisation organoleptique :

L'extraction constitue une étape clé permettant d'isoler diverses familles de composés chimiques présents dans les plantes, en fonction du solvant utilisé. Dans ce travail, des extraits ont été obtenus à partir des feuilles de *Ruta graveolens*, en employant trois solvants de différente polarité, dans le but d'optimiser l'extraction sélective des métabolites secondaires.

Par ailleurs, les extraits des feuilles de *Ruta graveolens* ont été obtenus par macération à froid, à température ambiante, pendant une durée de deux jours. Cette méthode d'extraction est particulièrement indiquée pour la conservation des métabolites secondaires sensibles à la chaleur, notamment les composés bioactifs susceptibles de se dégrader sous l'effet des variations thermiques, permettant ainsi le ramollissement des tissus, la désintégration des parois cellulaires et, par conséquent, la libération des substances actives d'intérêt (**Mosbah, 2020 ; Dall'armellina, 2021**). A partir de cette procédure, trois extraits issus des feuilles de *R. graveolens* ont été obtenus à savoir, l'extrait aqueux qui se manifeste sous forme d'un liquide visqueux, dont la couleur varie du jaune pâle au brun. En revanche, les extraits obtenus à l'aide de solvants organiques présentent une consistance pâteuse : l'extrait éthanoliques affiche une teinte vert foncé, tandis que celui obtenu avec l'acétate d'éthyle est encore plus sombre, tendant vers un vert très foncé (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Caractérisation organoleptique des extraits foliaires de *Ruta graveolens*

Extraits	Aspect	Couleur	Odeur	Résultats en photo
Acétate d'éthyle	Pâteux	Vert plus foncé	Désagréable	

Éthanol	Pâteux	Vert foncé	Désagréable	
Aqueux	Visqueux	Jaunâtre à marron	Désagréable	

D'après les données issues de la littérature, la coloration des extraits est attribuée à la présence de pigments végétaux aux structures chimiques complexes et variées, incluant notamment les chlorophylles, les anthocyanines, les flavonoïdes (les flavones, les flavonols), les caroténoïdes (les lycopènes, les flavo-xanthines et les lutéines) (Swami *et al.*, 2020). En effet, l'aspect des extraits variés selon la polarité des solvants (Radzali *et al.*, 2020).

Les rendements d'extraction par macération ont été exprimés en pourcentage par rapport à la masse initiale de la poudre de rue. La **figure (7)** illustre les résultats obtenus pour les différents extraits analysés.

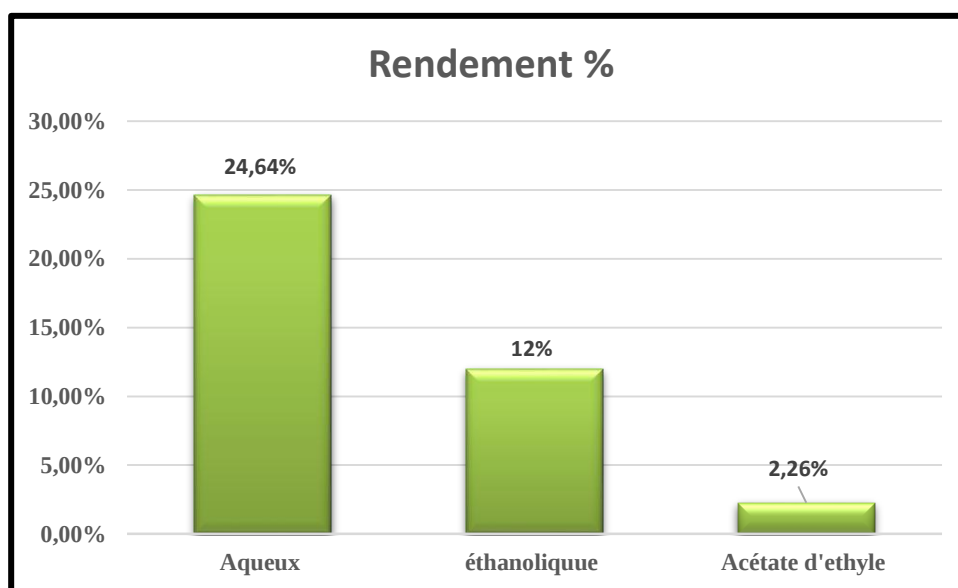


Figure 7: Rendement de l'extraction des feuilles de *Ruta graveolens*

Selon les données présentées dans **figure (7)**. L'extrait aqueux brut obtenu présente le rendement le plus élevé, atteignant 24,64 %. Il est suivi par l'extrait éthanolique, dont le rendement est de 12 %. En revanche, l'extrait d'acétate d'éthyle affiche le rendement le plus faible, avec une valeur de 2,26 %.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux des feuilles présente le rendement d'extraction le plus élevé, en comparaison avec ceux obtenus à l'aide de l'éthanol et de l'acétate d'éthyle. Cette supériorité s'explique par l'efficacité de l'eau distillée à extraire les composés polaires de la poudre des feuilles, favorisant ainsi une extraction maximale de ces substances (**Abubakar et al., 2020**).

Comparativement, le rendement de l'extrait éthanolique à 70 % obtenu dans le cadre du présent travail s'est avéré supérieur à celui rapporté par **Molnar et al., (2017)**, qui ont obtenu un rendement de 9,95 % en utilisant de l'éthanol à 96 %. Ces auteurs ont étudié le même extrait issu des feuilles de *Ruta graveolens*, en appliquant également une méthode d'extraction par macération. Cette différence de rendement pourrait être attribuée à la pureté différente du solvant utilisé. En effet, l'éthanol à 70 %, étant un mélange éthanol/eau (environ 7:3), est plus polaire que l'éthanol à 96 %, presque pur. La présence de l'eau dans le solvant augmente la polarité et permet le gonflement des parois cellulaires végétales, ce qui facilite la libération des métabolites secondaires.

À l'inverse, l'éthanol à 96 %, de polarité plus faible, présente une capacité d'extraction moindre. Ainsi, la concentration en éthanol influence fortement la polarité du solvant et, par conséquent, l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs. Des études ont montré que les concentrations d'éthanol comprises entre 30 % et 80 % peuvent avoir un effet significatif sur le rendement d'extraction de ces composés (Hao *et al.*, 2019).

Également, (Koziol *et al.*, 2020) ont rapporté un rendement de 2,9 % qu'ils ont réalisé une extraction par acétate d'éthyle à partir des parties aériennes de la même espèce. Par ailleurs, d'autre recherche a été menée par (Mahdeb *et al.*, 2023) sur le genre *Ruta*, notamment l'espèce *Ruta montana*, qui ont été révélés un rendement de 8,43 % avec des extraits méthanoliques. Aussi, (Chaibeddra, 2014) a indiqué que les extractions par même solvant sur *Ruta montana* L. et *Ruta tuberculata* Forsk. ont donné des rendements respectifs de 23,94 % et 12 %. Par ailleurs, l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Ruta graveolens* provenant de Bulgarie présente un rendement de 7,6 % (Ivanova, 2005).

Il convient de souligner que, au-delà de la méthode d'extraction, le choix du solvant, origine géographique de plante constitue des facteurs clé influençant à la fois le rendement d'extraction et la qualité des extraits obtenus, notamment en ce qui concerne la concentration et la pureté des composés bioactifs (Haddouchi *et al.*, 2016 ; Jovanović *et al.*, 2017).

D'après (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2022), l'extraction de composés organiques à partir de matières végétales dépend en grande partie de la polarité du solvant, qui doit correspondre à celle des composés cibles. Par conséquent, la polarité du solvant et la solubilité des composés souhaités dans ce solvant doivent être prises en compte. Par exemple : le mélange éthanol-eau (30%) est largement reconnu pour son efficacité dans l'extraction des composés phénoliques (Huamán-Castilla *et al.*, 2024) ; parmi lesquels les tannins condensés et les flavonoïdes des poids moléculaires plus élevés. Il est mentionné que ces composés ont été influencés dans leurs rendements d'extraction en raison de la méthode utilisée et d'autres facteurs tels que la température, le pH et le temps d'extraction (Rusu *et al.*, 2018).

2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique consiste à appliquer une série de tests chimiques simples mais ciblés, visant à détecter la présence de différentes familles de métabolites secondaires, Ces tests reposent généralement sur des réactions de coloration ou la formation de précipités visibles à l'œil nu, fournissant une indication qualitative de la présence des substances recherchées. Ces

tests ont été appliqués aux différents extraits (Acétate d'éthyle, Aqueux, Ethanolique) obtenus à partir des feuilles de l'espèce *Ruta graveolens*. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant. (Tableau 5)

Tableau 5: Criblage phytochimique des extraits des feuilles de *Ruta graveolens*

Groupes chimiques	Aqueux	Ethanol	Acétate d'éthyle
Flavonoïdes	++	-	-
Tanins	+++	+++	++
Terpénoïdes	-	-	-
Coumarines	+	-	-
Anthocyanine	-	-	-
Quinones libres	-	-	-
Alcaloïdes	+++	++	-
Composés réducteurs	-	-	-
Saponosides	-	-	-
Stéroïdes	-	++	+++

+++ : Présence importante. ++ : Présence moyenne. + : Présence faible et (-) : Absence

D'après le tableau au-dessus, les résultats obtenus ont montré que les différents extraits des feuilles de *R. graveolens* ont été révélés une diversité qualitative des groupes chimiques selon le solvant d'extraction utilisé, confirmant ainsi que la polarité du solvant influence fortement sur l'efficacité de l'extraction des métabolites secondaires.

Pareillement, l'extrait aqueux s'est distingué par une richesse en tanins, en flavonoïdes et, surtout, en alcaloïdes, avec une faible présence de coumarines qu'elles ont été détectées uniquement dans l'extrait aqueux. Tandis que, l'extrait éthanolique, quant à lui, s'est révélé

également riche en tanins, en alcaloïdes et en stéroïdes, mais il ne contenait aucune trace de flavonoïdes. En revanche, l'extrait d'acétate d'éthyle a montré une forte concentration en tanins et stéroïdes confirmant que ce solvant est adapté pour l'extraction des composés lipophiles, mais l'absence d'autres groupes.

Fait marquant, les tanins sont les seuls composés détectés dans tous les extraits, ce qui traduit leur forte abondance dans la plante étudiée. À l'opposé, les Saponosides, les quinones libres et les composés réducteurs n'ont été détectés dans aucun des extraits, suggérant soit leur absence réelle, soit leur présence à des concentrations trop faibles pour être mises en évidence par les méthodes analytiques utilisées. (Gouami et Nebili, 2020) rapportent des conclusions similaires, ayant noté l'absence de quinones et de saponines.

Les données obtenues sont conformes à celles trouvées par (Amabye *et al.*, 2015 ; Jazzer *et al.*, 2023 ; Sampaio *et al.*, 2018). Qu'ils sont mettant en évidence la présence de flavonoïdes (flavonols, flavones,), de tanins, de coumarine, de stéroïdes, d'alcaloïdes dans les extraits éthanolique et aqueux . En revanche, l'absence des composés réducteurs, des saponosides, des quinones libres, des anthocyanines dans la même espèce *Ruta graveolens*.

De plus, plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés bioactifs d'une plante, notamment ses caractéristiques génétiques, son stade de maturité, la partie de la plante étudiée, la source géographique, les conditions du sol, le moment de la récolte, l'humidité et les méthodes de traitement après la récolte (Eseberri, *et al.*, 2022). De façon similaire, le contenu en molécules bioactives varié en fonction de divers facteurs durant la croissance de la plante, tels que : la salinité, l'aridité et l'exposition au soleil, l'environnement de la plante, les précipitations, la saison, type de sols (Falleh *et al.*, 2008 ; Akhtar *et al.*, 2018 ; Serondo *et al.*, 2022).

3. Analyses quantitatives

L'analyse quantitative des extraits de *Ruta graveolens* a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible afin d'évaluer leur teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes, tanins ainsi qu'en acides phénols.

Afin de quantifier les composés ciblés, des courbes d'étalonnage ont été établies à partir de solutions standards préparées à différentes concentrations. Les concentrations en composés phénoliques totaux, flavonoïdes et tanins, ainsi l'acide phénolique ont été exprimées en

milligrammes d'équivalent de la substance étalon par gramme de matière sèche (mg ÉE/g MS), sur la base d'une équation de régression linéaire de la forme : $y = ax + b$.

3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des différents extraits des feuilles de *Ruta graveolens* repose sur l'utilisation de la méthode universelle du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est composé d'un mélange d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique, qui réagissent en milieu alcalin avec les groupes hydroxyles des composés phénoliques présents dans les extraits. Cette réaction redox conduit à la réduction partielle des hétéropolyacides, entraînant la formation d'un complexe bleu constitué d'oxydes de tungstène et de molybdène (Arniati *et al.*, 2022). L'intensité de cette coloration bleue, mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 760 nm, est directement proportionnelle à la concentration en polyphénols totaux de l'échantillon (Singleton et Rossi, 1965). Une courbe d'étalonnage a été réalisée pour cet objectif, à partir de solutions d'acide gallique à différentes concentrations (Figure 8).

