

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences Biologiques"

Spécialité : "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par :

- **ABDELHADI Renda**
- **ABID Imène**
- **BOUZOUINA Fatima Zohra Hora**

THÈME

Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du laurier noble

Soutenu publiquement le 27-Septembre-2020

MEMBRES DE JURY :

Présidente	Pr. DOUKANI Koula	Professeur	Université de Tiaret
Encadrant	Dr. OMAR Yamina	MCA	Université de Tiaret
Co-Encadrant	Mr. BENBEGUARA Mourad	MAA	Université de Tiaret
Examineur	Dr. NEGADI Mohamed	MCB	Université de Tiaret

Année universitaire : 2019 – 2020

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences Biologiques"

Spécialité : "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par :

- ABDELHADI Renda
- ABID Imène
- BOUZOUINA Fatima Zohra Hora

THÈME

Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du laurier noble

Soutenu publiquement le 27-Septembre-2020

MEMBRES DE JURY :

Présidente	Pr. DOUKANI Koula	Professeur	Université de Tiaret
Encadrant	Dr. OMAR Yamina	MCA	Université de Tiaret
Co-Encadrant	Mr. BENBEGUARA Mourad	MAA	Université de Tiaret
Examineur	Dr. NEGADI Mohamed	MCB	Université de Tiaret

Année universitaire : 2019 – 2020

REMERCIEMENTS



Au début et avant tout, au nom de Dieu clément et miséricorde Dieu le grand merci lui revient, pour l'aide, la volonté qu'il nous a données pour surmonter tous les obstacles durant nos années d'études surtout ces derniers mois, de nous avoir donné le courage et la santé et de nous avoir éclairé notre chemin afin de réaliser ce modeste travail.

Ce mémoire n'aurait vu le jour sans la confiance, la Patience et la générosité de tous nos enseignants. Nous tenons à exprimer notre gratitude envers tous ceux qui nous ont aidé et soutenu tout au long de la réalisation de ce travail.

Tout d'abord, nous tenons à remercier du fond du cœur, notre encadrant Dr. OMAR Y., nous avoir proposé ce thème et pour la totale confiance qu'elle nous a accordée, son soutien, ses précieux conseils, et ses encouragements qui ont permis le bon déroulement de ce travail.

Nous sommes également sensible à l'honneur que nous fait Mr. BENBEGUARA M., en acceptant d'être le co-encadrant de ce travail, Nous aimerions lui adresser nos plus vifs remerciements pour l'attention qu'il a porté à ce mémoire, pour sa confiance, son soutien, sa disponibilité et sa rigueur dans le travail.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury.

Merci à Pr. DOUKANI Koula, d'avoir fait l'honneur de présider le jury. Aussi nous avons vraiment hâte de vous remercier autant que vous étiez notre chef de spécialité.

Nous tenons à remercier également Dr. NEGADI M.,

pour l'honneur qu'il nous a réservé d'avoir accepté d'examiner ce travail.

On remercie vivement les ingénieurs du Laboratoire « Sciences Alimentaires » de notre faculté et du Microbiologie de laboratoire de recherche « hygiène et pathologie animale » où l'étude microbiologique et l'activité antibactérienne d'huile essentielle ont été effectuées. Pour leur aide ainsi que pour leur gentillesse et leur disponibilité.

Nos profonds remerciements vont aussi aux nos chers enseignants, BENAÏSSA Toufik, HASSANI Abdelkrim, TAIBI Khaled, ACHIR Mohamed, AIT HAMMOU Mohamed, TEDJ Abdelkader, AIT ABDERRAHIM Leila, BOUSSAID Mohamed, et TABAK Souhila, qui nous ont toujours accueillis avec une grande sympathie, bienveillance et avec leurs suggestions et leurs remarques constructives durant nos recherche, qui nous ont suivis le long de nos études et qui nous ont toujours apporté une aide technique, encore merci pour tout.

Enfin, nous remercions, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Un grand merci à ma famille généreuse, qui a toujours ma soutenus.

*Je dédie cette réussite à toute la famille **BOUZOUINA** : grand-mère, tantes et oncles.*

*À ceux que je vois sans eux, mes vrais parents, avec qui j'ai passé mon enfance et sans eux je ne serais jamais arrivée à ce stade de réussite : maie **SHAIRA** et boyi **EL-MESNI***

*Mère / Père : **YAMNA / MILLOU** et ce, en reconnaissance de leur amour, compréhension, sacrifice, soutien, appui, et pour tout ce que vous avez fait pour nous.*

*À mon deuxième père, comme une personne connue par sa moralité, son amour, sa sagesse, son intégrité qui possède dans chaque cœur (surtout **grands**) une position particulière. Mon-bien-aimée- comme son surnom l'indique : **HBIRI**.*

« Si nous être humain à une seule mère, Dieu m'a offert CINQ mère en plus »

*La petite, c'est une mère, adorable sœur, tante, soutien, appui et vie : **MIMI** ;*

*À celle que je porte son prénom, à très chère personne à mon cœur : tata **HORRA** ;*

*À celle qui porte un cœur tendre : tata **MESSOU DA** ;*

*À l'aînée, notre mère, propriétaire d'un grand et bon cœur : **HBIRI** ;*

*Tata **HALIMA**, pour sa tendresse et sa bonté.*

« Ils disent les frères, la gloire et le soutien »

*Pour l'aînée d'entre eux **ASMA, SARAH, SARRINA, MANEL, AICHA** et **AYOUTA** ; que Dieu rend vos jours pleins de bonheur, Amour, réussite et bien-être*

*Mes frères, mes proches, les hommes de la famille : **AMINE, NOURREDDINE, LAHCEN, HAMADA, HAMOU DA, ALAA** et **YACINE**. Que Dieu se réjouisse dans vos cœurs et passe vos espoirs d'un succès à l'autre*

*Une dédicace spéciale et particulière à mon défunt frère « **MALIK** » qui nous a quitté récemment. Que Dieu ait pitié de toi.*

*Toutes les dédicaces sont d'un côté et le mot « Tante » d'un d'autre a touché mon cœur, à mes nièces **MARIA** et **DOUAA**.*

*à ma plus chère amie et adorable sœur **RACHEA**. Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué à ma joie et à la réalisation de mon rêve.*

Merci d'être à mon côté.

Merci beaucoup à mes fidèles amis (es) ; je vous dédie mon succès.

Je vous souhaite la meilleure des chances

Merci à tous ceux qui ont contribué à mon rêve.

BOUZOUINA Fatima Zohra Hora

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond d'amour :

À ma petite famille qui ma doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Particulièrement ;

A mon chère papa

DJILLALI

A ma chère mama

ALIA

qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À mon seul frère :

MOHAMED MELEK

À ma chère sœur : HAYET qui m'avez toujours

soutenu et encouragé durant mes années d'étude

À mes chères nièces :

FATIMA. Z et SOFIA

À mes vrais copine d'amour

ASMAA et FATIMA. Z

Pour leur soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes 5ans d'études

À mes amies et mes proches :

NERINE, RANDA

,KAOUTHAR ,KIMA

Aussi toutes les personnes

qui m'ont soutenu durant la réalisation de ce travail depuis le début jusqu'à la fin. Sachez qu'ALLAH est reconnaissant envers tous bienfaiteu.

Imène

DEDICACES

- *Un rêve qui se réalise grâce à Dieu le tout puissant, ce mémoire est enfin achevé, je le dédie aux personnes qui me sont très chères :*
- *A la mémoire de mon très cher papa, que son âme repose bien au paradis, ce travail est le fruit de ses conseils qui resteront à jamais gravés dans mon coeur et mon esprit.*
- *A ma très chère maman, que dieu la protège, je la remercie infiniment pour son amour, son soutien et ses sacrifices, tout pour mon bonheur, je lui serais toujours reconnaissante.*
- *A mes adorables frères : MHAMED, FETHI, HAMZA, MOULAY, CHIHAB.*
- *A ma chère soeur HIZIYA, son époux MOHAMED et ses enfants ILIAS, MARAM, MARWA ET ANWAR.*
- *A mes neveux ABDELDEJBAR, WIAAM et leur papa.*
- *A ma grand mère, que dieu protège, je le souhaite beaucoup de santé.*
- *A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans exception.*
- *A tous mes amis (es) » pour leur présence et le soutien de tous les instants qu'ils m'ont apportés, avec toute mon affection et ma reconnaissance.*

A mon amie, soeur d'abord puis binôme après ces 5ans : iman pour tous les moments durs et agréables passés ensemble, ainsi qu'à toute sa famille

Randa

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Liste des annexes.....	iv

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités Sur Le Laurier Noble

I.1. Famille Lauraceae.....	03
I.2. <i>Laurus nobilis</i> L.	04
I.3. Description botanique.....	05
I.4. Classification botanique	06
I.5. Composition phytochimique	07

Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1. Historique.....	09
II.2. Définition	09
II.3. Répartition et localisation	11
II.4. Caractéristiques physico-chimiques	12
II.4.1. Caractéristiques physiques	12
II.5. Composition chimique	12
II.5.1. Terpenoïdes	13
II.5.1.1. Monoterpènes	13

II.5.1.2. Sesquiterpènes	14
II.5.2. Composés aromatiques	14
II.5.3. Composés d'origines diverses	14
II.5.4. Esters.....	14
II.5.4.1. Notion de chémotype ou chimiotype.....	15
II.6. Facteurs influençant la composition chimique des HEs	16
II.6.1. Facteurs intrinsèques	16
II.6. 1.1. Chémotypes Génétique	16
II.6. 1.2. Selon l'organe	16
II.6.1.3. Au cours du cycle végétatif	16
II.6.2. Facteurs extrinsèques	17
II.7. Activités biologique et pharmaceutique	17
II.7.1. Activités biologiques	17
II.7.1.1. Antibactériennes.....	17
II.7.1.2. Antivirales	19
II.7.1.3. Antifongiques.....	19
II.7.1.4. Antiparasitaires	20
II.7.1.5. Antiseptiques	20
II.7.2. Activités Anti-inflammatoires.....	20
II.7.3. Activités Régulatrices du système nerveux	21
II.7.3.1 Antispasmodiques	21
II.7.3.2. Calmantes, anxiolytiques et hypnotiques.....	21
II.7.4. Activités respiratoires	22
II.7.4.1. Expectorantes	22

II.7.4.2 .Fluidifiantes	22
II.7.5. Activités digestives	22
II.7.6. Activités cicatrisantes.....	22
II.7.7. Activités pharmacologiques	23
II.8. Toxicité des huiles essentielles.....	23
II.9. Principaux domaines d'application	24
II.9.1. En pharmacie.....	24
II.9.2. En parfumerie et cosmétologie	25
II.9.3. Dans les industries Agro-alimentaires	25

Chapitre III : Les principales bactéries d'intérêt médical

III.1. <i>Escherichia coli</i>	26
III.1.1. Définition.....	26
III.1.2. Physiopathologie.....	27
III.1.3. Sensibilité aux antibiotiques.....	30
III.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	30
III.2.1. Définition	30
III.2.2. Physiopathologie	31
III.2.2.1. Protéines de surface : colonisation	31
III.2.3. Pouvoir pathogène	33
III.2.3.1. Infections suppuratives superficielles et profondes	33
III.2.3.2. Infections non suppuratives d'origine toxinique	34
III.2.3.3. Syndromes cutanés staphylococciques	34
III.2.4. Sensibilité aux antibiotiques.....	35

Deuxième Partie : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1. Objectif expérimental	36
I.2. Lieu et période de travail	36
I.3. Matériel	36
I.3.1 Matériel végétale.....	36
I.3.2. Matériel biologique	38
I.3.3. Matériel du laboratoire	39
I.4. Méthodes.....	40
I.4.1. Protocole expérimental.....	40
I.4.2. Extraction	41
I.4.2.1. Hydrodistillation	41
I.4.2.2. Détermination du rendement	44
I.4.3. Activité antibactérienne	44
I.4.3.1. Confirmation des bactéries	46
❖ Etude macroscopique.....	46
❖ Etude microscopique	47
❖ Etude biochimique	49
✓ Test de la catalase	49
✓ Test d'oxydase	50
✓ Mannitol Mobilité.....	50
✓ Citrate de Simmons « CS ».....	51
✓ Triple Sugar Iron « TSI »	51
✓ Viande Foie « VF »	52
✓ Test d'ONPG	53
✓ La gélose ADN ase	54
✓ Test de coagulase	55

I.4.3.2. Aromatogramme	56
------------------------------	----

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Détermination du rendement	63
a. Etat frais	63
b. Etat sec	63
II.2. Activité antibactérienne.....	64
✓ Purification.....	64
II.2.1. Confirmation des bactéries.....	64
✓ Observation macroscopique.....	64
✓ Observation microscopique.....	65
• Etats frais.....	65
• Coloration de Gram.....	67
✓ Etude biochimique.....	69
❖ Recherche de la catalase.....	69
❖ Recherche d'oxydase.....	69
❖ Le milieu MC.....	70
❖ La recherche de type respiratoire	71
❖ Le milieu M M	72
❖ Le milieu C S	72
❖ Le milieu T S I	73
❖ Le milieu ONPG	74
❖ Le milieu ADN ase	75

❖ Coagulase	76
II.2.2. Aromatogramme.....	79
Conclusion	84
Références bibliographiques.....	85
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Position systématique de <i>Laurus nobilis</i>	06
Tableau 02 : Pouvoir pathogène de l' <i>E. coli</i> chez l'Homme.....	29
Tableau 03 : Sensibilité d' <i>E. coli</i> aux ATB	30
Tableau 04 : Différents états du matériel végétal.....	38
Tableau 05 : Matériel, verreries et produits utilisés.....	39
Tableau 06 : Aspect des colonies bactériennes sur gélose nutritive.....	65
Tableau 07 : Résultats de coloration de Gram des souches bactérienne <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i>	68
Tableau 08 : Résultats des tests d'identification biochimique d' <i>E. coli</i>	70
Tableau 09 : Résultats du type respiratoire des bactéries	72
Tableau 10 : Résultats d'identification biochimique de <i>S. aureus</i>	75
Tableau 11 : Résultats d'aromatogramme d'HE de Laurier sur <i>E. coli</i>	81
Tableau 12 : Résultats d'aromatogramme d'HE de Laurier sur <i>S. aureus</i>	81

Liste des figures



Figure 01 : Distribution des Lauracées à travers le monde.....	03
Figure 02 : Arbuste de Laurier noble.....	05
Figure 03 : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i>	06
Figure 04 : Structure générale d'un ester	14
Figure 05 : Exemple de réaction de synthèse d'un ester	15
Figure 06 : Aspect morphologique d' <i>Escherichia coli</i>	27
Figure 07 : Répartition géographique de lieu de récolte -MCHARAF, Tiaret.....	37
Figure 08 : Protocole expérimental.....	40
Figure 09 : Mise en place du montage d'hydrodistillateur.....	42
Figure 10 : Standardisation de l'inoculum	60
Figure 11 : Ensemencement sur Mueller Hinton	61
Figure 12 : Etapes d'aromatogramme	61
Figure 13 : Variation de rendement en fonction d'état des feuilles de laurier noble.....	63
Figure 14 : Résultats de purification des bactéries	64
Figure 15 : Aspect de l'état frais d' <i>E. coli</i>	65
Figure 16 : Aspect de l'état frais de <i>S. aureus</i>	66
Figure 17 : Observation microscopique de coloration de Gram d' <i>E. coli</i>	67
Figure 18 : Observation microscopique de coloration de Gram d' <i>E. coli</i>	67
Figure 19 : Membrane externe des bactéries Gram + et Gram-	69
Figure 20 : Observation macroscopique des colonies sur Mac-Conkey	71
Figure 21 : Observation macroscopique des colonies sur Viande Foie	71

Figure 22 : Aspect de milieu CS des souches d' <i>E. coli</i>	73
Figure 23 : Aspect de milieu TSI	74
Figure 24 : Aspect du test positif d'ONPG	75
Figure 25 : Observation macroscopique de l'AND ase de <i>S. aureus</i>	76
Figure 26 : Aspect macroscopique des colonies de <i>S aureus</i> sur BP + Jaune d'œuf.	77
Figure 27 : Résultat de coagulation de plasma de lapin	78
Figure 28 : Méthode de mesure des zones d'inhibition..	79
Figure 29 : Aspect des zones d'huile essentielle de laurier sur les souches de référence.....	80
Figure 30 : Aspect des zones d'inhibition d'huile essentielle de laurier sur <i>E. coli</i>	80
Figure 31 : Aspect des zones d'inhibition d'huile essentielle de laurier sur <i>S. aureus</i>	81

Liste des abréviations



- **AFNOR** : Agence Française de Normalisation
- **AFSSAPS** : Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Produits De Santé
- **ATB** : Antibiotique
- **ATCC** : American Type Culture Collection
- **BHI** : Brain Heart Infusion (Bouillon Coeur Cervele)
- **BP** : Baird parker
- **CMB** : Concentration Minimale Bactérienne
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- ***E. coli*** : *Escherichia coli*
- **GN** : Gélose Nutritive
- **HE** : Huile Essentielle
- **HEL** : Huile Essentielle de Laurier
- **ISO** : Organisation Internationale de Standardisation
- ***Laurier nobilis L.*** : *Laurus nobilis* Linné
- ***L. nobilis*** : *Laurus nobilis*
- **MH** : Mueller Hinton
- **M_S** : Quantité de la masse végétale sèche
- **M_{HE}** : Quantité d'huile essentielle extraite
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **PAM** : Plantes Aromatiques Médicinales
- **R** : Rendement
- **R_{HE}** : Rendement en huile essentielle
- ***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*
- **UFC** : Unité Formant Colonie

Liste des annexes



□ Annexe I :	Huile essentielle de Laurier noble	98
• Annexe II :	Classification des bactéries d'intérêt médical	100
• Annexe III :	Composition des milieux de culture	102
• Annexe IV :	Les étapes de coloration de Gram	105
• Annexe V :	Test catalase	108
• Annexe VI :	Test oxydase	109

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, elles représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique (Kahouadji, 2010).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (OMS, 2002). Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu *et al.*, 2006). Par conséquent, la recherche des principes actifs potentiels de la plante est plus que jamais d'actualité. Cependant, leurs vertus thérapeutiques peuvent varier en fonction de la partie utilisée de la plante. La pharmacopée s'oriente de plus en plus vers les traitements à base de plantes car la créativité et l'efficacité de la synthèse chimique par l'homme a atteint ses limites (Iserin, 2001).

Un intérêt considérable a été suscité pour les huiles essentielles extraites à partir de plantes aromatiques et dotées d'activités antimicrobiennes vis-à-vis des microorganismes pathogènes (Alzoreky et Nakahava, 2003). De nombreuses études ont été réalisées en vue de l'estimation du pouvoir antiseptique des huiles essentielles depuis très longtemps. En effet, déjà en 1881, Koch testa l'action bactéricide de l'huile essentielle de térébenthine sur les spores de charbon puis Chamberland (1887) étudia l'activité des essences d'origan, de cannelle et de girofle sur *Bacillus* et enfin, en 1919, Bonnaure étudia le pouvoir antiseptique des lavandes (Coimbra *et al.*, 2000).

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne en général, on s'est intéressé à l'espèce de la familles de *Lauraceae* qui est l'une des familles les plus utilisées comme source d'extraits à un pouvoir antimicrobien important à l'échelle mondiale en plus de leur utilisation en cuisine dans la vie quotidienne de l'humain. La plante sur laquelle a porté notre choix est : *Laurus nobilis* vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

La richesse et l'originalité de l'étude de la flore algérienne présente un intérêt scientifique fondamental pour la connaissance de la pharmacopée traditionnelle. Dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie et le domaine de la valorisation des substances naturelles, grâce à la diversité du climat et la fertilité du sol, caractérisent les différentes régions d'Algérie qui influencent sur la qualité et la composition chimique de ces plantes médicinales, ce qui les dote de caractéristiques spécifiques (Baba Aissa, 1991 ; Beloued, 2005), elles constituent donc des remèdes naturels qui peuvent être utilisés en traitements curatifs et préventifs (Belouad, 1998). On peut les classer comme une source naturelle renouvelable, veut dire, que l'apparition et la disparition de ces plantes se fait périodiquement et continuellement dans des saisons définies par la nature (Mokkadem, 1999).

Dans ce contexte notre étude traite donc de la problématique de l'effet de l'huile essentielle de laurier sur les bactéries pathogènes et celles « de référence ». Ainsi, notre objectif général est de mesurer l'efficacité de l'huile essentielle de laurier sur ces souches.

Dans cette perspective, nous nous sommes donc fixés les objectifs spécifiques suivants :

- Réaliser une extraction d'huile essentielle de laurier par la technique d'hydrodistillation.
- Evaluer l'activité antibactérienne de cette huile essentielle.

Ce manuscrit comporte deux parties, la première partie concerne une synthèse bibliographique, divisée en quatre chapitres. Le premier chapitre fait la description de l'espèce végétale dont nous projetons d'extraire des huiles essentielles ; le deuxième décrit des généralités sur les huiles essentielles, les bactéries d'intérêt médical et les procédés d'extractions seront expliqués dans le troisième et quatrième chapitre respectivement.

Une deuxième présente le matériel(s) et les méthodes utilisés, notamment la méthode d'extraction de l'huile essentielle de laurier, l'identification des bactéries pathogènes prélevées à partir d'un examen cytot bactériologique des urines, prélèvement vaginal et de la plaie buccale, et en fin l'étude de propriétés antibactériennes d'huiles essentielle de laurier sur les souches prélevées et sur les souches de référence. Les résultats obtenus ainsi que leur discussion sont mentionnés dans le sixième chapitre. Nous terminons par une conclusion qui synthétisera les principaux résultats.

Partie I

Synthèse bibliographique

GENERALITES

SUR LE

LAURIER NOBLE

I.1. Famille *Lauraceae*

Dans l'ordre des Laurales nous retrouvons la famille des Lauraceae. Considérée comme parmi les plus primitives des angiospermes, celles-ci sont distribuées dans les zones tropicales et subtropicales (**Fig. 01**) (Watson et Dallwitz, 1992 ; Richter, 1996 ; Mabberley, 1997 ; Steven, 2001), cette famille est peu représentée en Afrique mais très fréquente sur le continent américain ou asiatique, en Australie et à Madagascar (Watson et Dallwitz, 1992 ; Richter, 1996 ; Mabberley, 1997 ; Steven, 2001 ; Anton *et al.*, 2005).

Elle est aussi largement cultivée pour la production commerciale dans beaucoup de pays arabes tels que la Lybie et le Maroc (Sayyah *et al.*, 2002 ; Demir *et al.*, 2014 ; Barla *et al.*, 2007). Actuellement cette espèce, sauvage ou cultivée, est présente dans le sud et l'ouest de l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale (Ivan, 2001 ; Imam, 2010).

En Algérie, elle pousse dans les forêts, ravins, les lieux humides et ombragés (Beloued, 2001). Elle se développe sur les bords des cours d'eau. Elle s'accommode sur tous les types des sols (Messaoudi, 2008).



Figure 01 : Distribution des Lauracées à travers le monde (Steven, 2001)

Cette famille renferme environ 2000 à 2500 espèces (Barla *et al.*, 2007) réparties en cinquantaine de genre dont *Cinnamomum* (cannelle), *Cryotocarya*, *Laurus* (laurier) et *Persea* (Avocatier) (Spichiger *et al.*, 2002). Principalement composé de plantes ligneuses, arbres ou arbustes odorants, la plupart sont aromatiques (Spichiger *et al.*, 2002).

Genre *Laurus*

Ce genre est originaire des îles Canaries et du bassin méditerranéen. Il comprend trois espèces d'arbres ou d'arbustes persistants : *Laurus nobilis* L, *Laurus azorica* et *Laurus novocanariensis*.

1.2. *Laurus nobilis* L.

Le laurier noble est un Symbole de gloire et de réussite, son feuillage était utilisé pour fabriquer la célèbre couronne de laurier de la victoire. Tenu en haute estime par les Anciens, le laurier était la marque des dieux, représenté sous forme de rameaux ou de couronne de laurier était une distinction honorifique offerte aux généraux romains triomphants et une récompense aux vainqueurs des compétitions sportives. Elle devint par la suite l'attribut de l'empereur marquant son pouvoir. Dans les mythologies grecque et romaine, le laurier est le symbole d'Apollon (Takaku *et al.*, 2007). La nymphe Daphné – premier amour d'Apollon - fut changée en laurier afin qu'elle puisse échapper à son prétendant. Dès lors, Apollon consacra cette plante aux triomphes, aux chants et aux poèmes. Ainsi elle acquit le nom de « laurier d'Apollon ».

Outre ses pouvoirs magiques et mystiques contés dans l'Antiquité, le laurier était une plante médicinale réputée dont les propriétés ont été peu à peu oubliées. De nos jours, il est surtout connu pour ses feuilles aromatiques en cuisine, d'où son nom de « laurier sauce » (Ballabio et Goetz, 2010).

Le laurier, (*Laurus nobilis* L.) est un arbuste ou un arbre de la famille des lauracées, à feuilles persistantes et coriaces (**Fig. 02**) (Ballabio et Goetz, 2010). Etymologiquement, le nom latin *Laurus* signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et *nobilis* du latin « fameux » (Pariante, 2001). Son nom et aussi symbole du succès dans nos jours à travers le baccalauréat du latin « *Bacca Lauri* » soit baies de laurier (Zhiri *et al.*, 2005).



Figure 02 : Arbuste de Laurier noble

I.3. Description botanique

Le laurier est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10 m et peut atteindre 15 m de hauteur à croissance lente (Baba Aissa, 1991), et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps (**Fig. 03**) (Anton et Lobstein, 2005) :

- a- Tige** droite et grise dans sa partie basse, verte en haut (Beloued, 2005). Ces branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0.2 à 0.4cm (Quezel et santa, 1963).
- b- Les feuilles** sont persistantes et aromatiques, simples, alternes et coriaces et dont le pétiole mesure de 2 à 5 cm, longues de 5 à 12 cm et large de 2 à 6 cm. Elles sont lancéolées, légèrement ondulées et entaillées au bord ; de couleur vertes foncées, brillantes sur la face supérieure et verte clair au-dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (Quezel et santa, 1963).

- c- **Les fleurs** sont dioïques (fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), de 0.4 à 0.8 cm avec une couleur jaune verdâtre (Patrakar, 2012), à périanthe simple soudé à la base. Groupées en 4 à 6 ombelles. Les fleurs mâles possèdent 8 à 12 étamines rudimentaires, tandis que les fleurs femelles sont dotées d'un ovaire hypogyne à un compartiment avec un stigmate. Elles apparaissent en mois de mars-avril de l'année (Reynaud, 2002).
- d- **Le fruit** est une baie ovoïde, soutenue par le tube périanthaire peu dilaté de 2cm de longueur à 1cm de largeur, il est noir vernissé et renferme une seule graine libre (Beloued, 2005).

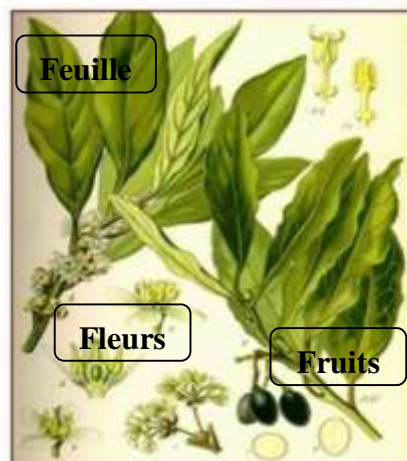


Figure 03 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued, 2005)

I.4. Classification botanique

La position systématique de laurier noble est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Position systématique de *Laurus nobilis* (Quezel et Santa, 1963 ; Guignard, 2001)

Règne	Plante
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis L.</i>

I.5. Composition phytochimique

Laurus nobilis comme toutes les plantes médicinales et aromatiques, comporte deux métabolites, selon Tchoumboungang et *al.* (2008) on distingue :

1. Les **métabolites primaires** : se trouvent dans toutes les cellules végétales. Ils sont indispensables pour la vie de la plante : sucre, lipides, protéines, acides aminés.
2. Les **métabolites secondaires** : n'ont qu'une répartition limitée dans la plante et ne font pas partie des matériaux de base de la cellule. Ces composés ne se trouvent normalement que dans des tissus ou organes particuliers à des stades précis du développement. Leur action est déterminante pour l'adaptation de la plante au milieu naturel : agents protecteurs contre les stress physiques, défense contre les agressions extérieures, pigmentation de la plante pour capter l'énergie solaire ou à l'opposé protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires.