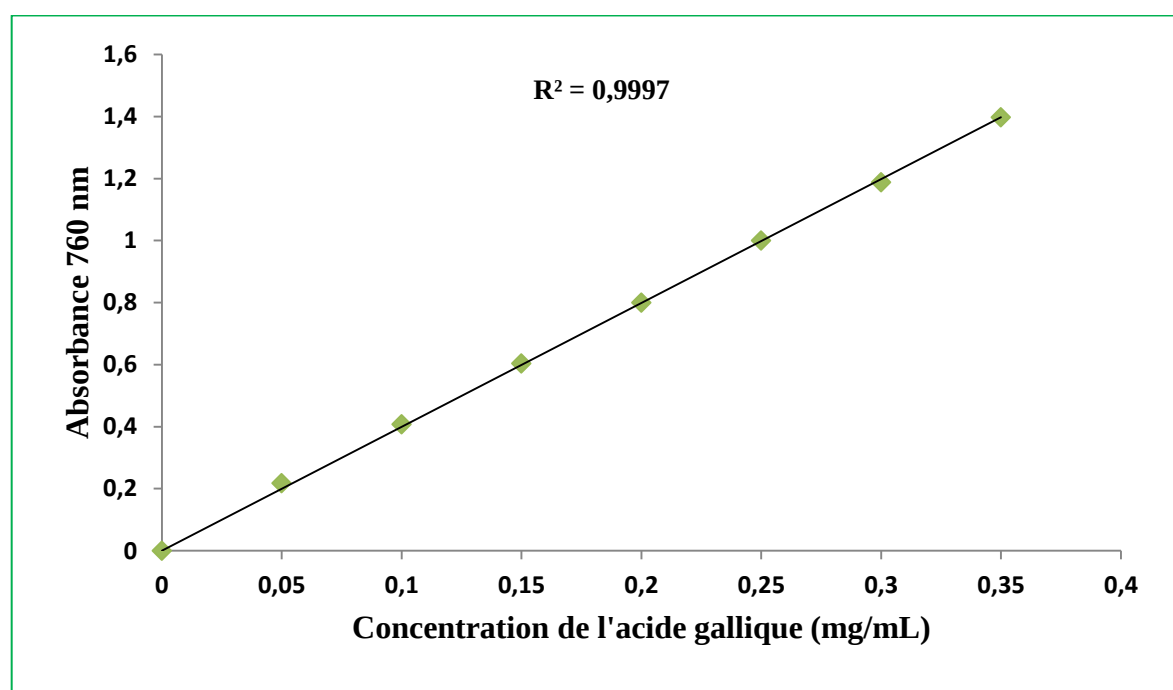


Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Alors, les résultats des concentrations en polyphénols totaux sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Les valeurs obtenues pour les différents extraits de *R. graveolens* sont présentées dans la figure suivante (Figure 9):

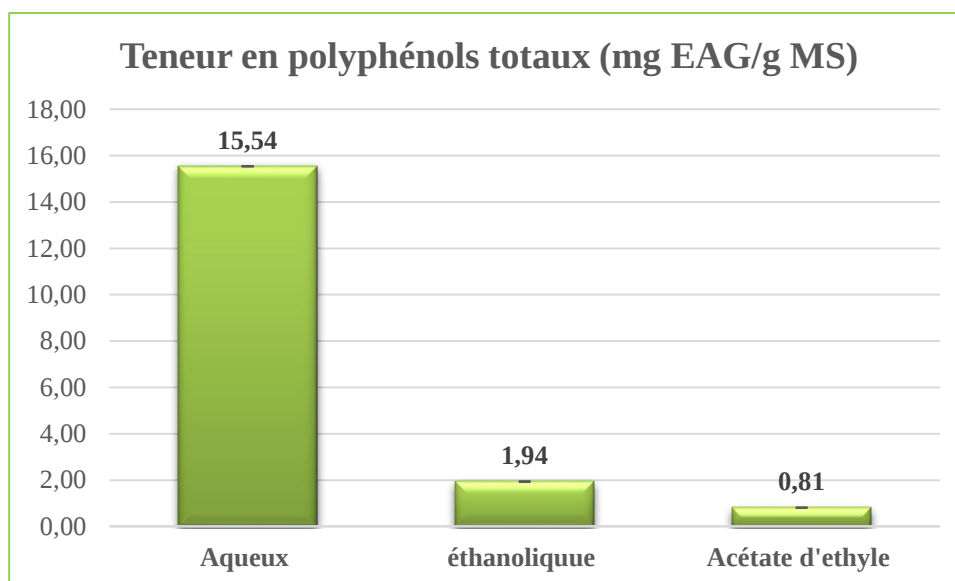


Figure 9 : Teneur en polyphénols totaux de différents extraits de *Ruta graveolens*

Les résultats obtenus révèlent une variation des teneurs en composés phénoliques totaux entre les différents extraits de *Ruta graveolens*, en fonction du solvant d'extraction utilisé. L'extrait aqueux a été montré la concentration la plus élevée en polyphénols totaux, atteignant un taux de $15,54 \pm 0,009$ mg EAG/g MS. À l'inverse, l'extrait d'acétate d'éthyle a été affiché la teneur la plus faible, avec seulement $(0,81 \pm 0,006$ mg EAG/g MS).

Les solvants employés ont un impact notable sur la quantité de composés phénoliques obtenus. En effet, la forte concentration de polyphénols dans l'extrait aqueux pourrait être attribuée à leur haute solubilité dans l'eau distillée ou les solvants fortement polaires. Par contre, le faible taux observable dans l'extrait d'acétate d'éthyle (moyennement polaire) pourrait être attribué à l'affaiblissement des liaisons hydrogène au sein de l'extrait (**Baba Ouyoub, 2017**).

D'un point de vue comparatif les travail de **Carvalho et al., (2015)**, qui ont été étudiés les feuilles de la même espèce, ont été montré que l'extrait aqueux présentait une teneur en polyphénols totaux de $84,06 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, valeur plus élevée que celle obtenue dans notre étude. De même, l'extrait d'acétate d'éthyle a montré une concentration supérieure à la nôtre ($9,25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). En outre, les extraits hexanique et méthanolique analysés par les mêmes auteurs ont été révélés des teneurs encore plus élevées, atteignant respectivement $256,87 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ et $115,12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Généralement, la partie foliaire de la plante *Ruta graveolens* est particulièrement reconnue pour sa richesse en composés phénoliques, lesquels jouent un rôle dans des nombreuses fonctions vitales essentiel tel que la protection de la plante contre les agressions

extérieures (les agents pathogènes, les insectes, l'oxydation et les rayons UV) et dans la signalisation du développement végétal (**Zulhendri et al., 2021**).

La méthode la plus couramment employée pour l'isolement des composés phénoliques à partir de différentes sources végétales est l'extraction solide-liquide au moyen de solvants (**Hoss et al., 2021**). La macération est jugée comme une technique conventionnelle d'extraction des composés phénoliques reconnue par différents auteurs pour leur efficacité. Bien que généralement longue et nécessite des solvants organiques qui sont coûteux et présentent des risques pour la santé. Cependant, c'est la seule méthode applicable lorsqu'il s'agit d'extraire un groupe de molécules fragiles (**Naviglio et al., 2019**).

Egalement, l'extraction des composés phénoliques est fortement influencée par la polarité du solvant, ce qui affecte leur solubilité. On a souvent fait appel à des solvants organiques comme l'acétone, l'éthanol et le méthanol pour l'extraction de composés phénoliques provenant de plantes médicinales. Néanmoins, plusieurs recherches ont montré que l'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité de ces composés. On peut expliquer ce phénomène par la variation de la polarité du solvant organique lorsqu'il est en présence d'eau. Il est également possible que l'accroissement de la solubilité des composés phénoliques soit attribué à une ionisation accrue de ces composés dans les solutions mixtes (**Ouahida et al., 2016 ; Abcha, 2020**).

3.2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) en utilisant comme standard la rutine. Cette méthode repose sur la formation des complexes avec des groupes hydroxyles spécifiques de flavonoïdes, provoquant un changement de la couleur de solution en jaune, mesurable à une longueur d'onde de 409 nm (**Martono et al., 2019**). Une courbe d'étalonnage de la rutine a été tracée pour déterminer les teneurs des flavonoïdes présentes dans les extraits des feuilles de *R. graveolens*. **Figure 10**

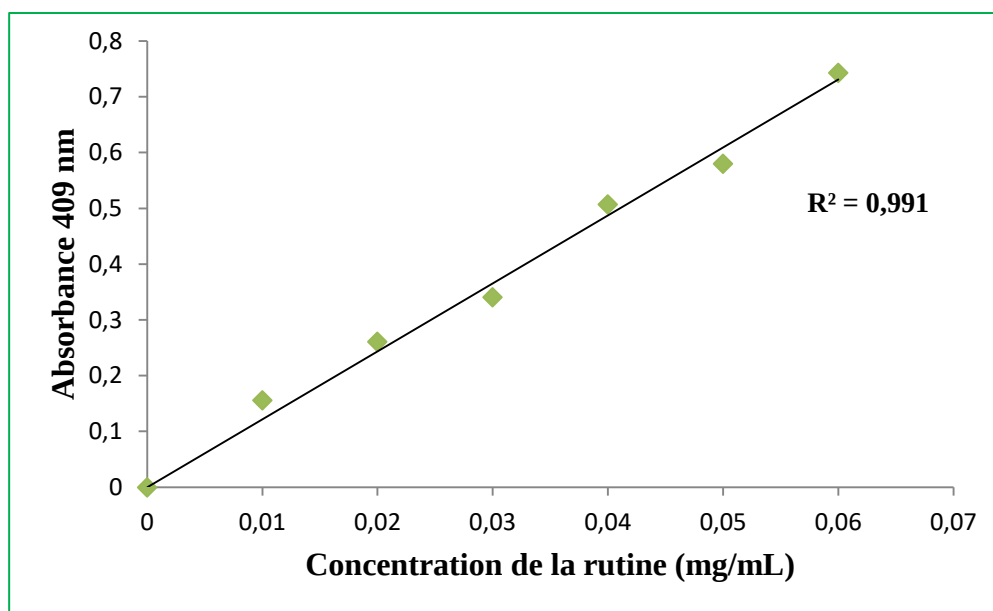


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de la rutine

Par conséquent, les teneurs des flavonoïdes des différents extraits sont exprimées en milligramme équivalent de rutine par gramme du matériel végétal utilisé (mg ER/g MS) (**Figure 11**) :

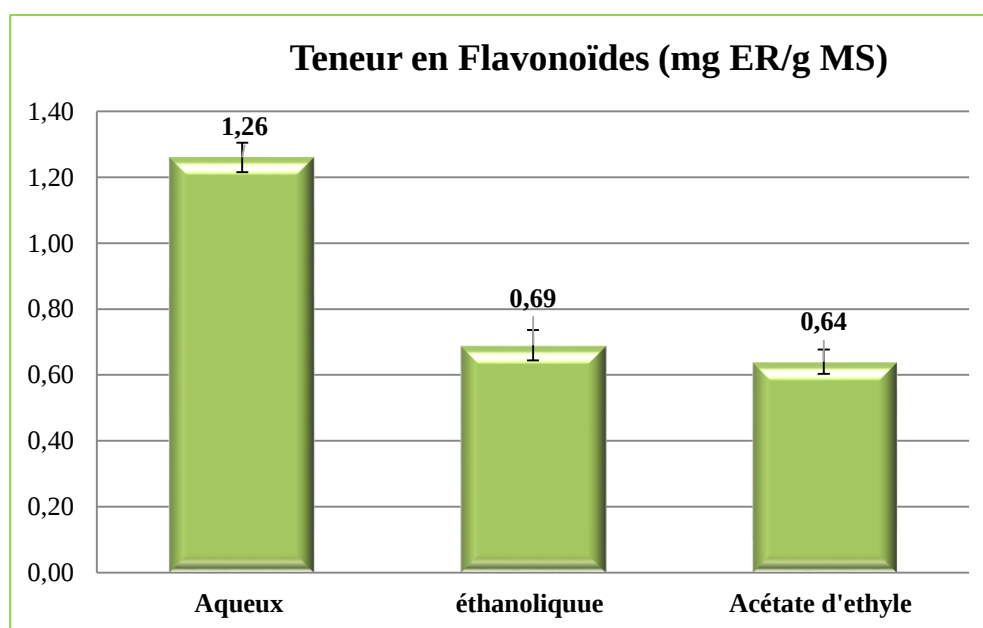


Figure 11: Teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Ruta graveolens*

La détermination quantitative des flavonoïdes permet d'obtenir les résultats au-dessus. Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits varient entre 0,64 et 01,26 mg ER/g MS. En effet, l'extrait aqueux des feuilles noté la teneur la plus élevée, égal à 01,26 ± 0,126 mg ER/g MS ; suivi par ce d'extrait éthanolique avec un taux de 0,69 ± 0,046 mg ER/g MS. Puis la teneur

d'extrait d'acétate d'éthyle qui est égale à $0,64 \pm 0,037$ mg ER/g MS, dont elle est très proche que celle d'extrait éthanolique.