Plusieurs métabolites secondaires sont :

a. L'huile essentielle

L. nobilis renferme une HE qui possède une action analgésique aussi puissante que la morphine, et une action anti-inflammatoire comparable au Piroxicam qui est un anti inflammatoire non stéroïdien (AINS) d'après une étude réalisée *In vivo* sur des souris en 2003 à l'université de Bejaia en Algérie et à l'université Toulouse III Paul Sabatier, Faculté des sciences pharmaceutiques (2013), L'HE de *L. nobilis* s'est également révélée active contre la plupart des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cette activité pourrait être due à la présence de certains composés qui sont le 1,8-cinéole (35-45%), le linalol (7%), l'eugénol, l'alpha (1,5-4,5%) et la beta pinène (< à 10%) (Tchoumboungang et *al.*, 2008).

b. Les alcaloïdes aporphiniques

L. nobilis renferme quelques alcaloïdes aporphiniques, tels que la cryptodrine, et l'actinodaphnine qui sont responsables d'une activité cytotoxique (Kivçak et Mert, 2002).

c. Les lactones sesquiterpéniques

Des études ont été réalisées sur l'isolement et l'identification des composés des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis*, les chercheurs ont pu isoler six sesquiterpènes lactone connue et un nouveau sesquiterpène ; le lauroxepine. Ces substances actives se sont avérées fortement cytotoxiques contre la lignée cellulaire ovarienne cancéreuse A2780 (Barla et *al.*, 2007).

d. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes isolés à partir de *L. nobilis* sont polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine), et peuvent également être apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol) (Kivçak et Mert, 2002).

e. Les tocophérols

Demo et ses collaborateurs (1998) ont démontré la présence des tocophérols (vitamine

E), principalement la γ - tocophérol, dans les feuilles de *L. nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction hexane. Dans cette étude il a été rapporté que le contenu tocophérol est étroitement corrélé avec l'activité antioxydante des feuilles de *L. nobilis*.

f. Acides phénylacrylique et phénolcarbonique

Ces acides peuvent être libres ou estérifiés, on trouve également d'autres acides comme le p-coumarique, férulique, sinapique, gentisique et vanillique (Kivçak et Mert, 2002).

LES HUILES

ESSENTIELLES

Le terme « huile essentielle » est défini à la fois par l'Agence nationale de sécurité du médicament (ANSM) pour les usages pharmaceutiques et cosmétiques et par l'AFNOR/ISO pour les usages aromatiques et alimentaires.

II.1. Historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses (Baser et Buchbauer, 2010).

Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc... (Besombes, 2008).

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec la civilisation arabe, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques (Baser et Buchbauer, 2010).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice ATTEFOSSÉ a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (Besombes, 2008).

II.2. Définition

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (Bruneton, 1993).

- **Selon la Commission de la Pharmacopée européenne (2008)**

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Selon la monographie de la Pharmacopée européenne, la matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée, à l'exception des fruits du genre *Citrus* qui sont toujours traités à l'état frais.

- **Selon AFNOR NF T 75-006 (1998)**

« Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche.

L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition... ».

- **Selon AFNOR ISO 9235 (1997) : Matières premières aromatiques d'origine naturelle**

« Produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche ».

- **Statut juridique des huiles essentielles**

Selon AFSSAPS, il n'existe pas de définition juridique spécifique des HE. Il suffit de regarder la définition des HE par la Commission européenne pour voir l'origine du problème. Cette définition révèle d'une part que les HE sont dotées d'une composition complexe, et d'autre part qu'elles sont issues de procédés de fabrication qui peuvent être différents. Ces deux aspects montrent qu'il ne peut exister de réglementation globale en ce qui concerne les HE.

Dans la situation actuelle, les HE peuvent être régies par les réglementations applicables aux produits chimiques, aux produits cosmétiques, aux médicaments ou encore aux produits alimentaires.

II.3. Répartition et localisation

Il arrive très fréquemment que la composition de l'huile essentielle d'une plante est très variable, selon qu'elle soit extraite de l'un ou l'autre organe de cette plante (Alili et *al.*, 2017).

Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres, elle se trouve en liaison glucosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante (Muthu et *al.*, 2006).

Les huiles essentielles sont produites par des cellules végétales spécialisées et peuvent être stockées dans tous les organes végétaux (Bertrand et *al.*, 2004 ; Bekkali et *al.*, 2008) :

- les **feuilles** : eucalyptus, citronnelle, laurier noble...
- les **fleurs** : camomille, lavande...
- les **zestes** : citron, orange, bergamote...
- le **bois** : bois de rose, santal...
- l'**écorce** : cannelle...
- la **racine** : vétiver...
- les **fruits** : anis, badiane...
- les **graines** : muscade...

La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. On retrouve par exemple :

- les **cellules à huiles essentielles** : chez les *Lauracées* et les *Zingibéracées*
- les **poils sécréteurs** : chez les *Lamiacées*
- les **poches sécrétrices** : chez les *Myrtacées* et les *Rutacées*
- les **canaux sécréteurs** : chez les *Apiacées* et les *Astéracées*.

II.4. Caractéristiques physico-chimiques

II.4.1. Caractéristiques physiques

Les HE possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques (Bruneton, 1999 ; Bertrand, 2004 ; Chaaben et *al.*, 2015 ; Laurent, 2017) :

- Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la pluparts des solvants organiques.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau. Pour autant quelques HE font exception cette règle. C'est le cas du sassafras, du girofle et de la cannelle. ▪ Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation. ▪ Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Selon Roux et Cartier (2007), elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes.
- Selon Lobstein et *al.* (2017), elles sont huileuses, ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.).

II.5. Composition chimique

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable (Bakkali et *al.*, 2008). Cette composition varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (Steven, 2001 ; Merghache et *al.*, 2009 ; Karamanos et Sotiropoulou, 2013).

Elle est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par la spectrométrie de masse (SM). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (Steven, 2001).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composants aux concentrations différentes (Bakkali et *al.*, 2008 ; Burt, 2003).

Elles sont cependant caractérisées par 2 à 3 composés majoritaires présents relativement en forte concentration, de 20 à 70% par rapport aux autres constituants présents parfois sous forme de traces et qui confèrent aux HES leurs propriétés thérapeutiques. (Bakkali et *al.*, 2008)

La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques : un groupe de lipides) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999 ; Demir et Gorkem, 2014).

II.5.1. Terpénoïdes

Les terpènes, c'est la plus grande catégorie de métabolites secondaires avec plus de 22000 molécules. Elle contient les hormones végétales, les pigments, les stérols, les hétérosides et une grande partie d'huiles essentielles. Constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) ; Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C₁₀), sesquiterpénoïdes (C₁₅) et diterpénoïdes (C₂₀) (Djilan et Dicko, 2012).

Selon le nombre d'entités isoprènes, ces groupes sont subdivisés en deux sous-groupes principales représentent la majorité des composés terpéniques : mono-terpènes et sesquiterpènes (Bakkali et *al.*, 2008).

II.5.1.1. Monoterpènes

Sont les plus simples constituants des terpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$) ; dont la majorité (90%) est rencontrée dans les huiles essentielles. Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (Couic-Mariinier et Lobstein, 2013).

II.5.1.2. Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Festy, 2004).

II.5.2. Composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiacées (persil, anis, fenouil,...) et sont caractéristiques du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, etc... (Bruneton, 2009).

II.5.3. Composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes.

D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants (Bruneton, 2009).

II.5.3.1. Esters

D'un point de vue chimique, « la fonction ester désigne un groupement d'atomes formé d'un carbone lié simultanément à un atome d'oxygène par double liaison, à un groupement OR et à un groupement H ou R'. » (**Fig. 04**) (Bruneton, 2009).

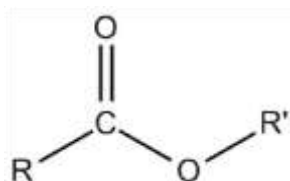


Figure 04 : Structure générale d'un ester (Couic-Marinier et Lobstein, 2017)

Ils s'écrivent de la façon suivante : acide carboxylique « -ate » de l'alcool « -yle » (i.e: Acétate de benzyle), ainsi cette dénomination permet d'identifier les alcools et les acides carboxyliques formant l'ester (**Fig. 05**) (Couic-Marinier et Lobstein, 2017).

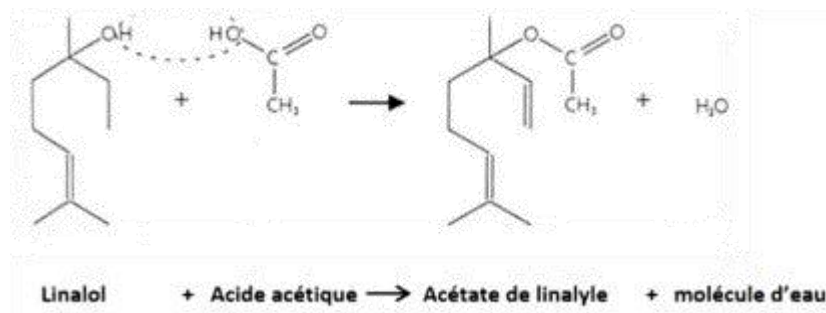


Figure 05 : Exemple de réaction de synthèse d'un ester (Couic-Marinier et Lobstein, 2017)

L'une des propriétés essentielles des esters est leur caractéristique odorante. Les esters composent l'odeur naturelle de nombreux fruits et c'est la raison pour laquelle ils sont prisés dans l'industrie de la parfumerie. Les esters étant en partie des dérivés d'alcools, il n'est donc pas étonnant de les rencontrer dans les mêmes HE. Les esters sont d'excellents antispasmodiques. Ils agissent à plusieurs niveaux : commande centrale neurovégétative, échelon neurotrope (médiateurs), et enfin récepteurs musculaires. Cette activité est obtenue grâce à l'association de l'activité anti-inflammatoire des acides et de l'action tonique des alcools (Couic-Marinier et Lobstein, 2017).

II.5.4.2. Notion de chémotype ou chimiotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Festy, 2004 ; Merghache et *al.*, 2009).

II.6. Facteurs influençant la composition chimique des HEs

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories (Bruneton, 1999 ; Merghache et *al.*, 2009) :

II.6.1. Facteurs intrinsèques

Nous en distinguons :

II.6. 1.1. Chémotypes Génétique

Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est sa biosynthèse et donc son profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chémotypes de profils chimiques différents (polymorphisme chimique). Les chémotypes ou races chimiques sont très fréquents chez les plantes aromatiques, on compte pour le *Thymus vulgaris*, espèce morphologiquement homogène, environ sept chémotypes différents (Goeb et *al.*, 2010) :

II.6. 1.2. Selon l'organe

Le potentiel et la composition de l'huile essentielle dépend de l'organe. Par exemple les parties fleuries de la sauge, ont une huile essentielle plus riche en certains terpènes que les feuilles (Goeb et *al.*, 2010).

II.6.1.3. Au cours du cycle végétatif

Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons, sont nombreuses, l'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants (Bruneton, 1993 ; Lahar et *al.*, 2015).

II.6.2. Facteurs extrinsèques

Huang *et al.* (1995) ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des HEs. Alors que El Arch *et al.* (2003), a montré que le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Ce dernier a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur. Par ailleurs et d'après Bfuneo *et al.* (2011), le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier leur composition. Ce qui fait qu'elles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître.

D'autres travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première (Bfuneo *et al.*, 2011).

II.7. Activités biologique et pharmaceutique

II.7.1. Activités biologiques

II.7.1.1. Antibactériennes

Il s'agit du domaine le mieux étudié. En effet, cette propriété des huiles essentielles fait partie des plus connues et des plus utilisées. D'ailleurs, nombreux sont ceux et celles qui assimilent aromathérapie et thérapie anti-infectieuse naturelle. Grâce à la pratique des aromatogrammes (équivalent des antibiogrammes mais avec les huiles essentielles), l'aromathérapeute (Spécialiste d'aromathérapie) possède le moyen d'exploiter au maximum les propriétés anti-infectieuses des huiles essentielles (El Arch *et al.*, 2003). Ici, la connaissance des molécules porteuses de l'activité antibactérienne est essentielle. Par exemple, dans l'huile essentielle de Sarriette des montagnes (*Satureja montana*), le carvacrol est la molécule agissante. La paracymène, également présent, n'est en général pas impliqué dans l'activité anti-infectieuse (Haddouchi et Benmansour, 2008).

Les molécules possédant le pouvoir antibactérien le plus élevé sont (par ordre décroissant) : le carvacrol, le thymol et l'eugénol. Elles appartiennent toutes trois au groupe des phénols (Haddouchi et Benmansour, 2008).

Une molécule n'appartenant pas au groupe des phénols mais apparentée par la présence d'un noyau benzénique, l'aldéhyde cinnamique, possède une activité anti-infectieuse comparable à celle des phénols. On l'a retrouve notamment dans l'huile essentielle de Cannelle de Chine et de Ceylan (*Cinnamomum cassia* et *Cinnamomum zeylanicum* ou *verum*) (El Arch et al., 2003).

Grâce à ces quatre molécules, tout praticien ayant appris à manipuler efficacement les huiles essentielles est en mesure de maîtriser la plus grande partie des infections rencontrées en pratique quotidienne (Goetz et Ghedira, 2012).

Dans la hiérarchie anti-infectieuse, les monoterpénols se situent immédiatement après les phénols. Leur liste est plus étendue : géraniol, linalol, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol sont les plus connus. Elles présentent une fiabilité certaine et un spectre d'action assez large. Elles seront utiles dans de nombreux cas d'infections bactériennes (Goeb et Pesoni, 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012) :

- Le groupe des aldéhydes manifeste aussi une certaine puissance antibactérienne : néral et géraniol (qui forment les citrals), citronellal et cuminal sont les plus souvent employés.
- Le groupe des cétones présente un intérêt dans le traitement des états infectieux mucopurulents : verbénone, thujone, bornéone (camphre), pinocamphone, cryptone, fenchone, menthone, pipéritone, carvone pour l'aromathérapeute confirmé.
- Pour les éthers, leur action antibactérienne est certaine mais obéit à la loi du tout ou rien. L'estragole et l'anéthole sont ici les molécules les plus représentatives de ce groupe.
- Les oxydes présentent en général des propriétés anti-infectieuses légères. Les phtalides développent une activité antibactérienne non négligeable comme par exemple avec l'huile essentielle de graines de céleri (*Apium graveolens*).

Les terpènes peuvent être intéressants mais leur utilité en ce domaine se révélera plutôt sous forme aérodiffusée par une action antiseptique. Les autres groupes moléculaires ne présentent pas d'intérêt dans le cadre de la lutte antibactérienne (Goetz et Ghedira, 2012).

II.7.1.2. Antivirales

Les virus sont en général très sensibles aux molécules aromatiques. Les réponses classiques aux infections virales étant très limitées, les huiles essentielles constituent une véritable alternative pour traiter les troubles d'origine virales allant des plus banales aux plus redoutables. En effet, des molécules appartenant à de nombreuses familles chimiques ont révélé leurs activités antivirales comme les monoterpénols et les monoterpénals (aldéhydes terpéniques) par exemple (Goetz et Ghedira, 2012 ; Demir et Gorkem, 2014) :

- Selon Alzoreky et Nakahava (2003), le couple synergique cinéole-monoterpénol sera utile pour traiter les pathologies virales touchant la sphère respiratoire (les plus répandues dans les régions tempérées). Ce couple est présent dans de nombreuses huiles essentielles issues d'arbre de la famille des Myrtacées connues, depuis toujours, pour leur valeur dans le traitement des affections pulmonaires.
- Un autre couple, celui présent dans l'huile essentielle d'Hysope officinale (*Hyssopus officinalis* var. *decumbens*), linaloxyde-linalol est également intéressant dans le cadre des pathologies virales affectant essentiellement les voies respiratoires basses (Alili et Tantar, 2017).
- Le groupe des cétones, notamment la cryptone, a révélé une intéressante capacité à combattre spécifiquement les virus non enveloppés (Alili et Tantar, 2017).
- Les aldéhydes en usage interne et en diffusion atmosphérique constitueront de bons compléments dans le traitement des infections virales (Goetz et Ghedira, 2012).

II.7.1.3. Antifongiques

Les infections fongiques sont d'une actualité criante aujourd'hui. En effet, leur extension est largement favorisée par l'utilisation abusive et parfois trop légère des antibiotiques. Ici les groupes moléculaires cités en priorité pour leurs actions antibactériennes se révèlent également actifs sur les champignons. Néanmoins, la durée d'un tel traitement sera plus longue que pour celle d'un traitement antibactérien. Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Palmarosa, de Clou de girofle et de Niaouli sont des antifongiques (Alzoreky et Nakahava, 2003).

II.7.1.4. Antiparasitaires

Selon Poirot (2016), comme c'est le cas dans la lutte contre les bactéries, les phénols manifestent une action puissante à l'encontre des parasites. Les monoterpénols sont ici d'une efficacité proche de celle des phénols. Certains oxydes comme l'ascaridole contenu notamment dans l'huile essentielle de Chénopode (*Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminthicum*) sont très spécifiques de la lutte antiparasitaire, et constituent de bons antihelminthiques. Par ailleurs, les cétones quant à elles, possèdent une réputation antiparasitaire bien établie mais nécessitent des précautions d'emploi en raison de leur toxicité, nous y reviendrons plus loin dans le chapitre traitant de la toxicité des huiles essentielles et dans le paragraphe consacré aux cétones.

II.7.1.5. Antiseptiques

Les molécules aromatiques sont capables de détruire les germes infectieux, et de s'opposer à leur prolifération tant dans les organismes vivants que dans l'environnement. Dans ce dernier cadre, outre les aldéhydes cités plus haut particulièrement actifs sur les bactéries sporulées, les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes atmosphériques (Poirot, 2016).

En ce qui concerne la désinfection des locaux recevant des malades, en particulier les salles de réanimation et les chambres de malades contagieux, selon Da Silva (2010), on peut faire appel aux HEs phénolées sous forme d'aérosols. Dans le cas dans l'huile essentielle d'Eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata* ssp. *radiata*), les alcools associés au cinéole, sont intéressants en période hivernale pour l'assainissement de l'air des habitations.

II.7.2. Activités Anti-inflammatoires

Les molécules aromatiques sont susceptibles d'agir de différentes manières sur l'inflammation. Les molécules négativantes sont actives en compensant la perte d'électrons des tissus inflammés : le chamazulène issue d'huile essentielle de Matricaire (*Matricaria recutita*) par exemple agit de cette manière. Il possède également une action antihistaminique remarquable utile dans certaines formes d'allergie et en particulier l'asthme. Présent dans cette même plante, un oxyde sesquiterpénique l' α -bisabolol présente également des vertus antiinflammatoires mais pourtant son mode d'action reste actuellement non élucidé. Par voie

interne, les aldéhydes comme les citrals, le citronnellal, le cuminal par exemple sont doués de propriétés immunomodulantes secondairement actives dans la lutte contre les états inflammatoires (Poirot, 2016).

II.7.3. Activités Régulatrices du système nerveux

II.7.3.1. Antispasmodiques

Selon Fontanay et *al.* (2015), deux groupes moléculaires sont à retenir en priorité dans ce cadre : les éthers et les esters.

- Les éthers, de charge positives, possèdent une action antispasmodique puissante et fiable mais peu nuancée alliée à une activité analeptique.
- Les esters, quant à eux, porteurs de charges négatives, présentent les caractéristiques de cette classe électrique : calmantes et anti-inflammatoires. Leur action antispasmodique est plus nuancée, avec une hiérarchie d'activités permettant d'affiner la prescription selon les subtilités des tableaux cliniques. Comme propriétés connexes, ils possèdent des vertus antiépileptisantes et anticonvulsivantes.

II.7.3.2. Calmantes, anxiolytiques et hypnotiques

Les troubles du système nerveux constituent un domaine dans lequel les huiles essentielles sont trop peu utilisées. En effet, plusieurs molécules présentent des propriétés du plus haut intérêt dans le but de favoriser la détente et le sommeil (Fontanay et *al.*, 2015).

Les aldéhydes, comme les citrals de la verveine citronnée et de la mélisse officinale, les éthers et les esters rendront souvent de bons services dans ce cadre. Certaines études signalent une activité anxiolytique et hypnotique du linalol. Certains composés azotés comme l'anthranylate de méthyle contenu dans les feuilles et les zestes de mandarine développent également des propriétés anxiolytiques (Djilan et Dicko., 2012).

II.7.4. Activités respiratoires

II.7.4.1. Expectorantes

Les huiles essentielles riches en 1. 8 cinéole comme l'huile essentielle d'Eucalyptus globuleux (*Eucalyptus globulus*) ou de Romarin à cinéole (*Rosmarinus officinalis* CT cinéole) agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique ce qui fait d'elles de très bons expectorants (Ballabio et Goetz, 2010).

II.7.4.2. Fluidifiantes

Dans le cadre de traitement anti-infectieux où il est important de dissoudre d'éventuelles sécrétions accumulées au niveau des revêtements muqueux, les molécules cétoniques et plus encore lactoniques donnent le moyen d'y parvenir. La verbénone, la thujone, la carvone, la cryptone, la pulégone, la menthone, la pipéritone et la pinocamphone sont des exemples de molécules de première importance (Baser et Buchbauer, 2010).

II.7.5. Activités digestives

Diverses molécules aromatiques sont susceptibles de stimuler l'appétit, et de faciliter la digestion. Ainsi, le cuminal contenu par exemple dans l'huile essentielle de Cumin (*Cuminum cyminum*) stimule les glandes digestives (Barlier, 2013).

La menthone, la carvone et la verbénone activent la circulation au niveau des voies hépatobiliaires. Le menthol et le thujanol sont de bons stimulant hépatocytaires et les phtalides quant à eux interviennent dans le cycle de détoxification hépatorénal (Barlier, 2013).

II.7.6. Activités cicatrisantes

Les huiles essentielles cicatrisantes sont les huiles essentielles de Ciste (*Cistus ladaniferus*) (Himed et al., 2016), de Lavande vraie (*Lavandula vera*), d'Immortelle (*Helichrysum italicum*) (Elharas et al., 2013), de Myrrhe (*Commiphora myrrha*). Leur propriété cicatrisante s'explique par la présence de cétones capables d'accélérer la vitesse de réparation tissulaire. On utilise souvent un mélange de plusieurs huiles essentielles cicatrisantes avec une huile végétale comme l'huile d'amande douce (Djilan et Dicko, 2012).

II.7.7. Activités pharmacologiques

Les HEs possèdent de nombreuses activités biologiques. En aromathérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique contre les dermatophytes (Chaumont et Leger, 1989). Elles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires, telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite Muthu et *al.*, 2006).

Plusieurs études ont, mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (Ould Yerou et *al.*, 2015) et de son composé principal, l' α -terpinéol. Les composés actifs agissent en empêchant la libération d'histamine ou en réduisant la production de médiateurs de l'inflammation. Un autre exemple : l'huile essentielle de géranium ainsi que le linalol et son acétate ont montré une activité anti inflammatoire sur des œdèmes de pattes de souris induit par le carraghénane. Les huiles essentielles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires (Perna et *al.*, 2001).

II.8. Toxicité

Généralement les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels, n'ont pas un danger pour l'organisme. En effet, bien que naturelle, il est capital d'intégrer la notion de la dualité « efficacité-toxicité » car toutes substance active est potentiellement toxique d'un point de vue thérapeutique (Pariente, 2001).

La toxicité des HE est directement liée à leur composition chimique, les composés polyinsaturés étant plus toxiques que les autres (cétones, lactones, phénols...) (Patrakar, 2012).

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène comme les huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (Pech et Bruneton, 1982), Par exemple : Les monoterpènes sont dermo-caustiques et agressifs pour les muqueuses si leur utilisation est trop prolongée, ils peuvent entraîner rougeur, sensation de chaleur et prurit. Le limonène peut

provoquer des dermatites de contact allergique, en particulier lorsque l'HE est ancienne (Bruneton, 2016). Pour une application cutanée, il sera nécessaire de diluer à 50% dans une huile végétale (HV). Il est également possible d'observer un phénomène de sensibilisation chez les personnes utilisant régulièrement des HE à terpènes (Poirot, 2016). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique, on trouve les étones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (Janvier et *al.*, 2008).

Selon Wichtl et Anton (2003), le cas de toxicité d'HE de laurier, se trouve « ester », particulièrement c'est « acétate de terpényle (9-12 %) » : Ils sont doux et non agressifs. Ils peuvent être appliqués par voie cutanée ou interne, mais lors une utilisation prolongée, ils entraînent un dessèchement des téguments, il faudra donc penser à les diluer dans une HV.

II.9. Principaux domaines d'application

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique..., en alimentation par leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante (Djilan et Dicko, 2012).

II.9.1. En pharmacie

Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (menthe, verveine, thym...) et sous la forme de préparations galéniques. Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes, par exemple gastralgine est un digestif antiacide qui se compose d'huile essentielle de carvi (Muthu et *al.*, 2006).

De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base des huiles essentielles comme par exemple les collyres (goute), les crèmes, ... (Muthu et *al.*, 2006).

II.9.2. En parfumerie et cosmétologie

Les HEs sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes (Brut, 2003). L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine. Les d'huile essentielle sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc.... (Seu-Saberno, et Blakeway, 1984). Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple, consomment eux aussi beaucoup des huiles essentielles pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs

II.9.3. Dans les industries Agro-alimentaires

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, elles sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym...). Elles sont également très prisées en boissons anisées et en confiserie (bonbons, chocolat...) (Brut, 2003).

Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation par exemple par le thym et le romarin (Teissedre et al, 1994).

Les principales

bactéries d'intérêt
bactéries d'intérêt

médical

médical

Les bactéries sont des microorganismes vivants au même titre que les virus et les champignons. Elles ont été découvertes à la fin du 17^{ème} siècle par ANTHONI Van Leeuwenhoek, qui inventa la microscopie. Ce sont des organismes procaryotes (qui sont dépourvus de noyau), mais possèdent un ADN chromosomique circulaire situé dans le cytoplasme. De nombreuses bactéries contiennent une autre structure d'ADN extrachromosomique (plasmide), elles sont entourées d'une paroi complexe et le plus souvent sont flagellées (Ramet et *al.*, 2002).

Pour cela les souches les plus utilisées en laboratoire de recherche sont : *E. coli* et *S. aureus*.

III.1. *Escherichia coli*

III.1.1. Définition

Appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, est l'espèce prédominante de la flore aérobianaérobie facultative, présente naturellement dans le tube digestif chez l'homme et chez de espèces animales à sang chaud, "commensale", le plus souvent sans provoquer aucune maladie, elle protège même contre certaines infections ; c'est la première bactérie qui colonise le tractus intestinal de l'enfant, dès la naissance. On peut aussi la retrouver dans l'environnement, dans l'eau par exemple, lors qu'elle a été souillée par des déjections humaines ou animales (Ramet et *al.*, 2002).

Elle est l'unique représentant du groupe des coliformes totaux le terme coliforme veut dire la souche est capable de croître à des températures relativement élevées (44.5 °C),

C'est une bacille, mobiles, à G-, Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0.5 à 3 µm), pesant de 0.5 à 5 picogrammes. (**Fig. 06**)



Figure 06 : Aspect morphologique de l'espèce *Escherichia coli* (Krammer et al., 2006)

La transmission se fait par voie orale, le plus souvent par certains aliments (notamment viandes hachées et produits laitiers non pasteurisés ou par boisson (l'eau), sa présence est un indice de contamination fécale (Ramet et al., 2002).

L'infection à *Escherichia coli* représente une cause importante de morbidité et de mortalité en pathologie infectieuse avec plus de 630 millions de cas par an dans le monde. Selon l'OMS, *Escherichia coli* est reconnu chez l'Homme comme la cause majeure de diarrhée bactérienne dans le monde responsable de la mort de 525 000 enfants de moins de 5 ans chaque année (Sansone, 1987 ; Ramet et al., 2002 ; Chen et al., 2006).

III-1.2. Physiopathologie

Certaines espèces d'*E. coli* ont acquis des facteurs de virulence qui les rendent pathogènes. Son nom a été donné en hommage aux travaux du médecin allemand Theodor Von Escherich, dans des selles de chèvre, qui a mis en évidence la bactérie en 1885 (Kaper, Nataro et Mobley, 2004 ; Chen et al., 2006).