Ces résultats permettent de conclure que l'extrait aqueux est le plus riche en flavonoïdes par rapport les autres extraits. Ceci est expliqué par la présence de groupes hydroxyles ($-OH$) et de résidus glycosidiques (flavonoïdes glycosylés) ce qui implique un degré élevé de solubilité dans l'eau distillé (**Naomi et al., 2023**).

Il ressort clairement de cette étude que les teneurs en phénols totaux des trois extraits sont bien corrélées avec ses contenus en flavonoïdes. En effet, une corrélation positive très significative a été observée entre la teneur total en phénols et le contenu des flavonoïdes avec un coefficient de corrélation de Pearson $r = 0,996$ ($p = 0,0001$). Ce qu'il peut être déduit que la quantité des flavonoïdes varie relativement avec le contenu en phénols totaux pour tous les extraits. Aussi, cette corrélation a montré l'existence d'une même classe de flavonoïdes dans ces extraits qui varie de manière semblable avec la quantité des phénols totaux (**Annexe 3**).

Selon la littérature, nos résultats sont confirmés par des études antérieures ayant porté sur les feuilles de la même espèce. Ces travaux ont rapporté que les flavonoïdes hydrosolubles sont présents en quantités variables selon le solvant d'extraction utilisé. Ainsi, selon **Carvalho et al., (2015)**, la teneur en flavonoïdes obtenue avec un extrait aqueux est de 72,12 mg/g MS, tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle montre une teneur beaucoup plus faible, de 0,41 mg/g. De plus, d'après la même étude, l'extrait méthanolique a permis d'atteindre une teneur maximale de 85,75 mg/g, ce qui suggère que le méthanol est un solvant particulièrement efficace pour l'extraction des flavonoïdes. Ces résultats sont également appuyés par (**Roy et al., 2022**), qui confirment l'efficacité du méthanol comme solvant d'extraction optimal pour ces composés bioactifs.

Généralement, la solubilité et l'activité des flavonoïdes dépendent de leur structure chimique, notamment du nombre et de la position des groupes hydroxyles et des glucides liés. Par ailleurs, les conditions physicochimiques du milieu, comme le pH, la présence de métaux et la polarité du solvant, modifient leur comportement et leurs spectres d'absorption, influençant ainsi leur extraction et leur efficacité biologique (**Smail, 2016**).

3.3. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés dans les extraits de *Ruta graveolens* a été réalisée selon la méthode colorimétrique de vanilline-HCl qui repose sur la formation d'anthocyanidols rouges mesurables à 510 nm (**Beddou, 2015**). Les mesures ont été exprimées en mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS), à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine comme étalon (**Figure 12**).

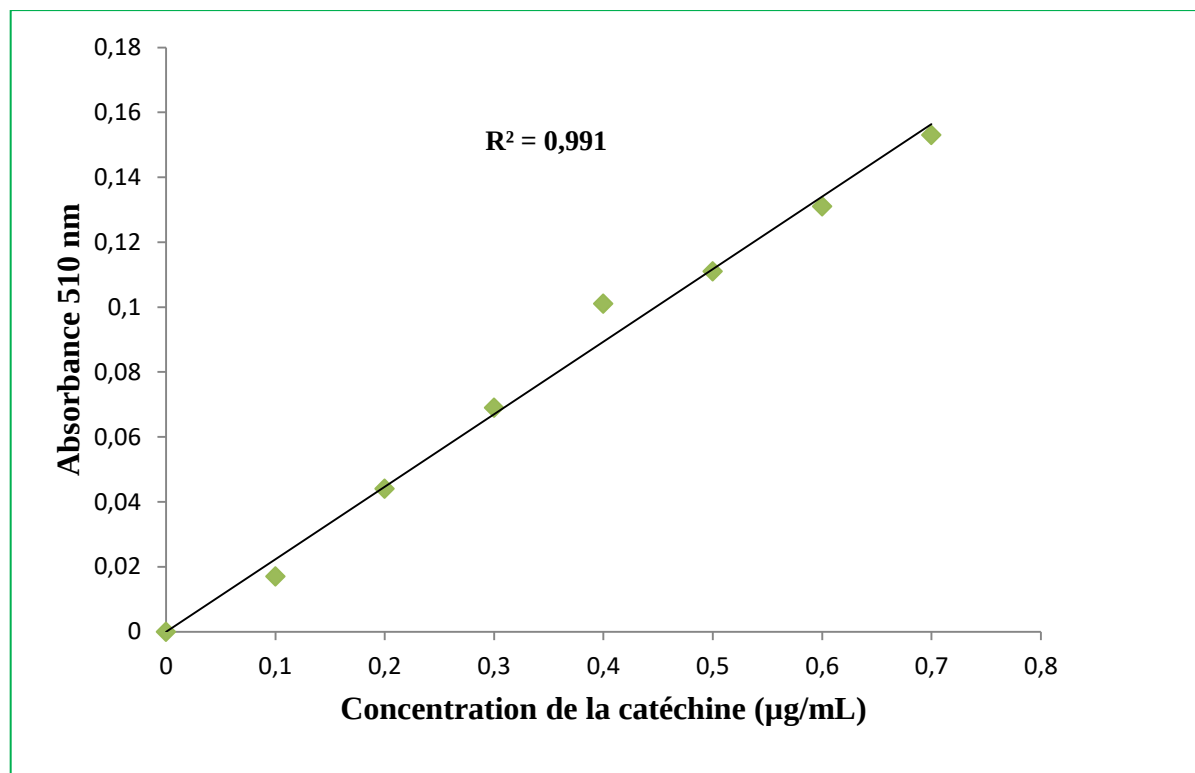


Figure 12: Courbe d'étalonnage de la catéchine

La figure (13) présenté la variation des teneurs en tanins condensés au sein des différents extraits de *R. graveolens*.

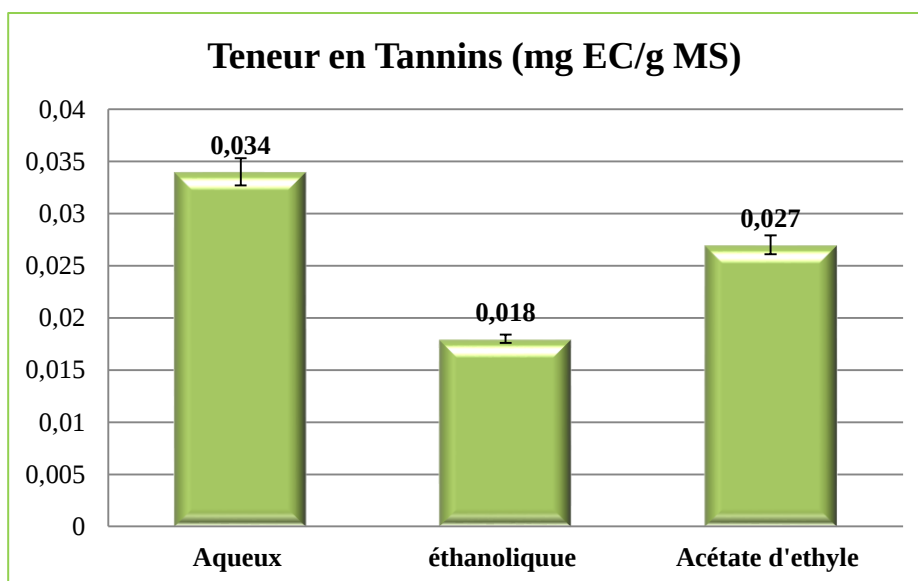


Figure 13: Teneur en tannins condensés de différents extraits de *Ruta graveolens*

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en tanins condensés varient selon le type d'extrait. L'extrait aqueux des feuilles a été noté la concentration la plus élevée, avec une valeur de $0,034 \pm 0,099$ mg EC/g MS. Il est suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle ($0,027 \pm 0,009$ mg EC/g MS), tandis que l'extrait éthanolique présente la plus faible teneur ($0,018 \pm 0,004$ mg EC/g MS). Ces différences pourraient s'expliquer par l'influence de la polarité des solvants utilisés. En effet, les solvants polaires comme l'eau ont tendance à extraire davantage de composés hydrophiles, tels que les tanins condensés, contrairement à des solvants moins polaires qui privilégient d'autres classes de métabolites secondaires.

D'autre côté, une forte corrélation positive entre le contenu en polyphénols totaux des trois extraits et ceux en tanins ($r = 0,747$) a été remarquée. Ainsi, une corrélation positive et significative a été observée entre la teneur en flavonoïdes et le contenu des tanins avec un coefficient de corrélation de Pearson $r = 0,745$. Cette corrélation pourra être interprétée par le fait que ces extraits renferment des mêmes composés phénoliques et leurs teneurs variées selon le degré de solubilité de ces composés dans les solvants d'extraction utilisés et la polarité de ces solvants (**Annexe 3**).

Nos résultats se distinguent par leur faible teneur globale en tanins condensés, notamment en comparaison avec d'autres travaux menés sur la même espèce. Une étude éthiopienne a rapporté des teneurs bien plus élevées dans les extraits de feuilles de *R. graveolens*, avec un taux de 15,15 % dans l'extrait éthanolique et 18,25 % dans l'extrait méthanolique (**Etana et al., 2017**). Ces écarts notables pourraient s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les

conditions écologiques différentes (altitude, climat, sol), la période de récolte, la partie végétale analysée ou encore la méthode d'extraction.

De plus, les méthodes de dosage varient d'une étude à l'autre. Dans notre expérience, l'approche de vanilline-HCl a pour but de cibler spécifiquement les tanins condensés, tandis que d'autres recherches peuvent mesurer les tanins totaux ou hydrolysables, ce qui peut entraîner une surestimation apparente.

En revanche, les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus lors d'études antérieures de **(Telli, 2017)**, qui rapporte une teneur maximale de $0,025 \pm 0,0005$ mg EC/g MS dans l'extrait éthanolique des feuilles de *Ruta graveolens*. Bien que cette valeur soit légèrement inférieure à celle obtenue dans notre extrait aqueux, elle confirme la richesse des feuilles en tanins condensés, comparativement aux autres organes de la plante (tiges et fleurs).

En complément, une étude algérienne menée par **(Benkherouf et al., 2022)** sur les extraits de *R. graveolens* a identifié plusieurs composés phénoliques par chromatographie, dont la rutine comme flavonoïde majoritaire, mais elle ne fournit pas de données précises sur les tanins condensés. Toutefois, **(Benkherouf et al., 2022)** confirme la grande richesse de la plante en polyphénols, ce qui est en accord avec notre observation de concentrations plus élevées en tanins dans les feuilles. **(Touaibia, 2021)**, dans une étude récente, a quantifié les tanins condensés dans les feuilles de *R. graveolens* dont il a été déduit un taux de $0,030$ mg EC/g MS dans un extrait méthanolique, ce qui est également en accord avec nos résultats. Ces différences légères peuvent être attribuées à la polarité des solvants, à la nature des liaisons entre les unités flavaniques (liaisons C-C peu solubles) et aux conditions environnementales de culture.

L'accumulation élevée de tanins condensés dans les feuilles peut être expliquée par le rôle physiologique de ces composés. En effet, les feuilles, en tant que siège principal de la photosynthèse, sont particulièrement exposées aux stress environnementaux (lumière intense, sécheresse, agents pathogènes). Les tanins, en tant que métabolites secondaires, contribuent à la défense de la plante contre ces stress **(Messaoudi, 2020 ; Sebrou et Haouari, 2018)**.

Par ailleurs, selon **Baba Ouyaba, (2017)**, la structure polymérique des tanins condensés, notamment la présence de liaisons covalentes entre les unités flavan-3-ols, rend leur extraction variable selon le type de solvant utilisé. Cela explique que l'extrait aqueux ait montré une efficacité supérieure, probablement en raison d'une meilleure affinité avec les oligomères peu polymérisés présents dans les feuilles. **(Baba Ouyaba, 2017)**

Il est important de noter que, bien que la méthode à la vanilline-HCl soit largement utilisée pour sa simplicité et sa rapidité, elle présente certaines limites en termes de reproductibilité. Cette méthode est en effet sensible à plusieurs paramètres expérimentaux, notamment la nature du solvant, la concentration de l'acide, le temps de réaction, la concentration de la vanilline et le type de standard utilisé (Telli, 2017).

3.4. Dosage des acides phénolique

Cette méthode permet une estimation fiable des acides phénoliques totaux qui ont été déterminés à l'aide d'une courbe d'étalonnage d'acide caféique (Figure 14).

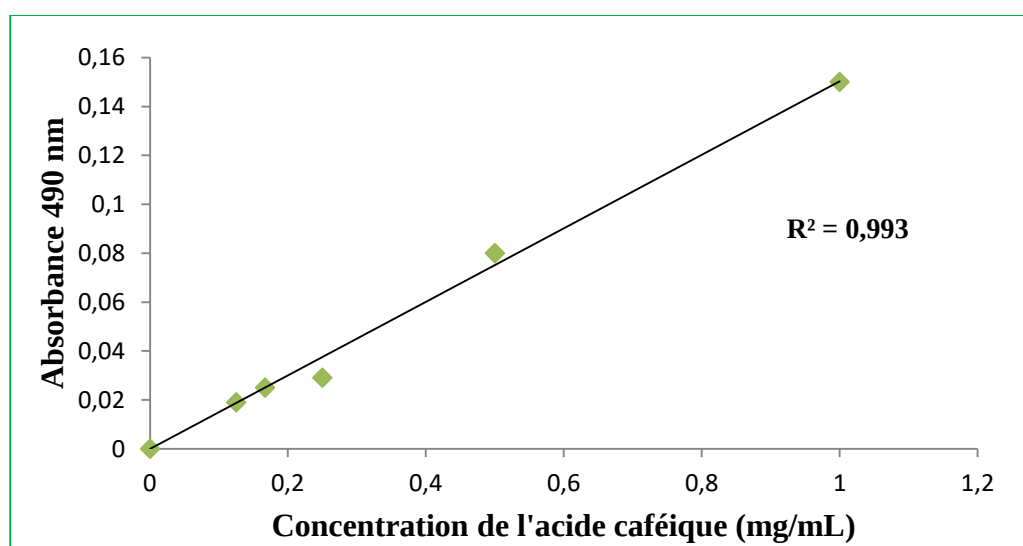


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide caféique.

Les résultats montrent que la teneur en acides phénoliques des différents extraits a été estimée et les résultats, exprimés en milligrammes équivalents d'acide caféique par gramme de matière sèche (mg EAC/g MS), sont présentés dans la figure (15).

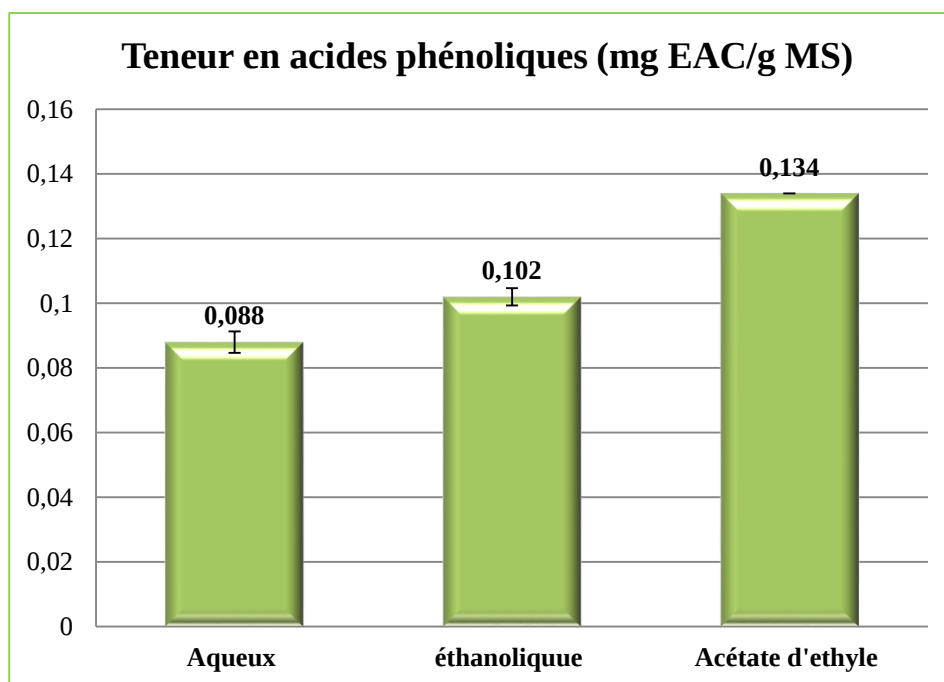


Figure 15: Teneur des acides phénoliques de différents extraits de *Ruta graveolens*

Les résultats obtenus montrent une variation des teneurs en acides phénoliques en fonction du solvant d'extraction utilisé. L'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* montre la concentration la plus élevée ($0,134 \pm 0,000$ mg EAC/g MS), suivi par l'extrait éthanolique ($0,102 \pm 0,027$ mg EAC/g MS), tandis que l'extrait aqueux présente la teneur la plus faible ($0,088 \pm 0,0332$ mg EAC/g MS).

Néanmoins, les taux faibles enregistrés dans l'extrait aqueux et éthanolique peuvent être dus à l'estérification de différentes fonctions alcools des acides phénols ce qui diminue leur polarité. Egalement, les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique peuvent être méthyles, ce qui conduit à la diminution de la polarité de ces composés, ce qui par conséquent peut justifier la richesse de l'extrait d'acétate d'éthyle par ces composés (Bruneton, 2009).

En général, la solubilité des acides phénolique dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant sur l'extraction. Aussi, leur interaction avec la matrice végétale, qui peut limiter ou faciliter leur libération (Telli, 2017).

Les valeurs mesurées dans notre étude apparaissent relativement faibles comparées à certaines données de la littérature. Par exemple, Mokhtar *et al.*, (2022) ont mesuré, à l'aide de

la méthode de Folin-Ciocalteu, une teneur totale en composés phénoliques (TPC) de $41,63 \pm 0,394$ mg GAE/g d'extrait dans *Ruta graveolens*. Dans cette même étude, les acides phénoliques représentaient $302,71 \mu\text{g/g}$ sur un total de $1011,18 \mu\text{g/g}$ de polyphénols, soit 29,93 %.(**Mokhtar et al., 2022**). Toutefois, la variabilité observée entre les résultats peut s'expliquer par les différences dans les conditions expérimentales (solvant, origine géographique de la plante, temps d'extraction) étaient différentes, rendant toute comparaison directe partiellement limitée.

L'étude de (**Szewczyk et al., 2022**), menée sur des cultures *in vitro* de *R. graveolens*, a révélé que même si les coumarines étaient les composés dominants, des acides phénoliques étaient présents dans les extraits méthanoliques.

D'autres études ont également mis en évidence la présence significative d'acides phénoliques dans *R.graveolens*. Par exemple, une recherche menée en Arabie Saoudite par (**Ekiert et al., 2020**) qu'ils ont été identifié l'acide chlorogénique et l'acide p-coumarique comme les principaux acides phénoliques, avec des concentrations respectives de 356,0 mg/100 g et 158,6 mg/100 g de poids sec. Ces composés sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

Szopa et al. (2012) ont mis en évidence l'influence significative des conditions de culture, en particulier la qualité et l'intensité de la lumière, sur la biosynthèse des acides phénoliques dans les tissus végétaux. Leur étude a montré que certains spectres lumineux, notamment le bleu et le blanc, peuvent augmenter la teneur en acides phénoliques jusqu'à 6,7 fois. Ces résultats soulignent que les facteurs environnementaux, tels que la lumière, expliqués les variations observées entre différentes études et ainsi jouent un rôle crucial dans la régulation des métabolites secondaires.

Les résultats obtenus confirment que la quantité et le profil des composés phénoliques dans les plantes sont influencés par une interaction complexe entre facteurs internes (génétiques) et externes (environnementaux et technologiques) (**Delgado et al ., 2023**) .En comparant ces données avec celles de la littérature, on observe des écarts notables, généralement liés aux différences méthodologiques, aux conditions de culture, aux parties végétales analysées, ainsi qu'aux solvants d'extraction utilisés. D'un point de vue génétique, chaque espèce végétale, voire chaque variété, présente un potentiel propre de biosynthèse des polyphénols ; c'est le cas, par exemple, de certaines variétés de laitue riches en flavanols. (**Eseberri et al., 2022**).

L'environnement, notamment la composition du sol, le climat ou encore le stress hydrique, module l'activité enzymatique (comme celle de la phénylalanine ammonialyase, PAL) impliquée dans la synthèse de ces métabolites secondaires. Les pratiques agricoles (biologique et conventionnelle) et les conditions post-récolte (température, exposition aux UV ou à l'ozone) influencent également la stabilité de ces composés. Le stade de maturité des fruits a aussi un impact : les anthocyanines tendent à augmenter en fin de maturation, alors que d'autres composés, tels que certains flavonoïdes, peuvent décliner. Enfin, les procédés technologiques appliqués, comme la torréfaction, peuvent entraîner une dégradation partielle ou totale des molécules phénoliques (Eseberri *et al.*, 2022).

4. Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *Ruta graveolens*

Cette étude a permis d'évaluer le potentiel antimicrobien des extraits de la plante *Ruta graveolens* en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide. Les extraits ont été testés contre trois souches bactériennes : une souche à Gram positif *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) et deux souches à Gram négatif *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

En utilisant des disques imbibés de différentes doses d'extraits allant à des concentrations 10, 20, 40, 50, 100, 150, 200 mg/mL pour tous les extraits : d'acétate d'éthyle, d'éthanol et aqueux. L'activité antimicrobienne des extraits et des ATBs a été exprimée en termes de diamètre (en mm) alors que ce test a été répété trois fois (n= 3).

Afin de comparer l'efficacité des extraits végétaux, deux antibiotiques de référence, représentant différents mécanismes d'action, ont été utilisés comme témoins positifs : la Ciprofloxacine (CIP 5 µg) et la Gentamicine (GEN 10 µg).

Dans les protocoles d'essais biologiques, il est largement recommandé qu'un solvant soit utilisé de manière à n'a pas interféré avec les processus biologiques des substances dissoutes, tout en veillant à ce que les interactions potentielles entre le solvant, les extraits végétaux étudiés et les micro-organismes testés soient prises en compte (Xu *et al.*, 2024).

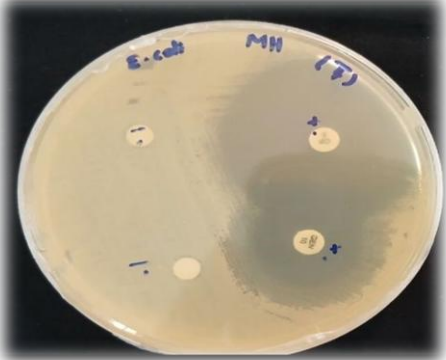
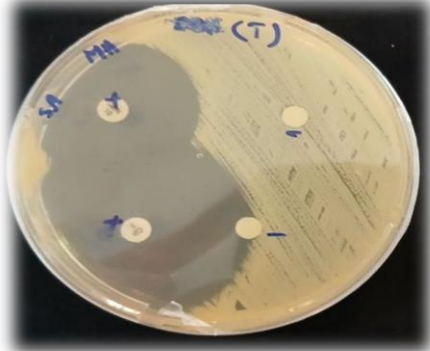
Pour cela, le DMSO, connu pour son utilisation comme témoin négatif, a également été examiné dans le cadre de notre étude.

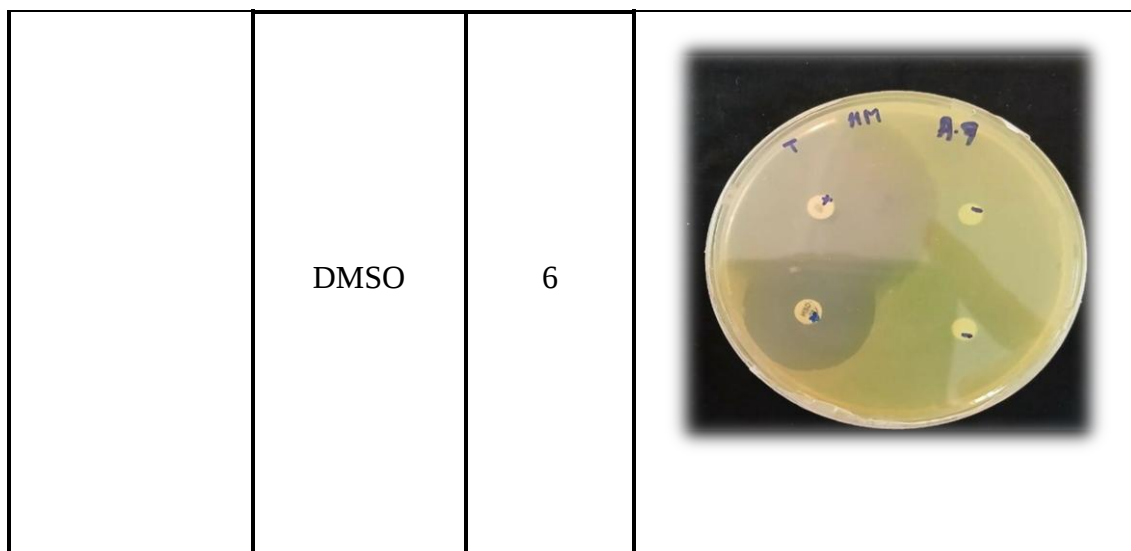
4.1. Evaluation de l'effet antibactérien des extraits de *Ruta graveolens*

4.1.1. Test d'antibiogramme

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques, Ciprofloxacine et la Gentamicine, vis-à-vis des germes bactéries Gram+ et Gram- sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Évaluation des diamètres des zones d'inhibition bactérienne obtenus avec les antibiotiques. 6 mm: présente le diamètre du disque.

Les souches	ATB et T(-)	Diamètre (mm)	Résultats en photos
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	CIP (5µg)	42	
	GEN (10 µg)	22	
	DMSO	6	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	CIP (5µg)	48	
	GEN (10µg)	36	
	DMSO	6	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	CIP (5µg)	42	
	GEN (10µg)	30	



6 mm: présente le diamètre du disque.