Et comme la plupart des pathogènes des muqueuses, les souches d'*E. coli* responsables de diarrhées et d'infections extra-intestinales utilisent une stratégie d'infection dont les points clés sont les suivants (Bidet et al., 2012 ; Mattioni et al., 2014) :

- **La multiplication** est l'étape essentielle dans le processus de pathogénicité ; la multiplication rapide est un avantage pour la colonisation, ainsi que pour causer des dommages avant que le système immunitaire n'entre en action.
- Le point essentiel dans ce processus est **l'interférence des E. coli pathogènes avec le système immunitaire de l'hôte**. On sait par exemple que certains types de lipopolysaccharides (LPS - antigène « O ») présents à la surface des bactéries protègent l'action lytique du complément, de la fixation des anticorps et de la phagocytose (Ramet *et al.*, 2002). Les capsules polysaccharidiques (antigènes « K ») qui sont sécrétées à la surface de certaines souches d'*E. coli* pathogènes, principalement celles causant des affections extra-intestinales, peuvent participer à l'évasion des défenses de l'hôte. Les capsules K1 et K5, qui comportent des homologues avec des molécules eucaryotes de l'*E. coli*. (Coimbra *et al.*, 2000). Et sur la base de ces modes d'interaction, les souches d'*E. coli* ont un pouvoir pathogène différents (**tab. 02**).

Tableau 02 : pouvoir pathogène de l'*E. coli* chez l'Homme (Sansonetti, 1987 ; Leminor, 1987 ; Kaper et al., 2004 ; Chen et al., 2006)

Pouvoir pathogène	
<i>E. coli</i>	<p><u>Infection intestinale :</u> « diarrhées ; douleurs abdominales »</p> <p>1. <i>E. coli</i> entéropathogènes (EPEC) : ne sont pathogènes qu'en dessous de l'âge de deux ans. Chez l'adulte, ne sont pas pathogènes.</p> <p>2. <i>E. coli</i> entéroinvasifs (EIEC) : responsables de syndromes dysentériques caractérisés par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnés d'une diarrhée aqueuse.</p> <p>3. <i>E. coli</i> entérotoxigènes (ETEC) : cause majeure de diarrhée aqueuse chronique avec déshydratation chez les enfants (moins de 3 ans).</p> <p>4. <i>E. coli</i> entéroagréatifs (EAgg ou EAEC) : sont des souches qui ne sécrètent pas les entérotoxines LT ou ST, et qui adhèrent aux cellules de culture en formant des images (adhésionagrégate). Les diarrhées induises étaient classées en trois les ECET, les ECEI et les ECEP, caractérisées essentiellement par leur appartenance à des sérotypes distinctifs.</p>
	<p><u>Infection Extra-intestinale :</u></p> <p><i>E. coli</i> enterohémorragiques (EHEC) : (productrices de shigatoxines), qui peut entraîner un syndrome hémolytique et urémique (SHU).</p> <p><i>E. coli</i> à adhésion diffuse (DAEC) : sont essentiellement responsables de pathologies extra-intestinales et pourraient induire des signes cliniques intestinaux (diarrhée). la sensibilité aux ECDA serait étroite, (entre 1 et 5 ans).</p>
	<p><u>Infection urinaire</u></p> <p>Origine hématogène : Les germes portés par la circulation (bactériémie) viennent à la fixation sur le tractus urinaire, et entraînent une stagnation.</p> <p>Origine ascendante : Des germes d'origine fécale en provenance de la région périanale remontent dans la vessie, surtout chez les femmes.</p>
	<p><u>Autres infections</u></p> <p><u>Septicémie :</u></p> <p>1. après une infection urinaire ou digestive.</p> <p><u>Infection post-opératoire :</u> contamination après une opération chirurgicale.</p>

III.1.3. Sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité d'*E. coli* aux différents antibiotiques est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Sensibilité d'*E. coli* aux ATB (Lemort et *al.*, 2006 ; Sekhsokh et *al.*, 2008 ; Fabre et *al.*, 2013 ; Hamouche et Sarkis, 2012)

	Sensibilité	Résistance	
		Naturelle	Acquise
<i>E. coli</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1- β-lactamines 2- Aminosides 3- Fluoroquinolones 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Glycopeptides 2. Penicilline G 	<ol style="list-style-type: none"> 1. β-lactamines 2. Pénicillinase 3. Fluoroquinolones

III-2. *Staphylococcus aureus*

III-2.1 Définition

Les Staphylocoques sont des Cocci à Gram positif classiquement disposés en amas. Actuellement, on distingue 44 espèces. L'espèce *S. aureus* (plus communément appelé staphylocoque doré) se distingue généralement des autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN) par la présence d'une coagulase. *S. aureus* est un germe très important aussi bien dans les infections communautaires que nosocomiales (Kreusch A et *al.*, 2003).

Leurs réservoir naturel est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur. Le site de colonisation préférentielle de *S. aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale. En effet, 30% des adultes hébergent *S. aureus* de façon permanente, 50% de façon intermittente et 20% ne sont jamais porteurs. A partir des sites de portage, *S. aureus* colonise les territoires cutanés en particulier, les zones humides (aisselles, périnée) et les mains (Kreusch A et *al.*, 2003).

III.2.2. Physiopathologie

Les Staphylocoques ont été observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les *S. aureus* doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques

Le pouvoir pathogène d'une souche de *S. aureus* lié à l'expression de facteurs de virulence et entraînés des facteurs de virulence sont les mieux caractérisés. On distingue les protéines de surface (adhésines) qui permettent la colonisation de l'hôte, des facteurs qui conduisent au développement (Giancarlo, 2013).

III.2.1.1. Protéines de surface : colonisation

Pour qu'une bactérie colonise un tissu, il faut au préalable qu'elle y adhère. Cette étape est déterminante dans le développement ultérieur de l'infection. *S. aureus* colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. La colonisation s'observe en dehors de toute lésion préalable. Elle est cependant favorisée par toute effraction de la barrière cutanéomuqueuse (Lehar et *al.*, 2015).

Plusieurs constituants staphylococciques interviennent dans ce phénomène. *S. aureus* possède un grand nombre de protéines exposées à la surface de la bactérie et qui ont la capacité de se fixer sur des molécules de l'hôte : On parle d'adhésines. Un certain nombre de ces adhésines appartiennent à la famille des MSCRAMM (Microbial Surface component

Recognizing Adhesive Matrix Molecule) c'est-à-dire qu'elles reconnaissent les molécules de la matrice extracellulaire. La matrice extracellulaire est composée de molécules interagissant entre elles et avec les cellules environnantes. Elle est composée de collagène, d'élastine, de protéoglycanes et de glycoprotéines de structure telles que la fibronectine (Lehar et *al.*, 2015). Plus d'une dizaine d'adhésines ont été identifiées, les mieux caractérisées sont :

- **La protéine A** : Elle est considérée comme une MSCRAMM car elle se lie au facteur de von Willebrand. Le facteur de von Willebrand est un peptide présent au

niveau de l'endothélium lésé. La protéine A peu de ce fait jouer le rôle d'une adhésine au début d'une infection intravasculaire. De plus, elle possède deux domaines de liaison aux immunoglobulines : un fixant le fragment F_C (partie constante) et l'autre le fragment F_{AB} (partie variable). L'interaction protéine A - fragment F_C des immunoglobulines interfère avec l'opsonisation anticorps - dépendant tandis que l'interaction protéine A - fragment F_{AB} entraîne une activation polyclonale des lymphocytes B. La protéine A se comporte ainsi comme un superantigène pour les lymphocytes B (Forsgren et Sjoquist, 1966).

- **La protéine de liaison au collagène de type I, II et IV :** Cette adhésine joue un rôle très important dans les infections ostéo-articulaires.

- **La protéine de liaison à la fibronectine :** Cette protéine contribue à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Elle joue un rôle très important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers. Elle serait impliquée dans les phénomènes d'internalisation du staphylocoque dans la cellule endothéliale, cette étape prenant part à la physiopathologie des endocardites infectieuses à *S. aureus*.

- **Les protéines de liaison au fibrinogène :** Clumping factor (ClfA, ClfB) : Le clumping factor est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Cette adhésine joue un rôle dans les infections des plaies et les infections sur corps étranger. Il semble que le ClfB soit fortement impliqué dans la colonisation nasale.

Ainsi, les adhésines permettent à *S. aureus* de fixer des molécules plasmatiques (fibrinogène, fibronectine) ou tissulaires (collagène) et jouent un rôle primordial dans la colonisation des tissus. L'adhésion bactérienne est par ailleurs favorisée par les acides lipoteichoïques.

III.2.3. Pouvoir pathogène

Il est important de distinguer *S. aureus* des SCN. *S. aureus* a un potentiel de pathogénicité très important et est responsable aussi bien d'infections communautaires que nosocomiales. Par opposition, les SCN sont en règle générale des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales. Le *S. aureus* responsable d'infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que de syndromes liés à l'action de toxines (Lewandowski et al., 2013 ; Oliveira et al., 2018).

III.2.3.1. Infections suppuratives superficielles et profondes

Les infections suppuratives impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte, la réponse inflammatoire locale et systémique, *S. aureus* est principalement responsable d'infections suppuratives locorégionales, les plus fréquentes sont les infections cutanéomuqueuses telles que les folliculites, impétigo, furoncles, anthrax, panaris, cellulites ou les sinusites et les otites (Kenneth et al., 2003 ; Ortega et al., 2010 ; Oliveira et al., 2018).

S. aureus peut être responsable de septicémies, d'endocardites, de pneumopathie, d'ostéomyélites, d'arthrites, de méningites ou d'infection urinaire ; lorsque ces infections se compliquent, par extension locorégionale de l'infection, ou par diffusion hématogène de la bactérie (Ortega et al., 2010).

- La gravité des septicémies à *S. aureus* tient tant au risque de survenue de choc staphylococcique qu'à la localisation de métastases septiques.
- Par ailleurs, Une des complications des septicémies à *S. aureus* est la survenue d'endocardite infectieuse.
- Les septicémies des toxicomanes utilisant la voie intraveineuse peuvent être à l'origine d'endocardite du cœur droit.
- Les pneumopathies staphylococciques sont rares mais graves en raison du risque de complications à type d'abcès, de nécrose pulmonaire extensive ou d'évolution vers des pleurésies enkystées.

- Les ostéomyélites aiguës touchent le plus souvent les os longs chez les enfants et les vertèbres chez les adultes. De même, contrairement à ce que l'on observe chez les adultes, les arthrites septiques chez les enfants peuvent être associées à une ostéomyélite adjacente du fait de la présence de vaisseaux sanguins au niveau de l'épiphyse, *S. aureus* tient également une place dominante dans les infections ostéo-articulaires post-chirurgicales, d'inoculation ou après traumatismes.
- Les méningites peuvent se produire, soit par contiguïté à partir d'une sinusite ou après un traumatisme facial, soit par voie hématogène, par exemple à partir d'une endocardite.
- *S. aureus* peut aussi être responsable d'infections urinaires. La contamination se fait soit par voie ascendante sur sonde à demeure soit par voie hématogène.

III.2.3.2. Infections non suppuratives d'origine toxinique

Les toxémies staphylococciques sont l'apanage de l'espèce *S. aureus* : syndromes cutanés staphylococciques, choc toxique staphylococcique et intoxication alimentaire. Elles peuvent être dues à la diffusion de toxines à partir d'un foyer infectieux ou d'un site de colonisation. Dans ce cas, la toxine est produite *In vivo*. Par opposition, les intoxications alimentaires sont dues à l'ingestion d'une toxine préformée dans un aliment contaminé (Oliveira et *al.*, 2018).

III.2.3.3. Syndromes cutanés staphylococciques

Le syndrome de la peau ébouillantée chez les jeunes enfants (Staphylococcal Scalded Skin Syndrome) est provoqué par la diffusion d'exfoliatines. Ce syndrome est appelé syndrome de Ritter chez les nouveau-nés. Le foyer initial peut être ORL, conjonctival ou cutané. Ce syndrome se rencontre dans la grande majorité chez le jeune enfant mais peut aussi se rencontrer chez l'adulte immunodéprimé et les patients atteints d'insuffisance rénale. Le syndrome d'exfoliation généralisée se caractérise par une érythrodermie douloureuse, rapidement suivie d'un décollement bulleux généralisé régressant en 2 à 4 jours. Le staphylocoque n'est pas présent au niveau des bulles (Coimbra et *al.*, 2000).

III.2.4. Sensibilité aux antibiotiques

Actuellement, environ 95% des souches sont résistantes à la pénicilline G, aux aminopénicillines, aux carboxy-pénicillines et aux uréido-pénicillines. Mais elles sont, en général, sensibles à la pénicilline M (mécilline, oxacilline) qui reste l'antibiotique de choix. Le plus souvent sont sensibles aux macrolides, amino-glycosides, fluoroquinolones et synergistines.

(Peleg et *al.*, 2009 ; Elhamzaoui et *al.*, 2009 ; Donnio et *al.*, 2010 ; Ortega et *al.*, 2010)

Matériels et méthodes

I.1. Objectif expérimental

Le travail réalisé, a pour but de :

✓ Mesurer l'efficacité d'une huile essentielle de laurier noble sur deux souches pathogènes « *E. coli* et *S. aureus* ».

I.2. Lieu et période de travail

Notre étude s'est déroulée au sein du laboratoire des Sciences Alimentaires de la Faculté des Sciences de la Nature et de Vie de l'Université de Tiaret, allant de 24 Février jusqu'au 12 Mars 2020, et celui de Microbiologie du laboratoire de Recherche « hygiène et pathologie animale » au niveau de l'Ex-ITMA durant une période qui s'étale du 23 Juin au 23 Juillet 2020.

I.3. Matériel

I.3.1. Matériel végétal





Les feuilles de *Laurus nobilis* L. ont été récoltées manuellement, pendant les mois de Février et Mars de l'an 2020, dans la région de MCHARAF, précisément dans la zone industrielle se trouvant sur la route de MELLAKOU-Tiaret (**Fig. 07**),



Figure 07 : Répartition géographique de lieu de récolte -MCHARAF, Tiaret
([www.google Maps](http://www.google.com/maps))

L'identification des espèces végétales a été faite selon la clé de détermination de Quezel et Santa (1963). Cette identification a été confirmée par Dr. Ait HAMMOU M., botaniste au niveau de notre Faculté. Le tableau n° 4 résume les différents états du matériel végétal utilisé.