Les souches examinées se sont montrées très sensibles aux antibiotiques conventionnels employés. En effet, la souche *Staphylococcus aureus* a montré une sensibilité marquée aux antibiotiques testés, en particulier au CIP 5 μ g et au GEN 10 μ g, avec des diamètres d'inhibition atteignant respectivement 48 mm et 36 mm. En comparaison, la souche *Escherichia coli* a présenté une sensibilité plus faible, bien que le CIP 5 μ g et le GEN 10 μ g aient généré des zones d'inhibition notables de 42 mm et 30 mm. Quant à la souche *Pseudomonas aeruginosa*, elle a également réagi à ces deux antibiotiques, avec des zones d'inhibition mesurées à 42 mm pour le CIP 5 μ g et 30 mm pour le GEN 10 μ g.

Les résultats obtenus montrent que les différentes espèces bactériennes ont réagi de manière variable aux antibiotiques testés, ce qui s'explique principalement par la variation de la structure et de la composition chimique de leur paroi cellulaire, ainsi que par la nature des antibiotiques eux-mêmes, dont les mécanismes d'action diffèrent selon la famille à laquelle ils appartiennent. En outre, les résultats montrent que le DMSO n'a aucun effet antibactérien sur la croissance des souches testées. Les mêmes résultats sont obtenus par (Susanti *et al.*, 2021), confirmant ainsi son innocuité en tant que solvant dans ce protocole.

4.1.2. Test d'antibiosensibilité par diffusion sur disque d'extraits de *Ruta graveolens* :

Les tests réalisés ont permis d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux, éthanoliques et d'acétate d'éthyle de *Ruta graveolens* sur trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les essais ont été menés

à différentes concentrations (de 10 mg/mL à 200 mg/mL) à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose.

Les résultats ont été exprimés sous forme de diamètres des zones d'inhibition (en mm), reflétant la sensibilité ou la résistance des souches aux extraits testés. La sensibilité des bactéries aux différents extraits a été déterminée en fonction du diamètre des zones d'inhibition. Les essais ont été réalisés en double ($n = 3$), et les valeurs moyennes $\pm$ écart-type ont été calculées. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 7 et Annexe I**).

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne testé par différents extraits du *Ruta graveolens* à différent concentration. Les valeurs représentent la moyenne de trois répétitions $\pm$ SD.

Diamètre de zone d'inhibition (mm)				
Effet des extraits contre <i>Escherichia coli</i>				
Extrait aqueux	Extrait d'éthanol			Extrait d'acétate d'éthyle
200mg/mL	10mg/mL	20mg/mL	40mg/mL	Toutes les concentrations
6,33 $\pm$ 0,58	6,33 $\pm$ 0,58	6,67 $\pm$ 1,15	6,67 $\pm$ 1,15	6,00 $\pm$ 0,08
Effet des extraits contre <i>Staphylococcus aureus</i>				
6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0
Effet des extraits contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0	6,00 $\pm$ 0

6 mm: présente le diamètre du disque. Chaque valeur représente la moyenne ($n=3$) $\pm$ SD.

D'après les résultats présentés dans le Tableau 6, la comparaison avec les témoins positifs et négatifs a mis en évidence que la majorité des souches testées sont résistantes aux extraits aqueux, éthanolique et d'acétate d'éthyle, obtenus à partir de la partie feuilles de la plante *Ruta graveolens*. Les diamètres des zones d'inhibition observés indiquent que seuls certains de ces extraits ont présenté une activité inhibitrice très faible, principalement dirigée contre *Escherichia coli* (*E. coli*). L'extrait aqueux, à la concentration de 200 mg/mL, a induit une faible

activité antibactérienne, avec un diamètre de zone d'inhibition de 7 mm, traduisant une sensibilité réduite de la souche bactérienne.

En revanche, l'extrait éthanolique a présenté une activité légèrement supérieure à des concentrations de 10, 20 et 40 mg/mL, induisant des zones d'inhibition de 7 mm, 8 mm et 8 mm respectivement. Ces valeurs restent faibles et traduisent une absence notable de sensibilité d'*Escherichia coli* à cet extrait. Par ailleurs, Nous avons remarqué aucune activité antibactérienne des extraits n'a été observée vis-à-vis des autres souches testées, en l'occurrence *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Une étude similaire a été menée par **Amabye et al., (2015)**. Leurs résultats ont mis en évidence une forte activité antibactérienne d'extrait au chloroforme, efficace à la fois contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Une zone d'inhibition de 24 mm a été observée contre *Escherichia coli*, indiquant un effet puissant. Un effet modéré a également été noté contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, même à de faibles concentrations, confirmant ainsi l'efficacité notable de cet extrait.

En revanche, l'extrait méthanolique a présenté une activité antibactérienne plus faible comparée à celle de l'extrait au chloroforme. Il a produit une zone d'inhibition de 17 mm contre *E. coli*, contre 13 mm pour *S. aureus* et 11 mm pour *P. aeruginosa*. Toutefois, à faibles concentrations, l'extrait méthanolique a montré une activité maximale contre *S. aureus* (1,2 mm) et *P. aeruginosa* (1,3 mm), ce qui suggère une action plus spécifique selon les souches bactériennes. Quant à l'extrait éthanolique, il a montré une activité antibactérienne notable contre toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition variant de 15 à 19 mm. Cependant, aucune activité n'a été observée lors l'utilisation de ses dilutions, indiquant une perte d'efficacité à faible concentration. Enfin, aucune activité antibactérienne n'a été détectée pour l'extrait aqueux sur l'ensemble des souches testées, ce qui souligne l'importance du choix du solvant pour l'extraction des composés bioactifs. (**Amabye et al., 2015**)

Des autres études récentes menées par (**Elansary et al., 2020**) ainsi que (**Szewczyk et al., 2022**), dont ils ont prouvé l'activité antimicrobienne d'espèces appartenant au genre *Ruta* d'origine Pologne dans leurs résultats. Les extraits sont préparés par technique sonication. Parmi les extraits testés, celui de *Ruta corsica* qui a montré la plus forte activité avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 250 µg/mL contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les extraits de *Ruta graveolens* et *Ruta*

chalepensis ont également démontré une activité antimicrobienne, mais à une CMI plus élevée, de 500 µg/mL. Par ailleurs, d'autres études ont rapporté une sensibilité de toutes les souches testées, bien que seule *S. aureus* se soit révélée sensible à l'extrait méthanolique des feuilles de *R. Graveolens*, selon les résultats d'Elansary *et al.*, (2020).

Une autre étude a montré que *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) est sensible à l'extrait éthanolique des fleurs et feuilles de *Ruta graveolens* (Égypte). Cet extrait inhibe la formation de biofilm chez les souches de MRSA et réduit significativement l'expression des gènes associés à la virulence et à la résistance, notamment *icaA* et *icaD* (impliqués dans la formation du biofilm) ainsi que *mecA* (responsable de la résistance). Ces résultats indiquent que l'extrait agit comme un inhibiteur efficace des mécanismes de virulence et de résistance chez MRSA (Rezk *et al.*, 2022). Ainsi, selon l'étude menée par (Ivanova *et al.*, 2015), tous les extraits méthanolique, acétate d'éthyle, eau-méthanol et éther de pétrole parties aériennes de *Ruta graveolens* sont montrés une forte activité inhibitrice (23.6 ± 0.6) contre *Staphylococcus aureus*, tandis qu'aucune activité n'a été observée contre la souche *Escherichia coli*.

D'après nos résultats et ceux rapportés dans la littérature, il est confirmé que la plante *Ruta graveolens* possède en général un potentiel d'activité antibactérienne, souvent marqué contre certaines souches responsables de maladies infectieuses. Toutefois, l'absence d'activité antibactérienne observée dans certains extraits obtenus avec les solvants testés pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques influençant la bioactivité des extraits végétaux.

Il est bien établi que l'efficacité biologique d'une plante dépend de divers paramètres, tels que la partie de la plante utilisée, son origine géographique, les caractéristiques édaphiques, la période de récolte, le taux d'humidité, ainsi que les conditions post-récolte. Par exemple, une température élevée lors du broyage des tissus végétaux peut altérer ou dégrader certains constituants chimiques sensibles, réduisant ainsi leur potentiel antimicrobien. Par ailleurs, le choix du solvant, sa nature (polaire, semi-polaire ou apolaire), sa concentration, ainsi que les conditions d'extraction jouent un rôle déterminant dans la récupération des composés bioactifs. Étant donné la complexité et la variabilité de la composition chimique des plantes, un protocole d'extraction inapproprié peut empêcher l'isolement des molécules responsables de l'activité antimicrobienne (Amabye *et al.*, 2015). Ces constats soulignent la nécessité d'analyses

complémentaires (HPLC, GC-MS) et d'essais *in vivo* pour confirmer l'efficacité et la sécurité de *Ruta graveolens* en tant qu'agent antibactérien naturel (Saeed *et al.*, 2023).

4.2. Evaluation de l'effet antifongique des extraits de *Ruta graveolens*

Dans cette étude, l'activité antifongique des extraits de la plante *Ruta graveolens* a été évaluée contre la souche fongique pathogène *Candida albicans*. Les tests ont été effectués à différentes concentrations : 10, 20, 40, 50, 100, 150 et 200 mg/mL. L'évaluation de l'activité antifongique a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque. L'effet inhibiteur des extraits a été estimé en mesurant le diamètre de zone d'inhibition. Ainsi, les tests ont été réalisés en trois répétitions indépendantes ($n = 3$), et les résultats ont été exprimés sous forme de moyennes accompagnées de leur écart-type ($\pm$ SD). Les mesures obtenues sont résumées dans (Tableau 8 et Annexe 1).

Tableau 8 : Diamètres de zone d'inhibition de la croissance de *Candida albicans* testé par différents extraits de *Ruta graveolens*

Diamètre de zone d'inhibition (mm)						
Effet des extraits contre <i>Candida albicans</i>						
Extrait aqueux	Extrait éthanolique		Extrait d'acétate d'éthyle			
Toutes les concentrations	150mg/mL	200mg/mL	50mg/mL	100mg/mL	150mg/mL	200mg/mL
6,00 $\pm$ 0,01	6,67 $\pm$ 0,58	7,00 $\pm$ 1,00	6,33 $\pm$ 0,58	6,67 $\pm$ 0,58	6,33 $\pm$ 0,58	7,00 $\pm$ 1,00

D'après les résultats présentés dans le **Tableau 7**, l'évaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux, éthanolique et d'acétate d'éthyle de *Ruta graveolens* contre *Candida albicans* a révélé des zones d'inhibition variables pour les extraits d'acétate d'éthyle et éthanolique selon les concentrations testées. Autant, le Cycloheximide (1mg/disque), témoin positif, a produit un diamètre moyen d'inhibition de $10 \pm 0,0$ mm, indiquant une activité antifongique modérée contre la souche testée. Néanmoins, aucun halo n'a été observé pour le témoin négatif (disques imprégnés de DMSO).

Pareillement, les résultats montrent un faible effet antifongique d'extrait d'acétate d'éthyle, observé aux concentrations comprises entre 50 et 200 mg/mL. Une zone d'inhibition de 7 mm de diamètre a été enregistrée à la concentration de 200 mg/mL. Une zone d'inhibition similaire a été obtenue avec l'extrait éthanolique à la même concentration. En revanche, aucune activité antifongique n'a été observée pour l'extrait aqueux, quelle que soit la concentration, contre *Candida albicans*.

En comparaison avec les études antérieures, les travaux de **(Elansary et al., 2020)** sur les extraits méthanoliques des feuilles de *Ruta graveolens* ont démontré une activité antifongique notable contre la majorité des espèces fongiques testées en particulier *Candida albicans* (ATCC 12066). Cette efficacité accrue est attribuée à la richesse de la plante en composés phénoliques bioactifs. Parmi ces composés : la quercétine, l'acide isochlorogénique, l'acide p-coumarique, la quercitrine et l'acide rosmarinique qui ont été montrés des propriétés antifongiques significatives. Les activités les plus marquées étant observées pour l'acide isochlorogénique et la quercétine.

Une autre étude menée par **(Reis et al., 2020)**, en utilisant des extraits éthanolique à 70 % des feuilles, des tiges et des fleurs de *Ruta graveolens*, a montré que l'extrait possédait une activité antifongique contre *Candida albicans* avec une zone (20mm) .

Similairement, **(Azizi et al., 2012)** confirment que les extraits éthanolique et acétate d'éthyle des feuilles de *Ruta graveolens* présentent un effet antifongique significatif contre différentes souches fongiques, notamment *Penicillium spp.* et *Aspergillus flavus*. Par contre, **Ojala et al., 2000)** ont rapporté que l'extrait de coumarine issu des feuilles de *Ruta graveolens* n'exerce aucun effet antifongique contre *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* et *Botrytis cinerea*. Cependant, cet extrait a montré une certaine activité antifongique vis-à-vis de *Fusarium culmorum*, *Heterobasidion annosum* et *Rhizoctonia solani*. Ce qui montre la richesse de cette espèce par les composés naturels antifongiques et phytotoxiques.