Tableau 04 : Différents états du matériel végétal utilisé

	Matériel Végétal	Photos	
Feuilles	A l'état frais sans broyage		
	A l'état sec (séchage à air libre à l'ombre pendant 15 jours)		
	A l'état sec par (séchage à l'étuve) <input type="checkbox"/> A température 30 °C <input type="checkbox"/> A température 103 °C	30 °C 	103 °C 

I-3.3 Matériel biologique

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle des feuilles de Laurier noble a été évaluée sur quatre souches pathogènes. Il s'agit de deux souches cliniques ; la première à Gram - : *E. coli* et la deuxième à Gram + : *S. aureus* : ces isolats ont été identifiés macroscopiquement (observation des aspects des colonies de la souche *E. coli* sur MC et le milieu Chapman fait l'Object de *S. aureus*) ; macroscopiquement (Coloration de Gram) ; et biochimiquement par galerie Api 20E et Api Staph. Ces souches ont été fournies gracieusement par le laboratoire des analyses médicales- MAACHI à Tiaret.

Les deux souches de référence ont été ramenées du laboratoire IPA d'Alger (Institut Pasteur) :

- ✓ bactérie Gram négatif : *Escherichia coli* (ATCC : 22922)
- ✓ bactérie Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC : 25923)

I.3.2. Matériel du laboratoire

Le matériel utilisé dans notre travail expérimental est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Matériel, verreries et produits utilisés

Appareillage et autres	Verreries et autres	Produits et autres
<ul style="list-style-type: none"> • Agitateur magnétiques • Appareil photo « Samsung M10S » • Autoclave • Bain Marie de 40°C et de 38 °C • Balance • Compteur des colonies • Etuve • Microscope • Réfrigérateur • Spectromètre • Vortex 	<ul style="list-style-type: none"> • Anse d'ensemencement • Bécher • Boîtes de Pétri • Ecouvillons • Eprouvette • Flacons en verres • Lames et lamelles • Micropipette • Pince en métal • Pipettes graduées • Pipettes pasteur • Portoir • Râteaux • Tubes à essais • Verre de montre • Disques d'antibiotiques • Papier Whatman 	<ul style="list-style-type: none"> • Alcool 70 ° • Catalase • Eau Distillée • Eau Physiologique • Fushine • H₂O₂ • Huile D'émersion • Lugol • ONPG • Oxydase • Tellurite de potassium • Violet De Gentiane • Plasma de lapin • Prélèvements cliniques

I.4. Méthodes

I.4.1. Protocole expérimental

Les étapes suivies dans notre expérimentation sont résumées dans la figure suivante :

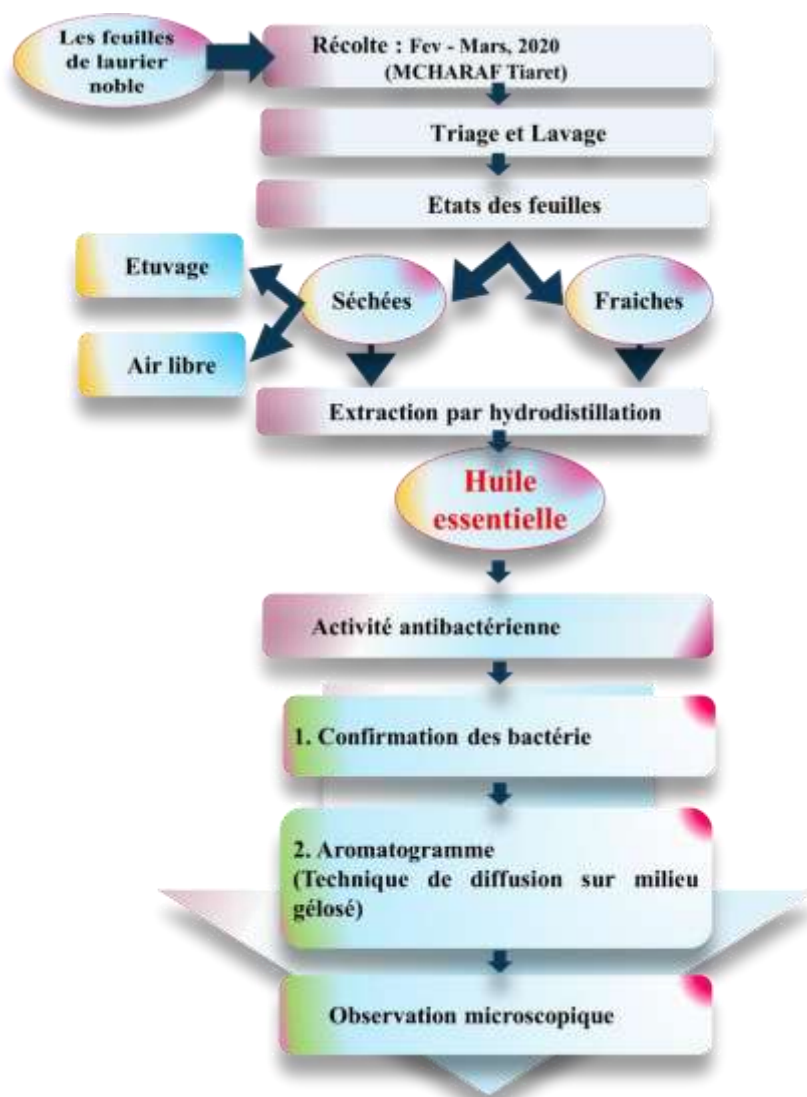


Figure 08 : Protocole expérimental

L'extraction des HE est certainement la phase la plus délicate et la plus importante du processus. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal.

La diversité et la complexité des HE rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Fontanay *et al.*, 2015).

De nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction de ces substances. La distillation par entraînement à vapeur d'eau est le procédé le plus pratiqué dans les laboratoires de recherches.

I.4.2. Extraction

I.4.2.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée, apporté par les Arabes au IX^e siècle. Cette technique est très proche de la distillation à vapeur saturée. La seule grande différence est que la plante aromatique (entière ou broyée) à l'état frais ou sec) est directement immergée dans un alambic rempli d'eau (Franchomme *et al.*, 1990). Elle est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément (Raynaud, 2002). Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale (Roux et Cartier, 2007).

Ce procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau distillée placé sur une source de chaleur (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues (Bruneton, 2016). Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HE se séparent de l'eau par différence de densité (Soltani *et al.*, 2019).

Au préalable, on a bien pris soin de graisser tous les rodages mâles. Le bain d'huile (chauffe-ballon) est placé sur le support élévateur en position basse. Le ballon est fixé à la potence à l'aide d'une noix et d'une pince à une hauteur telle que l'on puisse retirer le moyen de chauffage lorsque le support est en position basse. On place sur le premier col, la tête de colonne avec un thermomètre et le réfrigérant coudé et sur le deuxième col, un bouchon rodé. Notons que le réfrigérant à eau coudé est relié directement au ballon. Il est totalement inutile d'insérer une colonne de séparation entre les deux. L'éprouvette est placée sous l'extrémité du réfrigérant coudé (**Fig. 09**).

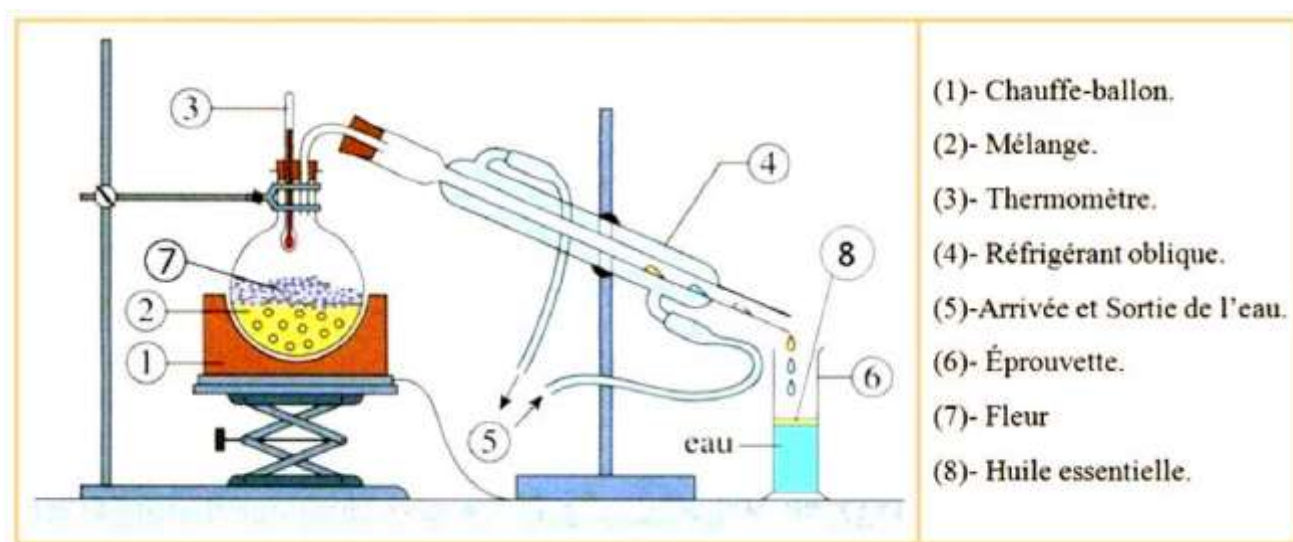


Figure 09 : la mise en place du montage d'hydrodistillateur (Laurent Julia., 2017)

Mode opératoire

Avant de réaliser notre étude, le matériel végétal a été lavé par l'eau tiède puis trié. Chaque opération a été répétée trois fois.

L'extraction d'HE a été effectuée dans un appareil de type Clevenger. Chaque matériel végétal « Feuilles » de l'espèce étudiée (*Laurus nobilis* L.), le tout est découpé en petits morceaux à l'aide d'un ciseau et aux états qu'on a déjà les mentionnés.

(50 g) de chaque état du matériel végétal a été introduit avec de l'eau distillée (500 ml) dans le ballon de ce dispositif d'hydrodistillation, l'ensemble est porté à ébullition (à une température varie entre 80 et 96 °C) pendant 3 à 4 hrs. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversent un réfrigérant puis se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et huile se séparent par différence de densité (Kocabas et *al.*, 2010).

Cette étape est dite l'étape de décantation, elle est réalisée dans une ampoule à décanter, dans laquelle le mélange se sépare en deux phases non miscibles. Une phase aqueuse (hydrolat aromatique ou distillat), dans la partie inférieure et une phase organique, de densité plus faible et contenant les huiles essentielles se situe au-dessus.

Les huiles essentielles ont été récupérées dans des petits flacons opaques fermés hermétiques ou recouvraient de papier aluminium pour le protéger de la lumière et de l'oxygène.

Puis stockée à 4°C.

I.4.2.2. Détermination du rendement

Le calcul du rendement est définit comme étant le rapport entre la masse de la matière végétale et la masse de l'huile essentielle obtenue (AFNOR, 1986), selon la formule suivante :

$$\mathbf{R_{HE} = (M_{HE} / M_s) \times 100}$$

Chapitre I

Matériel et Méthodes

R :

- Rendement en huile essentielle (%)
- Dont** M_{HE} : Masse d'huile essentielle (g)
- M_s : Masse de la matière végétale (g)

I.4.3. Activité antibactérienne

I.4.3.1. Confirmation des bactéries

La souche *E. coli* a été prélevée à partir un examen cytobactériologique chez une fille de cinq ans, et à partir d'un prélèvement vaginal chez une femme enceinte âgée de 28 ans, alors que le *S. aureus* a été prélevé à partir d'une plaie buccale d'un nouveau-né.

Au laboratoire, l'enrichissement de nos bactéries a été réalisé par ensemencement sur un milieu sélectif, Chapman pour *S. aureus* et le Mac-Conkey pour *E. coli*. Après incubation à 37 °C pendant 24 hrs, les cultures positives ont été repiquées sur leurs milieux solide sélectifs, réincuber les boîtes ensemencées à 37 °C pour 18 hrs afin d'obtenir des colonies jeunes. La coloration de Gram est nécessaire pour voir ces derniers au microscope.

Les colonies caractéristiques des souches prélevées et de référence présentes sur leurs milieux sélectifs ont été raclées à l'aide d'une pipette pasteur stérile et inoculée dans un tube à essai stérile rempli de l'eau physiologique stérile.

A l'aide d'un vortex, la suspension mère a été homogénéisée régulièrement. A la suite, ces dernières ont été standardisées à l'aide d'un spectrophotomètre, l'absorbance a été environ 0.080 à 0.130 dont la longueur d'onde λ est égale à 625 nm dont :

E. coli isolée 'urine' = 0.118 ; *E. coli* de référence = 0.110

E. coli isolée 'prélèvement vaginal' = 0.110

S. aureus isolée = 0.103 ; *S. aureus* de référence = 0.090

La première étape qu'on a constatée est l'état frais des bactéries

❖ Etat frais

Dans le but d'observer le type de mobilité de nos bactéries et avant de débiter leurs identifications, l'observation de ces microorganismes à leurs état frais est la première étape qu'on a constaté.

Technique

- ❖ Prélever une suspension bactérienne homogénéisée à l'aide d'une pipette pasteur stérile ;
- ❖ Déposer la goutte au milieu de la lame, faire placer la lamelle par des bords puis la dépose inclinée sur la lame sur le bord de la goutte ;
- ❖ Dès que la suspension se répartit sur le côté de la lamelle, laisser retomber doucement la lamelle sur la goutte ;
- ❖ Passer au microscope, sélectionner l'objectif x40, abaisser le condenseur et amène l'objectif tous pris de lamelle. A l'aide de la vise macrométrique, éloigner tous doucement l'état frais de l'objectif en même temps actionner la vise déplacement de la platine par un petit va et vient ;
- ❖ Dès qu'on voit la lame bouge, on dit que l'état frais est proche ; ❖ passer à la mise en point micrométrique x100 pour faire la netteté.

L'identification de nos souches a été effectuée dans un premier temps par des techniques de microbiologie classique, en identifiant le genre et espèce. Ces étapes sont dans l'ordre successif.

❖ Etude macroscopique

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

La colonie peut apparaître à la surface du milieu de culture pour les germes aérobies, ou être en profondeur pour les germes anaérobies. Pour un milieu solide, on peut déterminer des colonies

« la forme, la taille, la couleur » alors que la formation d'un trouble traduit l'aspect des colonies dans le milieu liquide (Guirad, 1998).

❖ Etude microscopique

C'est principalement l'utilisation de la technique de coloration de Gram : doit son nom au bactériologiste Hans Christian Gram, 1884, elle permet l'étude microscopique des bactéries mortes après fixation et coloration. La coloration de Gram permet de différencier des bactéries dites Gram positives de bactéries dites Gram négatives (Blanchot et *al.*, 2019).