Conclusion

Générale

Conclusion général

Face à la montée de la résistance aux antimicrobiens, l'identification de solutions naturelles efficaces devient essentielle. Les plantes médicinales, riches en composés bioactifs, offrent un potentiel important pour le développement d'alternatives thérapeutiques. Bien tolérée par l'organisme, la phytothérapie connaît un regain d'intérêt, notamment en raison des effets indésirables des traitements conventionnels. Dans ce cadre, *Ruta graveolens*, reconnue pour ses propriétés médicinales variées, fait l'objet de recherches prometteuses visant à détecter de nouveaux agents antimicrobiens d'origine végétale.

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et biologique (antimicrobienne) des divers extraits provenant des feuilles de *Ruta graveolens*, une plante largement utilisée dans la médecine traditionnelle Algérienne, récoltée dans la région de Zelfana - Ghardaïa.

Le calcul des rendements des extraits bruts des feuilles de *Ruta graveolens*, préparés par macération à froid à l'aide de solvants aqueux, éthanolique et acétate d'éthyle, a révélé des différences significatives en fonction des solvants utilisés. Ces écarts s'expliquent par la solubilité variable des composés extraits et leur nature chimique. Les résultats indiquent que l'extrait aqueux présente le rendement le plus élevé (24,64 %), suivi de l'extrait éthanolique (12 %), tandis que l'extrait d'acétate d'éthyle note le rendement le plus faible (2,26 %).

L'analyse qualitative, réalisée par un criblage phytochimique, a mis en évidence la richesse des feuilles en métabolites secondaires, notamment les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les stéroïdes. En revanche, la présence de coumarines n'a été détectée qu'en faibles quantités dans l'extrait aqueux. Par ailleurs, les tests de détection des quinones libres, des composés réducteurs, des terpénoïdes et des anthocyanines se sont révélés négatifs.

Les analyses quantitatives, réalisées par spectrophotométrie, ont permis de déterminer les teneurs en certains composés phénoliques telles que les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tanins condensés et les acides phénoliques. Les résultats montrent que l'extrait aqueux détermine les concentrations les plus élevées en phénols totaux ($15,54 \pm 0,009$ mg EAG/g), en flavonoïdes ($1,26 \pm 0,126$ mg ER/g) et en tanins condensés ($0,034 \pm 0,099$ mg EC/g) de matière végétale sèche. En revanche, l'extrait d'acétate d'éthyle s'est révélé être le plus efficace pour l'extraction des acides phénoliques, avec une teneur de $0,134 \pm 0,000$ mg EAC/g MS.

L'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *Ruta graveolens* a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Les tests ont été réalisés contre trois souches bactériennes de référence, à savoir *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), ainsi qu'une souche fongique : *Candida albicans* (ATCC 10231). Les résultats ont révélé, d'une part, une absence d'activité antibactérienne notable pour l'ensemble des extraits vis-à-vis des bactéries testées, en comparaison aux antibiotiques standards, à l'exception d'une activité très faible contre *E. coli* observée avec les extraits aqueux et éthanolique. Ces derniers ont produit des zones d'inhibition allant de 7 mm à 9 mm selon les concentrations testées.

D'autre part, l'évaluation de l'activité antifongique a montré une inhibition modeste de la croissance de *Candida albicans*, uniquement avec les extraits à l'éthanol et à l'acétate d'éthyle, générant des zones d'inhibition comprises entre 7 et 9 mm. Ces résultats indiquent une activité antifongique faible, dépendant du type de solvant utilisé. Bien que les extraits de *Ruta graveolens* aient montré une richesse en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, leur activité antimicrobienne s'est révélée globalement faible contre les souches bactériennes et fongiques testées.

Ces résultats suggèrent que, malgré un potentiel phytothérapeutique reconnu, l'activité antimicrobienne de *Ruta graveolens* dépend fortement de facteurs biotiques et abiotiques. Des recherches complémentaires sont nécessaires, incluant :

- L'analyse comparative des plantes issues de différentes régions.
- La standardisation des conditions de culture et de récolte.
- L'isolement et l'identification des principes actifs spécifiques.
- L'exploration de méthodes d'extraction plus sélectives ou plus puissantes.
- Tester d'autres activités pharmacologiques comme anti-inflammatoire, antidiabétique, antipyrétique et cicatrisante.

*Références
bibliographiques*

A

1. **A.Chaouche (2015).** Étude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. *Thèse de doctorat non publiée*, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Tlemcen.
2. **Abdi, A., & Tirouche, R. (2022).** Étude du potentiel de rendement en huile essentielle et de l'activité antifongique de la Rue (*Ruta graveolens* L.) de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie) [Mémoire de master, Université 8 mai 1945-Guelma]. DSpace Université de Guelma.
3. **Abcha, I. (2020).** Etude du potentiel biopharmaceutique et nutraceutique de deux plantes médicinales et comestibles de la Tunisie: *Rhus tripartita* L. et *Ziziphus lotus* L. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. *Institute National Agronomies de Tunisie*.
4. **Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020).** Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12, 1–10.
5. **Agatonovic-Kustrin, S., Gegechkori, V., Mohammed, E. U. R., Ku, H., & Morton, D. W. (2022).** Isolation of bioactive pentacyclic triterpenoid acids from olive tree leaves with flash chromatography. *Applied Sciences*, 12(3), 935.
6. **Akhtar, M. S., Swamy, M. K., & Sinniah, U. R. (Eds.). (2019).** Natural Bio-active Compounds: Volume 1: Production and Applications (1st Ed.). Springer Singapore.
7. **Amabye, T. G., & Shalkh, T. M. (2015).** Phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity of *Ruta graveolens* L. – A medicinal plant grown around Mekelle, Tigray, Ethiopia. *Natural Products Chemistry & Research*, 3(6), 195.
8. **Arceusz, A., Wesolowski, M., & Konieczynski, P. (2013).** Methods for extraction and determination of phenolic acids in medicinal plants: A review. *Natural Product Communications*, 8(12), 1791–1796.
9. **Angot, J.-L. (2021).** Antibiorésistance animale : santé globale en péril. In S. Abis & M. Brun (Dirs.), *Le Déméter 2021* (pp. 155–171). IRIS Éditions.
10. **Arniati, M., Pratama, M., Baits, M., & Tahir, M. (2022).** Determination of total phenolic levels of ethyl acetate fraction of clove leaves (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr). *Pharmaceutical Reports*, 1(2), 1–5.
11. **Arnou, L. E. (1937).** Colorimétrique détermination of the components of 3, 4-dihydroxyphenylalanine-tyrosine mixtures. *Journal of Biological Chemistry*, 118(2), 531–537.

B

12. **Baba Ouyoub, F. (2017).** Evaluation des activités biologiques de quelques extraits de *Zizyphus lotus* de la région de Ghardaïa. Mémoire de master. Université de Ghardaïa, Algérie. pp 46.
13. **Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496.
14. **Brooks, B. D., & Brooks, A. E. (2014).** Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 78, 14–27.
15. **Beddou, F. (2015).** Activité antioxydante et antimicrobienne de quelques plantes médicinales de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.
16. **Ben Salah, I., Smaoui, A., Mahmoudi, H., & Ouerghi, Z. (2021).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante chez *Ephedra alata alenda*. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 14(10) Série II, 23–30.
17. **Benkherouf, H., Saka, K., & Rahmoune, C. (2022).** Profil chromatographique des composés phénoliques de *Ruta graveolens*. *Revue des Sciences et Technologies*, 18(1), 45–5.
18. **Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Bobelé Niamké, F., & N'Guessan, J. D. (2018).** Étude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 046, 50–58.
19. **Borghi, S. M., Zaninelli, T. H., Carra, J. B., Heintz, O. K., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., ... & Casagrande, R. (2022).** Therapeutic potential of controlled delivery systems in asthma: Preclinical development of flavonoid-based treatments. *Pharmaceutics*, 15(1), 1.
20. **Boucif, H. (2018).** Évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits de *Ruta Tuberculata Forsk.* [Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra]. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Département des sciences de la nature et de la vie.
21. **Bourguignon, M., Doignon, Y., Eggerickx, T., Sanderson, J.-P., & Vanwambeke, S. (2024).** La mortalité selon les causes de décès : approches spatio-temporelles. *Travail, Temps et Qualifications*, 3-1, 2023/2024.

22. **Carvalho, A. V. de, Lübeck, I., Rocha, M. B. da, Güez, C. M., Machado, M. M., & Oliveira, L. F. S. de. (2015).** Evaluation of the tickcide, genotoxic, and mutagenic effects of the *Ruta graveolens* L. (Rutaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 37(4), 491–497.
23. **Chaibeddra, Z. (2014).** Etude comparative des substances bioactives chez *Ruta monata* L. et *Ruta tuberculata* Fors k. [Mémoire de Magistère, Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi]
24. **Chavan, U. D. (2018).** Phenolic: Antioxidants and Health Benefits. *Scientific Publishers*. ISBN: 978-9386652133.
25. **Correa, M. S., Schwambach, J., Mann, M. B., Frazzon, J., & Frazzon, A. P. G. (2018).** Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(4).
26. **Cumming, E., & Peters, C. (2024).** Immune response to infection. *Physiology*, 25(6), 439–443.

D

27. **Dall'armellina, A. (2021).** Extraction-formulation de produits naturels issus du végétal dans des émulsions stables et conception de formulations sèches bioactives : Conception d'extrémulsion de curcumine [Thèse de doctorat, Avignon Université].
28. **Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L. M., Badoc, A., & Gmira, N. (2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142, 61–78.
29. **Dar, R. A., Shahnawaz, M., Ahanger, M. A., & Majid, I. U. (2023).** Exploring the diverse bioactive compound from medicinal plants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(3), 189–195.
30. **Delgado, A., Gonçalves, S., & Romano, A. (2023).** Mediterranean diet: The role of phenolic compounds from aromatic plant foods. *Foods*, 12(4), 840.
31. **Desenclos, J.-C., & DeValk, H. (2005).** Les maladies infectieuses émergentes : importance en santé publique, aspects épidémiologiques, déterminants et prévention. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 35(1), 49–61.
32. **Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. ET Ju, and Y.-H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.

33. **Donadu, M. G., Peralta-Ruiz, Y., Usai, D., Maggio, F., Rizzo, D., Bussu, F., Rubino, S., Zanetti, S., Paparella, A., & Chaves Lopez, C. (2023).**Colombian essential oil of *Ruta graveolens* against *Candida sp.* Isolated from the oral cavity of patients with head and neck cancer. *Antibiotics*, 12(1), 123.
34. **Dos Reis, C. M., Azevedo, L. M. S., & Casteluber, M. C. F. (2021).** *Ruta graveolens*, *Pelargonium graveolens* and *Hibiscus cannabinus* as natural inhibitors of growth of *Candida albicans*. *Revista Uningá*, 58, eUJ4124.
35. **Dubreuil, A. (2021).** Synthèse de nouveaux sels de benzimidazolium rigide pour la perméabilisation membranaire (Mémoire de Master, Département de chimie, Université de Montréal).

E

36. **Ekiert, H., Szopa, A., Klimek-Szczykutowicz, M., & Kwiatkowski, P. (2020).** Polyphenol Content and Biological Activities of *Ruta graveolens* L. and *Artemisia abrotanum* L. in Northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(5), 531.
37. **Etana, B., Enticha, T., & Debella, A. (2017).** Determination of total tannins in selected traditional Ethiopian medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(2), 100–106.
38. **Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., El-Ansary, D. O., Al-Mana, F. A., & Mahmoud, E. A. (2020).** Polyphenol content and biological activities of *Ruta graveolens* L. and *Artemisia abrotanum* L. in Northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(5), 531.
39. **Ellwanger, J. H., da Veiga, A. B. G., Kaminski, V. L., Valverde-Villegas, J. M., deFreitas, A. W. Q., & Chies, J. A. B. (2021).**Control and prevention of infectious diseases from a One Health perspective. *Genetics and Molecular Biology*, 44(1 suppl 1), e20200256.
40. **Eseberri, I., Trepiana, J., Léniz, A., Gómez-García, I., Carr-Ugarte, H., González, M., & Portillo, M. P. (2022).** Variability in the beneficial effects of phenolic compounds: A review. *Nutrients*, 14(9), 1925.
41. **Essawy, E., Abdelfattah, M. S., El-Matbouli, M., & Saleh, M. (2021).** Synergistic effect of biosynthesized silver nanoparticles and natural phenolic compound against drug-resistant fish pathogens and their cytotoxicity: An *in vitro* study. *Marine Drugs*, 19(1), 22.