L'observation des germes à leur état vivant permet aussi de mettre en évidence l'absence ou la présence de bactéries ainsi que leur abondance, déterminer la morphologie et le mode d'assemblage des bactéries Pour identifier et classer les bactéries on doit passer par un examen morphologique (lecture morphologique) (John, 1993).

Pour faire des recherches microbiologiques, les prélèvements nécessaires doivent être effectués dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Et Pour effectuer de bonnes recherches, nous avons choisi la méthode d'Examen direct à l'état frais. Cette technique se réalise en 7 étapes selon le protocole décrit par Prescott et *al.* (2003) :

- 1. Réalisation d'un frottis** : sur une lame propre de microscope à partir d'une suspension bactérienne : on étale la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube. A l'aide d'une anse stérile (en le passant sous le bec benzène), on prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant le fil de platine de l'anse dans le tube à essai.

2. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations « 1 à 2 Cm ». Le frottis réalisé doit être mince et homogène, étendu sur la lame sans toucher les bords.

3. On procède à la fixation du frottis au-dessus de la flamme puis on enflamme la lame ou on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen. Ne jamais chauffer la lame brutalement. La fixation est pour le but de tuer les bactéries, fixer leur structure cytologique, et les faire adhérer à la lame.

4. **La coloration au violet de Gentiane** (colorant basique) : la lame est plongée pendant 1 min (En fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau distillée.
5. **Mordantage au lugol** (solution iodo-iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 1 mn ; Rincer à l'eau distillée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
6. **Décoloration à l'alcool** : verser goutte à goutte d'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau distillée. L'alcool pénètre dans la bactérie. La coloration au violet de Gentiane disparaît. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram-. Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+. C'est l'étape clé.
7. **Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine** : laisser agir 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 mn. Les bactéries Gram- sont colorées en rose (**Annexe IV**).
8. **Mise au point** : elle intervient suite aux huit étapes citées ci-avant et se déroule comme suit :
 - Repérer les bactéries à l'objectif x40.
 - Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis.
 - Faire la mise au point en forte luminosité (condensateur levé et diaphragme ouvert) objectif x100.
 - Se placer dans un endroit où la répartition des bactéries est homogène et la coloration nette. Eliminer les lames dans le bocal déchets non infectieux.

L'étape dernière consiste à l'observation et la lecture : On peut noter la morphologie des bactéries et la coloration de celles-ci : les bactéries violettes sont dites Gram positives, celles qui sont roses sont dites Gram négatives.

❖ Etude biochimiques

Afin de mettre en évidence le caractère biochimique, la recherche des enzymes est nécessaire

Très importants, on peut distinguer des bactéries très apparentées. On recherche la présence d'enzymes (oxydase, catalase et coagulase chez *S. aureus*), la dégradation de l'urée, de l'esculine. La transformation du lactose et la production de gaz, l'utilisation de différents sucres comme source de carbone, l'utilisation du citrate, la production d'acétoïne.

Pour identifier le genre, on va rechercher la présence de deux enzymes : catalase et oxydase.

✓ Test de la catalase

L'activité catalytique permet la dégradation de l'eau oxygénée H_2O_2 en oxygène O_2 et en eau H_2O . Elle est mise en évidence en émulsionnant une à deux colonies de l'isolat de la souche à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Pendant la respiration aérobie, certaines bactéries produisant du Peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce à des enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Le gaz dégagé est sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (Guiraud, 2003).

Réalisation de la technique

- Sur une lame propre et sèche, déposer une goutte d'eau oxygénée.
- A l'aide d'une anse de platine stérile, ajouter une quantité suffisante de culture bactérienne.
- L'observation est immédiate : Les bulles correspondent au dégagement de gaz d' O_2 si :

on observe l'apparition de bulles, on dit Catalase positive. S'il n'aura aucunes bulles on déduit que c'est une catalase négative.

✓ **Test oxydase**

Le terme oxydase désigne une enzyme recherchée en bactériologie systématique principalement les bactéries à Gram-, on dit qu'une bactérie à oxydase +, si un fragment de culture est capable d'oxyder la forme réduite un réactif incolore N-méthylés du paraphénylénylènediamine en réactif semi quinone rose violacé (Kovacs et *al.*, 1995).

Réalisation de la technique

- A l'aide d'une pince flambée placer un disque non imprégné sur une lame porte objet.
- Déposer une goutte de réactif sur le disque non imprégné,
- Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester. Prélever la colonie choisie à l'aide d'une pipette pasteur stérile et boutonnée.

Il est nécessaire d'éviter l'utilisation de l'anse de métal (à l'exception du platine), car le métal peut être recouvert d'un oxyde et cela peut provoquer des réactions faussement positives.

- Frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes. La coloration bleu foncé à violet interprété par la réaction positive. Alors que la réaction négative caractérisée par l'absence de coloration.

Il est important d'utiliser des contrôles dans le but de valider les résultats obtenus et les techniques de manipulation. Pour l'identification d'espèce, on a constaté aux tests suivants :

Escherichia coli

✓ **Mannitol Mobilité**

L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans boucle). Incubation à 37 °C durant 18 à 24 hrs.

Lecture

- ❖ Mannitol + : virage de couleur (vers le rouge)
- ❖ Mannitol - : reste jaune

✓ Citrate de Simmons « CS »

C'est un milieu gélosé utilisé pour l'identification des entérobactéries par l'utilisation du citrate comme seule source de carbone. Elle est recommandée par Ewing et Edwards pour différencier les entérobactéries d'après l'utilisation ou non du citrate comme seule source de carbone. Ce milieu est en fait une forme solide du milieu au citrate de Koser qui, à l'origine, avait l'inconvénient de donner une fausse apparence de croissance avec un inoculum riche.

L'addition du bleu de bromothymol dans le milieu l'a nettement amélioré (Bey, 2013).

Technique

Ce milieu peut être utilisé aussi bien en tube gélosé incliné qu'en boîte de Pétri. Dans les deux cas :

- ❖ Ensemencer légèrement la surface du milieu par stries et pour les tubes en pente jusque dans le culot.
- ❖ incubé 48 hrs à 37 °C en anaérobiose.

Lecture

- ❖ CS positif : virage du milieu du vert au bleu brillant
- ❖ CS négatif : pas de changement de couleur « vert »

✓ Triple Sugar Iron « TSI »

Le milieu TSI est un milieu glucosé saccharose, contenant du citrate de fer ammoniacal. C'est un milieu que permet la mise en évidence de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des Enterobacteriaceae (Hajna, 1945).

Technique

- ❖ La surface est abondammentensemencée à la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette boutonnée. Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement le bouchon afin de permettre les échanges gazeux.

- ❖ Incuber à 37 °C pendant 24 hrs en anaérobiose. **Lecture**

Les résultats possibles se produisant selon la manière suivante :

Le culot

- ❖ Couleur jaune : glucose positif
- ❖ Couleur rouge ou inchangé : glucose négatif
- ❖ Couleur noir ou fissures : formation de sulfure d'hydrogène
- ❖ Bulles ou fissures : formation de gaz à partir du glucose

La pente de la gélose

- ❖ Couleur jaune : lactose et / ou saccharose positif

- ❖ Couleur rouge : lactose et / ou saccharose négatif

Il existe plusieurs classes de bactéries en fonction de leurs rapports avec l'oxygène : les bactéries aérobies strictes « ne développent qu'en présence d'O₂ », les bactéries microaérophiles « se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'O₂ est inférieur à celle de l'air », les bactéries aéro-anaérobies facultatives « se développent avec ou sans air », et les bactéries anaérobies strictes « ne se développent qu'en absence totale d'O₂ ».

- ✓ **Viande Foie « VF »**

Le milieu viande foie est un milieu de culture sert à la détermination du types respiratoire des bactéries donc définir son comportement vis-à-vis du dioxygène.

Technique

Le VF est principalement utilisé en tube profond

- ❖ Régénérer pendant 20 mn au bain d'eau bouillant « élimination des gaz dissous pour la création d'un gradient partiel en O₂ » ;

- ❖ Ensemencer, à l'aide d'une pipette Pasteur fermée et chargée en remontant en spirale dans la gélose. Le tube doit être en surfusion (45°C) ;

- ❖ Solidifier, puis mettre à l'étuve 24 hrs à 37 °C.

Lecture

Après 24 hrs d'incubation à 37 °C, on observe un trouble à quel niveau du tube il y a eu culture :

- ❖ Culture à la surface : Type aérobie strict.
- ❖ Culture partout sauf à la surface : Type anaérobie strict.
- ❖ Culture dans tout le tube : Type aéro-anaérobie facultatif.
- ❖ Culture qu'à un endroit précis du tube : Type microaérophile.

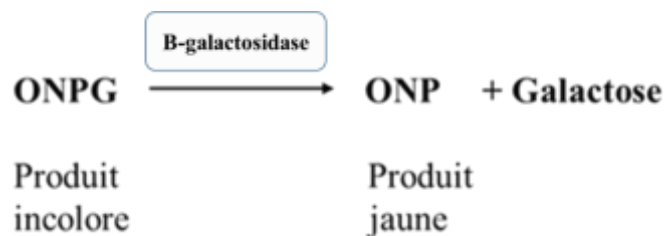
✓ Test d'ONPG

Ce test est réalisé lors de l'identification de très nombreuses bactéries (Gram + et -) destiné à la révélation de la β -galactosidase des entérobactéries. Cette dernière est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du lactose. Elle n'est synthétisée par la bactérie que lorsque celle-ci est en présence de son substrat : c'est une enzyme inductible.

On utilise un substrat synthétique : l'ortho-nitro-phényl-galactoside, abrégée en ONPG incolore, de structure proche du lactose et capable de pénétrer dans la bactérie sans perméase.

L'utilisation du lactose par la bactérie requiert deux enzymes :

- La lactose-perméase qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie.
- La β -galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en galactose et de l'arthonitro-phénol (ONP), exprimé par la réaction suivante :



La recherche de la β -galactosidase ne présente d'intérêt que pour les bactéries lactose - . En effet, toutes les bactéries lactose + sont β -galactosidase +.

Ensemencement

- ❖ Une suspension épaisse de bactéries est réalisée en eau distillée ;
- ❖ Un disque d'ONPG est déposé dans cette suspension ;
- ❖ Incubation 30 mn à 37 °C puis lecture.

Lecture

- ❖ Milieu jaune : ONPG +
- ❖ Milieu sans couleur : ONPG -

V-6.3.2 *Staphylococcus aureus*

✓ La gélose ADN ase

Certaines bactéries sont capables d'hydrolyser l'acide désoxyribonucléique en Nucléotides et/ou poly-nucléotides grâce à une enzyme dite désoxyribonucléase (ADN ase) (Brian-Jaisson, 2014).

Technique

- ❖ A partir d'une culture pure et fraîche, prélever les colonies suspectes et les ensemercer à la surface de la gélose à ADN en strie unique.
- ❖ Incuber à 37°C pendant 24 hrs.
- ❖ Après l'incubation, inonder la surface du milieu avec l'HCL.
- ❖ Laisser agir une minute.

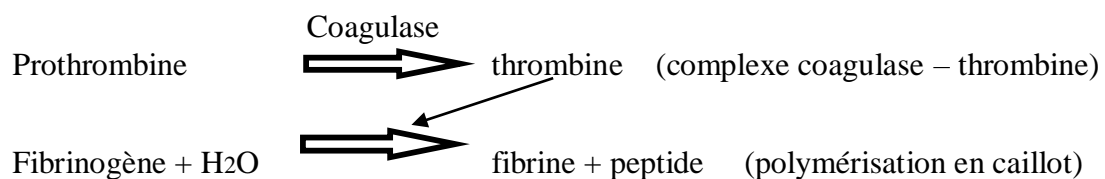
Lecture

ADN + : Lorsque l'ADN est hydrolysé, un halo clair est visible autour de la strie et le reste de la boîte reste opaque.

✓ Test de coagulase

Selon ISO 5944 (2001), La coagulase libre est une enzyme extracellulaire, capable de coaguler le plasma humain ou de lapin. Elle réagit avec une coaguline plasmatique proche de la prothrombine dans le plasma, et former un complexe nommé staphylo-thrombine qui convertit le fibrinogène en fibrine.

La coagulase a la propriété de provoquer la coagulation du plasma selon la réaction suivante :

**Préparation de l'émulsion de jaune d'œuf****Technique**

- ❖ Prendre l'œuf de poule, le rincer et le désinfecter ;
- ❖ Séparer les jaunes des blancs, les mélanger avec 04 fois leurs volumes d'eau physiologique stérile ;
- ❖ Faire chauffer le mélange au bain-marie à 48 °C pendant 2 heures. « avec chaque 02 à 05 mn les agiter » ;
- ❖ Le refroidir à +3 °C pour 24 heures, afin de laisser se former un précipité ;
- ❖ Ajouter 0.2 g de Tellurite de potassium ;
- ❖ Après décantation, utiliser le liquide « surnageant » ;
- ❖ Prélever 6 ml de surnageant et l'ajouter au milieu BP déjà préparé dont le volume de celui-ci égal à 90 ml ;
- ❖ Préparer le BHIB « Brain Heart Infusion Broth ».

Ensemencement sur BP + Jaune d'œuf

- ❖ Prélever une goutte de la suspension bactérienne à l'aide d'un écouvillon ;

- ❖ Strier sur la gélose de BP + Jaune d'œuf ; ❖ Incuber les boites à 37 °C pour 48 hrs.

Ensemencement sur le BHIB

- ❖ Après incubation des boites couleur par BP + Jaune d'œuf, les colonies caractéristiques et similaires sont prélevées à l'aide d'une pipette pasteur stérile et boutonnée et ont ensemencé dans un tube contient un bouillon BHIB « en raison de 05 tubes » ;
- ❖ Incuber les tubes 24 heures à une température voisine à 37 °C.

Recherche de coagulase

- ❖ Après incubation, les colonies caractéristiques vont racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile et boutonnée ;
- ❖ Dans un tube à hémolyse contient un plasma de lapin, ajouter une colonie prélevé ; agiter le tube doucement ;
- ❖ Attendre 10 à 20 mn pour voir le résultat, sinon on les ré-incube pour la dernière fois à 37 °C pour 4 à 24 hrs .

Lecture

- ❖ Coagulase + : coagulation du plasma
- ❖ Coagulase - : absence de coagulation

La réaction est considérée comme positive (coagulase positive) lorsque le coagulum occupe les $\frac{3}{4}$ du volume initialement mis en jeu. En principe, la coagulation se manifeste en moins de 3 heures et le plus souvent le caillot adhère aux parois du tube.