F

42. **Farhan, M., Pan, J., Hussain, H., Zhao, J., Yang, H., Ahmad, I., & Zhang, S. (2024).** Aphid-resistant plant secondary metabolites: Types, insecticidal mechanisms, and prospects for utilization. *Plants* (edited by V.G.M. Bus), 1–23. MDPI, Basel.
43. **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba**
44. **M.et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their
45. Biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372 -379.
46. **Feng, X., Luo, P., Liu, S., & Jiang, Y. (2024).** Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Ruta graveolens* L. A Critical Review and Future Perspectives. *Drug Design, Development and Therapy*, 18, 6459–6485.
47. **Fodor, A., Abate, B. A., Deák, P., Fodor, L., Gyenge, E., Klein, M. G., Koncz, Z., Muvevi, J., Ötvös, L., Székely, G., Vozik, D., & Makrai, L. (2020).** Multidrug resistance (MDR) and collateral sensitivity in bacteria, with special attention to genetic and evolutionary aspects and to the perspectives of antimicrobial peptides—A review. *Pathogens*, 9(7), 522.

G

48. **Gholampour Azizi, I., & Hashemi Karouei, S. M. (2012).** Effect of aquatic, methanolic and ethanolic extracts of *Ruta graveolens* on some mycotoxigenic fungi. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(6), 729–732.
49. **GOUAMI, C., & Nebili, I. (2020).** Screening phytochimique d’une plante médicinale *Ruta graveolens* et l’étude théorique de son activité biologique sur un modèle biologique *Drosophila melanogaster* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
50. **Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010).** Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813–8826.

H

51. **Habera, F., & Laoudi, K. (2019).** Screening phyto-chimique et étude des activités biologiques : anti-oxydante, antibactérienne et insecticide des polyphénols et de l’huile essentielle d’*Artemisia herba alba* (armoise blanche), contribution à la caractérisation d’extrait aqueux par RP-HPLC [Mémoire de Master]. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.
52. **Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d’Algérie. *Phytothérapie*, 14, 268–276.

53. **Hao, K., Hu, W., Hou, M., Cao, D., Wang, Y., Guan, Q., Zhang, X., Wang, A., Yu, J., & Guo, B. (2019).** Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total phenolics from *Citrus aurantium* L. blossoms and evaluation of free radical scavenging, anti-HMG-CoA reductase activities. *Molecules*, 24(12), 2261.
54. **Hoss, I., Rajha, H. N., El Khoury, R., Youssef, S., Manca, M. L., Manconi, M., Louka, N., & Maroun, R. G. (2021).** Valorization of wine-making by-products' extracts in cosmetics. *Cosmetics*, 8(4), 109.
55. **Huamán-Castilla, N. L., Díaz Huamaní, K. S., Palomino Villegas, Y. C., Allcca-Alca, E. E., León-Calvo, N. C., Colque Ayma, E. J., Zirena Vilca, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2024).** Exploring a sustainable process for polyphenol extraction from olive leaves. *Foods*, 13(2), 265.
56. **Hussain, M. A., Nathar, V. N., & Mushtaq, R. (2022).** In vitro plant regeneration and metabolite profiling of an aromatic medicinal plant *Ruta graveolens* L. by using GC-MS. *Current Botany*, 13, 26–33. Institut Pasteur, Unité de Génétique des Biofilms, Département de Microbiologie, Paris, France.

I

57. **Ivanova, A., Mikhova, B., Najdenski, H., Tsvetkova, I., & Kostova, I. (2005).** Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*. *Fitoterapia*, 76(5), 470–472.
58. **Ishak, A., Mazonakis, N., Spernovasilis, N., Akinosoglou, K. ET Tsioutis, C. (2025).** Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 80(1), 1–17.

J

59. **Jazzar, M., Abu Eid, I., Qawasmeh, A. Q., & Fallah, S. (2023).** Biochemical, GC-MS Analysis, Antioxidant, and Phytochemical Screening of the Wild Palestinian Plant *Ruta graveolens*. *Hebron University Research Journal* (A), 12, 51–70.
60. **Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Godevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017).** Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Industrial Crops and Products*, 179, 114601.

K

61. **Khelouf, N., Belkhodja, M., & Beddou, F. (2023).** Evaluation of condensed tannins in medicinal plants using the vanillin-HCl method. *Journal of Medicinal Plants Research*, 17(3), 45–52.
62. **Koffi, E., Sea, T., Dodehe, Y., & Soro, S. (2010).** Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty-three Ivorian plants. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 5(3), 550–558.
63. **Kozioł, E., Luca, S. V., Ağalar, H. G., Sağlık, B. N., Demirci, F., Marcourt, L., Wolfender, J.-L., Józwiak, K., & Skalicka-Woźniak, K. (2020).** Rutamarin: Efficient liquid–liquid chromatographic isolation from *Ruta graveolens* L. and evaluation of its *in vitro* and *in silico* MAO-B inhibitory activity. *Molecules*, 25(11), 2623.
64. **Kosilova, I. S., Domotenko, L. V., & Khramov, M. V. (2024).** Analysis of antibiotic sensitivity of clinical strains of microorganisms with the Russian Mueller–Hinton broth. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 101(6), 820–827.
65. **Kouadio Kouassi, B., Kablan Ahmont, L. C., Ahoua Angora, R. C., Konan Dibi, J., Oussou, K. R., Attioua, K. B., & Dongui, B. K. (2021).** Criblage phytochimique, dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, et évaluation de l’activité antibactérienne des feuilles de *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 33(2), 405–413.

L

66. **Lamaison, C., Freytet, P. J., & Carnat, A. (1991).** Medicinal Laminaceae with antioxidant properties, à potential source of rosmarinic acid. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 66(7), 185–188.
67. **Le, T. H., Nguyen, Q. N., & Tran, T. T. (2025).** Quantitative spectrophotometric assays of polyphenols in herbal medicine. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 18(1), 34–42.
68. **Lebreton, L., Hennart, B., Baklouti, S., Trimouille, A., Boyer, J. C., Becquemont, L., Dhaenens, C. M., & Picard, N. (2024).** Pharmacogénétique de l’ototoxicité des aminosides : état des connaissances et des pratiques recommandations du Réseau francophone de pharmacogénétique (RNPGx). *Thérapies*. 709-717.
69. **Lebeaux, D. & Ghigo, J. M. (2012).** Infections associées aux biofilms : Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ?. *Médecine/Sciences*, 28, 727–739.
70. **Lecheb, F. (2010).** Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique de la matière grasse du noyau des dattes : essai d’incorporation dans une crème cosmétique de soin.

71. **Lemaoui, C. E., Layaida, H., Badi, A., & Foudi, N. (2017).** Infections bactériennes : stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. Département de pharmacie, faculté de médecine, université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. Disponible en ligne depuis le 15 février 2017, version officielle du 28 février 2017.
72. **Lerato, N. M., Samkeliso, T., & Michael, P. (2017).** Preliminary phytochemical screening of crude extracts from the leaves, stems, and roots of *Tulbaghia violacea*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(9), 1300–1308.
73. **Luo, P., Feng, X., Liu, S., & Jiang, Y. (2024).** Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Ruta graveolens* L. A critical review and future perspectives. *Drug Design, Development and Therapy*, 18, 6459–6485.

M

74. **Mahdeb, N., Attafi, K., Bouhouhou, S., Allouni, R., & Bouzidi, A. (2023).** Acute and subacute toxicity of *Ruta Montana* extract to female rats: Effect on liver, kidneys and ovaries. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 11(10), 1862–1870.
75. **Maifi, R., & Salmi, M. (2017).** Etude de l'activité larvicide d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culesita longiareoleta* (Doctoral dissertation Université laarbi tebessi tebessa).
76. **Martí-Quijal, F. J., García-Pérez, J. V., & Lorenzo, J. M. (2021).** Advances in the use of the Folin–Ciocalteu reagent: From basic phenolic detection to complex analysis. *Antioxidants*, 10(4), 602.
77. **Mahmoud, A. M., Ahmed, R. R., Soliman, H. A., & Salah, M. (2015).** *Ruta graveolens* and its active constituent rutin protect against diethylnitrosamine-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(10), 16–21.
78. **Martono, Y., Yanuarsih, F. F., Aminu, N. R., & Muningggar, J. (2019).** Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from *Moringa oleifera* leaves. In International Conference of Science and Science Education, IOP Conf. Series: *Journal of Physics: Conf. Series*, 1307, 012014.
79. **Messaoudi, H. (2020).** Influence des facteurs environnementaux sur les composés bioactifs chez les plantes médicinales. Thèse de doctorat, Université de Biskra.
80. **Molnar, M., Jerković, I., Suknović, D., Bilić Rajs, B., Aladić, K., Šubarić, D., & Jokić, S. (2017).** Screening of six medicinal plant extracts obtained by two conventional methods and

supercritical CO₂ extraction targeted on coumarin content, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity and total phenols content. *Molecules*, 22(3), 394.

81. **Mosbah, K., & Moulay Lakhdar, S. (2020).** Effet anti-brunissement enzymatique de différents extraits de *Phoenix dactylifera L.*, de trois variétés (Deglet Nour, Ghars et Adala) de la région de Metlili-Ghardaïa [Mémoire de master, Université de Ghardaïa, Faculté des sciences de la nature et de la vie]. Université de Ghardaïa.

82. **Mokhtar, F., Khoudja, N. K., Merah, O., & Gherraf, N. (2022).** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Ruta graveolens L.* *Journal of Herbal Medicine*, 32, 100550.

83. **Mushtaq, A., Buensalido, J. A. L., DeMarco, C. E., Sohail, R., & Lerner, S. A. (2021).** Mechanisms of action of antibacterial agents. In *Practical Handbook of Microbiology* (4th ed. pp. 1-30). CRC Press.

N

84. **Naomi, R., Teoh, S. H., Halim, S., Embong, H., Hasain, Z., Bahari, H., & Kumar, J. (2023).** Unraveling obesity: Transgenerational inheritance, treatment side effects, flavonoids, mechanisms, microbiota, redox balance, and bioavailability a narrative review. *Antioxidants*, 12(8), 1523.

85. **Nahar, L., El-Seedi, H. R., Khalifa, S. A. M., Mohammadhosseini, M., & Sarker, S. D. (2021).** *Ruta* essential oils: Composition and bioactivities. *Molecules*, 26(16), 4766.

86. **Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019).** Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. *Processes*, 7(7), 461.

O

87. **Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., & Vuorela, P. (2000).** Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1–2), 299–305...

88. **Ouahida, D., Ridha, O. M., & Eddine, L. S. (2016).** Influence of extraction method on phytochemical composition and antioxidant activity from leaves extract of Algerian *Phoenix dactylifera L.* *Int J Curr Pharm Rev Res*, 7(2), 84-89.

89. **Ould Elhadj, M.D., Tankari Dan-Badjo, A., Halouane, F., Doumandji, S., (2006) :** Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera Cyrtacanthacridinae). *Sécheresse*, 17(3) : 407-414.
90. **Owlia, O., Sadari, H., Rasooli, I., & Sefidkom, F. (2009).** Antimicrobial characteristics of some herbal oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8, 107–114
91. **Özay, C. (2024).** Ethnomedicinal use, phytochemistry and biological activities of *Ruta graveolens* L. In International studies and evaluations in the field of biology (coordonné par H. Akgül), pp. 1–11. SerüvenYayınevi, İzmir.

P

92. **Palma, E., Tilocca, B., & Roncada, P. (2020).** Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 1914.
93. **Peng, W., Wang, X., & Zhang, J. (2022).** Spectroscopic analysis of phenolics: Recent developments and future directions. *Trends in Analytical Chemistry*, 149, 116568.
94. **Peyclit, L., Yousfi, H., Rolain, J. M., & Bittar, F. (2021).** Drug repurposing in medical mycology: Identification of compounds as potential antifungals to overcome the emergence of multidrug-resistant fungi. *Pharmaceuticals*, 14(5), 488.
95. **Prabhu, S. R. (2023).** Infectious and Communicable Diseases: An Overview. In *Textbook of General Pathology for Dental Students*. Springer, Cham. pp 63–72.
96. **Prabhu, S., Ramesh, G., & Muralikrishnan, V. (2021).** Dietary polyphenols: Chemistry and health benefits. In M. R. Shahidi (Ed.), *Handbook of Antioxidant Food Preservation* (2nd ed. pp. 55–76). Academic Press.

R

97. **Radzali, S. A., Markom, M., & Md Saleh, N. (2020).** Co-solvent selection for supercritical fluid extraction (SFE) of phenolic compound from *Labisia pumila*. *Molecules*, 25(24), 5859.
98. **Reddy, D. N., & Al-Rajab, A. (2016).** Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of *Ruta graveolens* L. volatile oils. Center for Environmental Research & Studies, Jazan University, Saudi Arabia. Reçu le 2 juin 2016, accepté le 27 juillet 2016, publié en ligne le 31 août 2016.

99. **Rusu, M. E., Gheldiu, A. M., Mocan, A., Moldovan, C., Popa, D. S., Tomuta, I., & Vlase L. (2018).** Process Optimization for improved phenolic compound recovered from walnut (*Juglans regia* L.) septum: Phytochemical profile and biological activities. *Molecules*, 23(11), 2814.
100. **Raitanen, J. E., Willför, S. M., & Holmbom, B. R. (2020).** Tannins in conifer bark extracts: A review of their chemistry and applications. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 40(3), 220–234
101. **Reis, C. M. dos, Azevedo, L. M. S., & Casteluber, M. C. da F. (2021).** *Ruta graveolens*, *Pelargonium graveolens* and *Hibiscus cannabinus* as natural inhibitors of growth of *Candida albicans*. *Revista Uningá*, 58, eUJ4124.
102. **Rezk, S., Alqabbasi, O., Ramadan, A., & Turkey, M. (2022).** Effect of *Ruta graveolens* extract on the major virulence factors in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection and Drug Resistance*, 15, 7147–7156.
103. **Roy, A., Khan, A., Ahmad, I., Alghamdi, S., Rajab, B. S., Babalghith, A. O., Alshahrani, M. Y., Islam, S., & Islam, M. R. (2022).** Flavonoids a bioactive compound from medicinal plants and its therapeutic applications. *BioMed Research International*, 2022, Article ID 5445291, 9 pages.

S

104. **Saeed, Y. S., Ali, J. F., & Mohammed, M. A. (2023).** Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of *Ruta graveolens* (Rutaceae). *Biodiversités*, 24(6), 3162–3168.
105. **Sebrou, N., & Haouari, H. (2018).** Étude comparative de l'activité antioxydante et des composés phénoliques de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat, Université Constantine 1.
106. **Sahli, R. (2017).** Étude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. Thèse de doctorat en Sciences du médicament et des autres produits de santé & Génie biologique, Université Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Laboratoire de pharmacognosie, Institut Charles Violette & Université de Carthage, Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, Laboratoire des Plantes Aromatiques et Médicinales, Centre de Biotechnologie de Borj Cédria. Soutenue le 13 juillet 2017.
107. **Sadiq, M. B., Razavi, S. M., & Yusof, N. A. (2024).** Functional roles and therapeutic applications of phenolic acids in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(4), 642–659.

108. **Sampaio, O. M., Vieira, L. C. C., Belleto, B. S., King-Diaz, B., Lotina-Hennsen, B., Silva, M. F. G. F. da, & Veiga, T. A. M. (2018).** Evaluation of Alkaloids Isolated from *Ruta graveolens* as Photosynthesis Inhibitors. *Molecules*, 23(11), 2814.
109. **Swami, S. B., Ghgare, S. N., Swami, S. S., Shinde, K. J., Kalse, S. B., & Pardeshi, I. L. (2020).** Natural pigments from plant sources: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 9(10), 566–574.
110. **Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with Phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158
111. **Shahrajabian, M. H. (2024).** A candidate for health promotion, disease prevention and treatment: Common rue (*Ruta graveolens* L.), an important medicinal plant in traditional medicine. *Current Reviews in Clinical and Experimental Pharmacology*, 19(1), 2–11.
112. **Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Cloeckaert, A., et al. (2009).** Comparative analysis of extended-spectrum β -lactamase-carrying plasmids from different members of *Enterobacteriaceae* isolated from poultry, pigs and humans: Evidence for a shared β -lactam resistance gene pool? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63, 1286–1288.
113. **Smail, K. (2016).** Étude théorique et expérimentale des activités biologiques de quelques composés de la famille des flavonoïdes [Thèse de doctorat, Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie]. [s.l.]: [s.n.].
114. **Susanti, E. V. H., Mulyani, S., Ariani, S. R. D., Utomo, S. B., & Antrakusuma, B. (2021).** Phytochemical Screening of Honey Pineapple Peel Extract and Its Application as an Antibacterial Additive in Dish Soap Formulation. *JKPK (Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia)*, 6(1), 49–58.
115. **Szewczyk, A., Marino, A., Molinari, J., Ekiert, H., & Miceli, N. (2022).** Phytochemical characterization, and antioxidant and antimicrobial properties of agitated cultures of three rue species: *Ruta chalepensis*, *Ruta Corsica*, and *Ruta graveolens*. *Antioxidants*, 11(3), 592.
116. **Szopa, A., Ekiert, H., & Klimek-Szczykutowicz, M. (2012).** Effect of light quality on the accumulation of phenolic acids in *Ruta graveolens* shoot cultures. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 54(1), 1–9.
117. **Stevens, J. F., & Maier, C. S. (2019).** Flavonoids as modulators of inflammation and immunity. *Frontiers in Plant Science*, 10, 792.
118. **Sultana, K., Khattak, A., Rizwan, M., Hussain, Z., Rauf, A., & Al-Duais, M. A. (2024).** The Family Rutaceae: A Comprehensive Review of Its Phytochemical and Pharmacological

- Perspectives. In A. Rauf, H. A. R. Suleria, & S. M. M. Shah (Eds.), *Phytochemical and Pharmacological Investigation of the Family Rutaceae* (pp. 97–132). Apple Academic Press.
119. **Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998).** Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4267-4274.
120. **Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023).** Therapeutic potential of phenolic compound in medicinal plants Natural health products for human health. In G. Ribaud (Ed.), *Molecules* (pp. 1–15). MDPI, Basel.
121. **Sun, Y., Yang, X., & Liu, H. (2023).** Recent advances in pharmacological activity and mechanism of flavonoids. *Food Chemistry*, 415, 135632.
122. **Swami, S. B., Ghgare, S. N., Swami, S. S., Shinde, K. J., Kalse, S. B., & Pardeshi, I. L. (2020).** Natural pigments from plant sources: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 9(10), 566–574.

T

123. **Telli, A. (2017).** Contribution à l'étude phytochimique et biologique de *Ruta graveolens* L. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif 1.
124. **Timur, M., Yildirim, A. B., & Yildirim, M. (2023).** Antioxidant and antimicrobial activities of tannin-rich plant extracts: A review. *Phytotherapy Research*, 37(1), 15–30
125. **Touaibia, M. (2021).** Potentiel antioxydant des extraits méthanoliques de *Ruta graveolens*. Thèse de doctorat, Université de Batna 1.
126. **Tomczyk, M., Wiater, M., & Pleszczyńska, M. (2013).** Arnow's assay for hydroxycinnamic acid quantification in plant extracts. *Acta Chromatographica*, 25(1), 129–140.
127. **Trifan, A., Păltinean, R., & Vlase, L. (2021).** Polyphenolic profile and antioxidant activity of Romanian medicinal plants. *Plants*, 10(3), 589.
128. **Trease, E., Evans, W.C. (1987).** Pharmacognosie, BilliaireTindall: London

U

129. **UNAIDS** (n.d.). Fact sheet. Disponible sur : <https://www.unaids.org/fr/resources/fact-sheet> (consulté le 23 mai 2025)
130. **Uwikunda Serondo, H., Bahati Mategeko, A., Nizigiyimana, L., & Mpiana Tshimankinda, P. (2022).** Criblage phytochimique, évaluation des activités antimicrobiennes

et antiradicalaires des extraits de la partie aérienne de *Leucas martinicensis* (Jack.) R.Br. (Lamiaceae) et de ses fractions. *Afrique SCIENCE*, 21(4), 181–193.

V

131. **Villela, A., van Vuuren, M. S. A., Willemen, H. M., Derksen, G. C. H., & van Beek, T. A. (2019).** Photo-stability of a flavonoid dye in presence of aluminium ions. *Dyes and Pigments*, 162, 222–229.

W

132. **Wang, Z., Liu, Y., & Zhang, X. (2023).** Antiviral and immunomodulatory activity of dietary flavonoids: Current status and future perspectives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 164, 115712.

133. **Walsh C. (2013).** Antibiotics: actions, origins, resistance. *ASM Press*. Washington. p. 117.

134. **World Health Organization. (2022).** World health statistics 2022: Monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization.

135. **Wulandari, I., Kusuma, I. W., & Kuspradini, H. (2018).** Antioxidant and antibacterial activity of *Litsea garciae*. In *1st International Conference on Tropical Studies and Its Application (ICTROPS)*, IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 144, 012024.

X

136. **Xu, Y., Bian, S., Shang, L., Wang, X., Bai, X., & Zhang, W. (2024).** Phytochemistry, pharmacological effects and mechanism of action of volatile oil from *Panax ginseng* C.A.Mey: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1436624.

Z

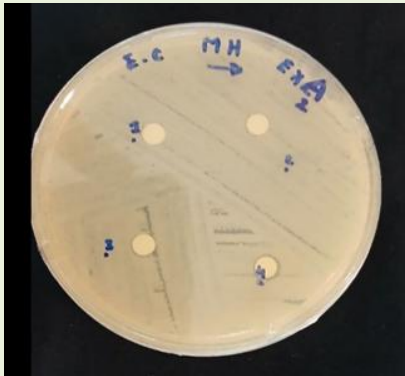
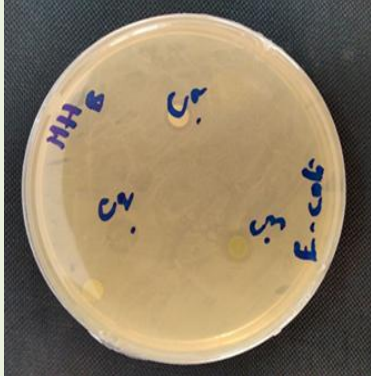
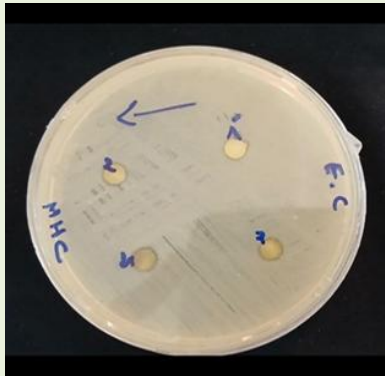
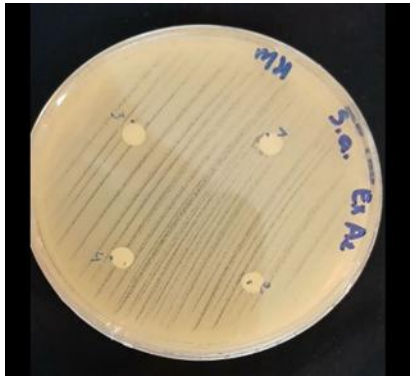
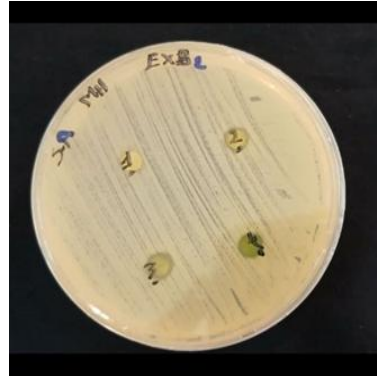
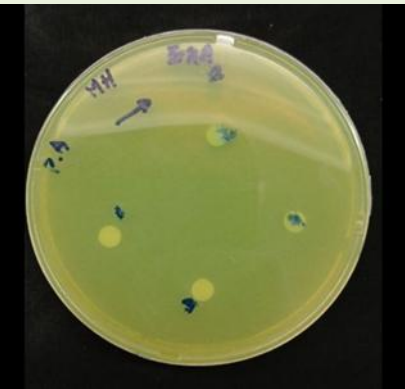
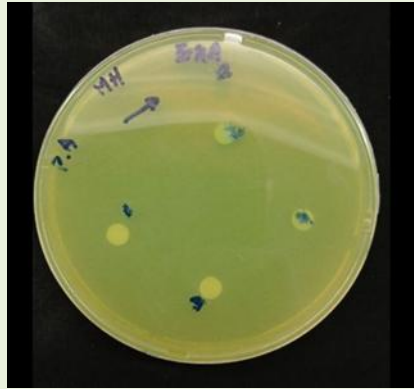
137. **Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D., Whittaker, M. A., & Tanner, M. (2020).** *One Health: une seule santé pour un monde unifié*. Éditions Quae, Paris.

138. **Zulhendri, F., Chandrasekaran, K., Kowacz, M., Ravalía, M., Kripal, K., Fearnley, J., & Perera, C. O. (2021).** Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: A review. *Foods*, 10(6), 1360.

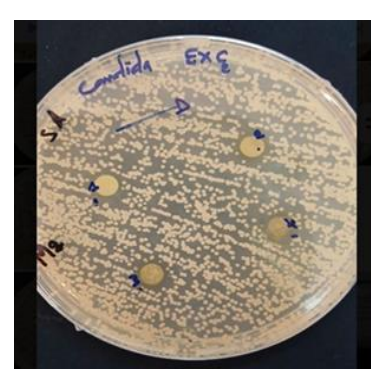
Annexes

Annexes 1 :

Tableau :Activité antimicrobienne des extraits aqueux, éthanolique et acétate d'ethyle de *Ruta graveolens* contre les souche testé .

	Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait acétate d'éthyle
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)			
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)			

*Candida
albicans*
(ATCC
10231)



Annexe 2 :

Tableau : Spectre d'action, mode d'action de Gentamicine et Ciprofloxacine

Antibiotiques	Spectre d'activité	Mode d'action
Gentamicine	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Sous unité 30S du ribosome. Erreur de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines.
Ciprofloxacine	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV.

Annexe 3 :

Tableau : Matrice de corrélation entre les teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en tanins condensés et en acides phénols.

Variables	PPT	Flav	Tanin	Ac phénol
PPT	1			
Flav	0,996	1		
Tanin	0,747	0,745	1	
Ac phénol	-0,719	-0,731	-0,186	1