I.4.3.2 Aromatogramme

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par les bactéries du sol et certains champignons, qui à de faibles concentrations agissent sur les bactéries sans être toxiques pour l'homme.

Les premiers agents bactériens utilisés chez l'homme furent les sulfamides découverts en 1937. Le premier antibiotique a été découvert en 1928 par Alexander Fleming et introduit en thérapeutique en 1941, c'est la célèbre pénicilline G, produite par un champignon. Ces ATP ont une origine naturelle, s'ils sont extraits d'organismes vivants. Ils peuvent être obtenus par synthèse chimique totale ou partielle. Chaque ATB est caractérisé par un mode d'action spécifique.

Le phénomène de résistance est un phénomène général observé pour toutes les espèces bactériennes rencontrées chez l'homme (Sehksokh et *al.*, 2008). Une seule bactérie peut résister à plusieurs familles d'antibiotiques en même temps c'est les multi-résistances (Iserin, 2001). Ce pouvoir d'adaptation se manifeste par leur capacité à acquérir de nouvelles propriétés (Kheyar et Meridja, 2014).

L'action bactéricide et antiseptique des essences naturelles est établie depuis des millénaires. En diffusion atmosphérique les huiles essentielles ont le pouvoir de détruire en une demi-heure toutes les moisissures et les staphylocoques et de diviser par 50 le nombre des colonies microbiennes, selon les travaux du professeur Griffon en 1963 (Zhiri, 2005).

En 1887, Chamberland a étudié l'activité des huiles essentielles d'origan, de girofle, de cannelle sur *Bacillus anthracis* : le bacille du charbon. En 1919, Gatefossé, le père de l'aromathérapie codifie le pouvoir bactéricide des huiles essentielles et fournit des indications

thérapeutiques (Anton et *al.*, 2005). En 1930, Rideal et Walker établissent le coefficient phénol, le pouvoir bactéricide de chaque huile essentielle aromatique est comparée à celui du phénol, chimiquement, les ATB sont constitués d'une molécule unique, les essences pour la plupart, sont constituées de multiples molécules leur conférant des propriétés variées (El haras et *al.*, 2013).

A l'origine, les ATB sont également issus d'êtres vivants, mais principalement de moisissures hétérotrophes tirant leur énergie de la dégradation de substances organiques. Les essences, elles sont issues du métabolisme de plantes supérieures chlorophylliennes et autotrophes (Boutabia et *al.*, 2016 ; Laurent, 2017).

La molécule synthétique (ATB) permet seulement une action bactériostatique ou bactéricide. L'HE va au-delà et agit parallèlement sur l'organisme tout entier, outre l'apparition de phénomènes d'antibiorésistance et la création de souches bactériennes mutantes redoutables, certaines molécules antibiotiques présentent une toxicité sévère. Les HEs utilisées selon des normes précises, donnent lieu à des « effets secondaires bénéfiques » (Moran et *al.*, 2006 ; Goetz et Ghedira, 2012) à l'ensemble de l'organisme et la flore symbiotique est respectée. Enfin le système immunitaire voit son activité modulée dans le sens favorable à la défense, il est bon de savoir que les HEs (Klevens et *al.*, 2007) donc ont un pouvoir antiseptique, leur principale activité, qui s'exerce sur les bactéries pathogènes et sur des germes antibiorésistants (Klevens et *al.*, 2007).

Définition

Le mot « aromathérapie » qui vient du latin *aroma*, « aromate » et du grec *therapeia*, « traitement ou soin », est un terme créé en 1928 par le chimiste français René-Maurice Gattefossé accidentellement qu'il découvrit les propriétés de guérison de la lavande après s'être brûlé lors de ses expériences. Le seul liquide qu'il avait à portée était une cuve rem-guérisant très vite et sans laisser de cicatrice (Abdel-Moneim et Aboel-Atta, 2009).

L'aromathérapie se fonde sur des connaissances botaniques précises. Elle correspond, à l'utilisation de la seule fraction aromatique des plantes afin de parfumer, prévenir ou soulager des symptômes d'ordre physique ou nerveux (Drancourt, 1998). Elle se différencie de la phytothérapie qui elle, utilise l'ensemble de la plante. C'est une "biochimiothérapie" naturelle qui repose sur la relation existante entre les composants chimiques des HEs et les activités thérapeutiques qui en découlent (Bruneton, 1993).

L'aromathérapie scientifique ou aromatology est l'étude des huiles essentielles. Il s'agit d'une science qui recourt à une méthodologie rigoureuse et se base sur des données scientifiques solides, confirmées par la clinique et par de nombreux tests en laboratoire. C'est une thérapie naturelle de qualité, et qui complète très bien toutes les autres approches alternatives ou allopathiques (Baudoux, 2008).

Principe

De nombreuses études sont intéressées à l'étude de l'association des antibiotiques et des huiles essentielles in vitro pour surmonter les problèmes de résistance et des effets secondaires associés aux médicaments, ces recherches révèlent une synergie intéressante entre les antibiotiques et les huiles essentielles étudiées (Fabre et *al.*, 2010). Et de ce fait, l'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité antibactérienne d'HE de Laurier noble et de l'extrait aqueux sur *E. coli* et *S. aureus*. On a suivi les étapes suivantes (Donnio et *al.*, 2010) :

La préparation de l'inoculum est la première étape ainsi que les souches bactériennes doivent être jeunes et en phase de croissance exponentielle.

Deux à trois colonies similaires bien isolées sont déchargées dans un tube à essai stérile contient de l'eau physiologique stérile. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation à 10^7 UFC / ml a été réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. La Densité optique obtenue doit être comprise entre 0.08

et 0.1 ce qui correspond à une concentration de 10^6 à 10^8 UFC / ml selon Mc Ferland (Fig. 10).

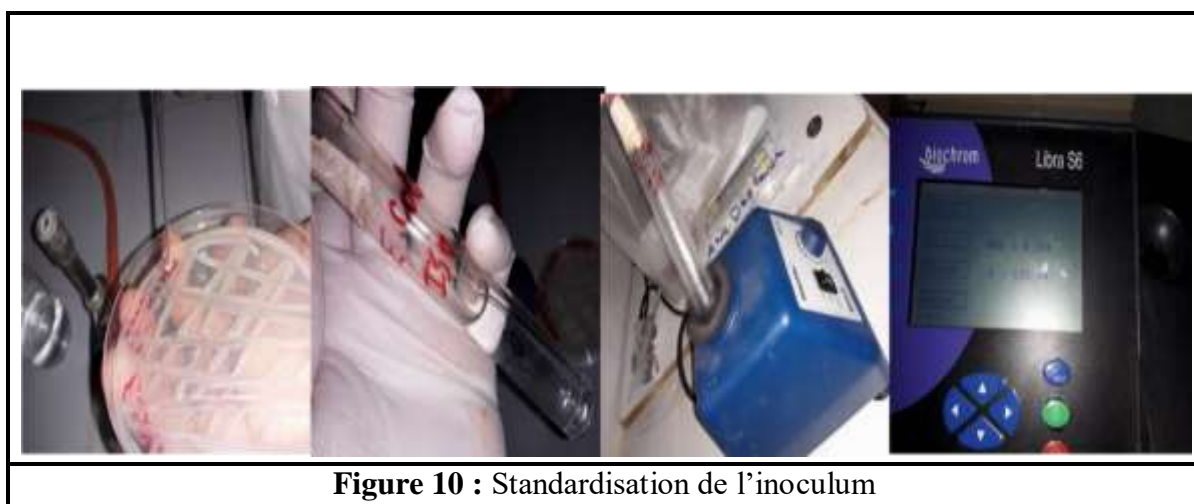


Figure 10 : Standardisation de l'inoculum

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Aromatogramme), méthode décrite par Vincent (1991) et revue par Djilan et Deko (2012). Le principe de l'aromatogramme est inspiré de l'antibiogramme, il consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de l'essence sur le milieu solide dans une boîte à Pétri.

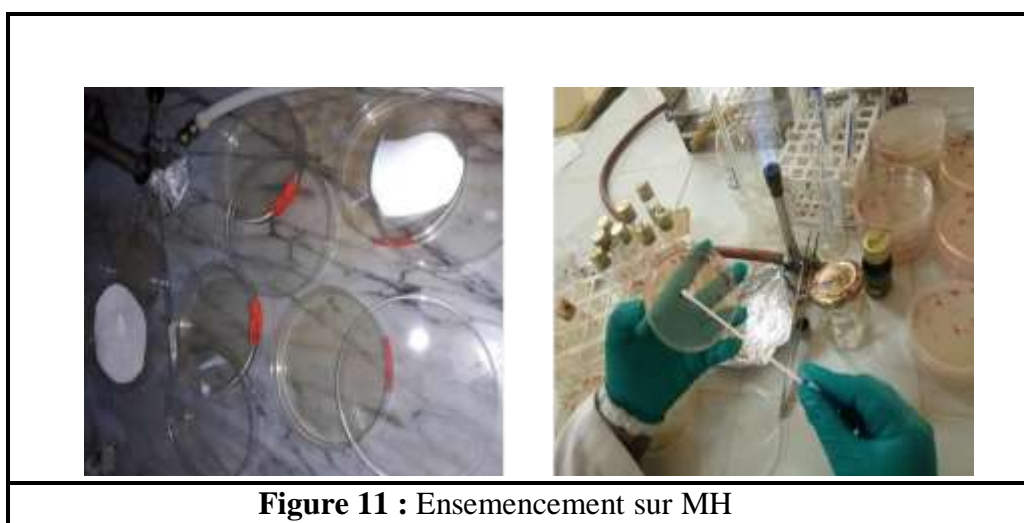
L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact des HES sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes.

Ensemencement et application des disques

L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage et, en procédant comme suit :

- Le milieu MH (Mueller Hinton) a été coulé dans des boîtes de Pétri en surfusion et laissé solidifier ;

- Après la solidification, un écouvillon stérile a été plongé dans la suspension bactérienne puis légèrement essoré ;
- L'étalement a été fait à l'aide de cet écouvillon sur la surface de la gélose en tournant la boîte 3 reprises à 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum. **(Fig.11)**



Sur la base de la variation des rendements en HE de Laurier extraites, dans cette prospection l'aromatogramme est basé sur l'utilisation d'HEL séché à l'air libre et pure.

Dans chaque boîte de Pétri, nous avons déposé quatre disques de 6 mm imbibés de 10 μ l de chaque solution à tester et le témoin est imbibé seulement par l'eau physiologique stérile ;

De préférence les disques imbibés est de les laisser reposer un certain moment (environ 30 min) (Festy, 2004). L'incubation des boîtes a été faite à l'étuve à une température de 37 °C pendant 24 hrs. Ces étapes sont illustrées comme suit **(Fig. 12)** :



Figure 12 : les étapes d'aromatogramme "HE"

Lecture

Les diamètres des zones d'inhibition lorsqu'elles existent ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. Ces derniers ont classé la substance testée selon le diamètre de la zone d'inhibition (D) de la croissance microbienne en cinq classes (Ouis, 2015) :

- ✓ Non inhibitrice : $D < 10$ mm
- ✓ Légèrement inhibitrice : $11\text{mm} \leq D \leq 16$ mm
- ✓ Modérément inhibitrice : $16\text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- ✓ Fortement inhibitrice : $21\text{ mm} \leq D \leq 29$ mm
- ✓ Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm

Résultats et discussions

II.1 Détermination du rendement

On a extrait l'huile essentielle de laurier noble à partir des feuilles, en différents états. Le temps d'extraction était environ trois heures pour chaque échantillon.

a. Etat frais

Les résultats du calcul des rendements des feuilles Fraiches du *Laurus nobilis* montrent clairement que le pourcentage en huile essentielle des feuilles est (0.16 %). **b. Etat sec**

Les résultats du calcul des rendements des feuilles sèches du *Laurus nobilis* montrent clairement que le pourcentage le plus élevé en huile essentielle des feuilles sèches à l'air libre est 0.83 %, suivant par 0.42 % et 0.35 % pour les feuilles séchées par étuvage à température basse et élevée.

Nous avons obtenu un rendement qui varie entre 0.16 allant à 0.83 % sur les différentes opérations d'extraction qu'on a réalisées. Les feuilles séchées à l'air libre prennent le plus grand pourcentage suivant par les feuilles sèches par étuve à une température basse, puis étuvées à une température élevée et enfin les feuilles qui sont à l'état frais.

La variation de rendement en huile essentielle des feuilles de laurier noble à différents états est représentée par l'histogramme qui suit (**Fig. 13**) :

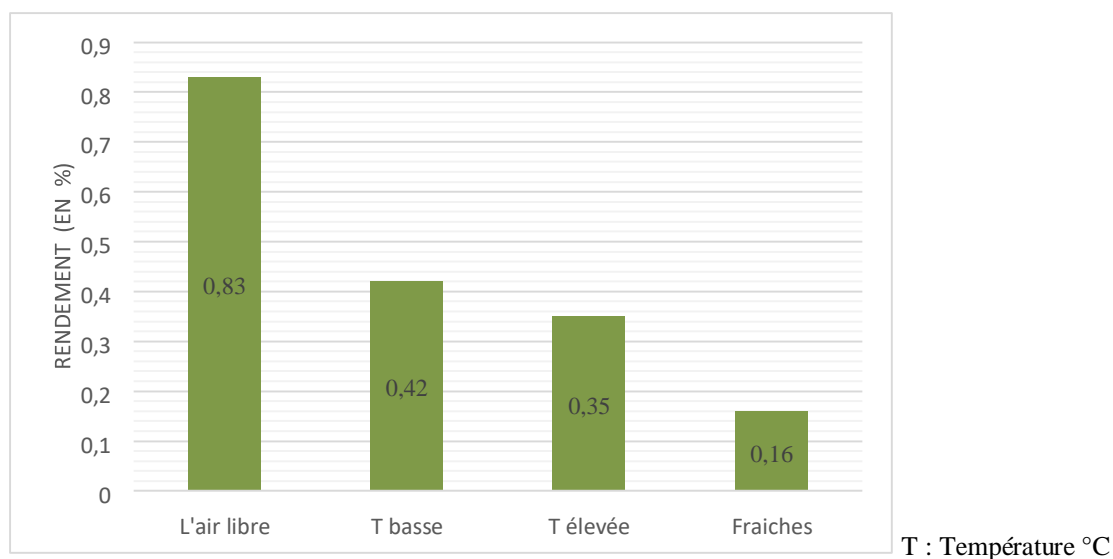


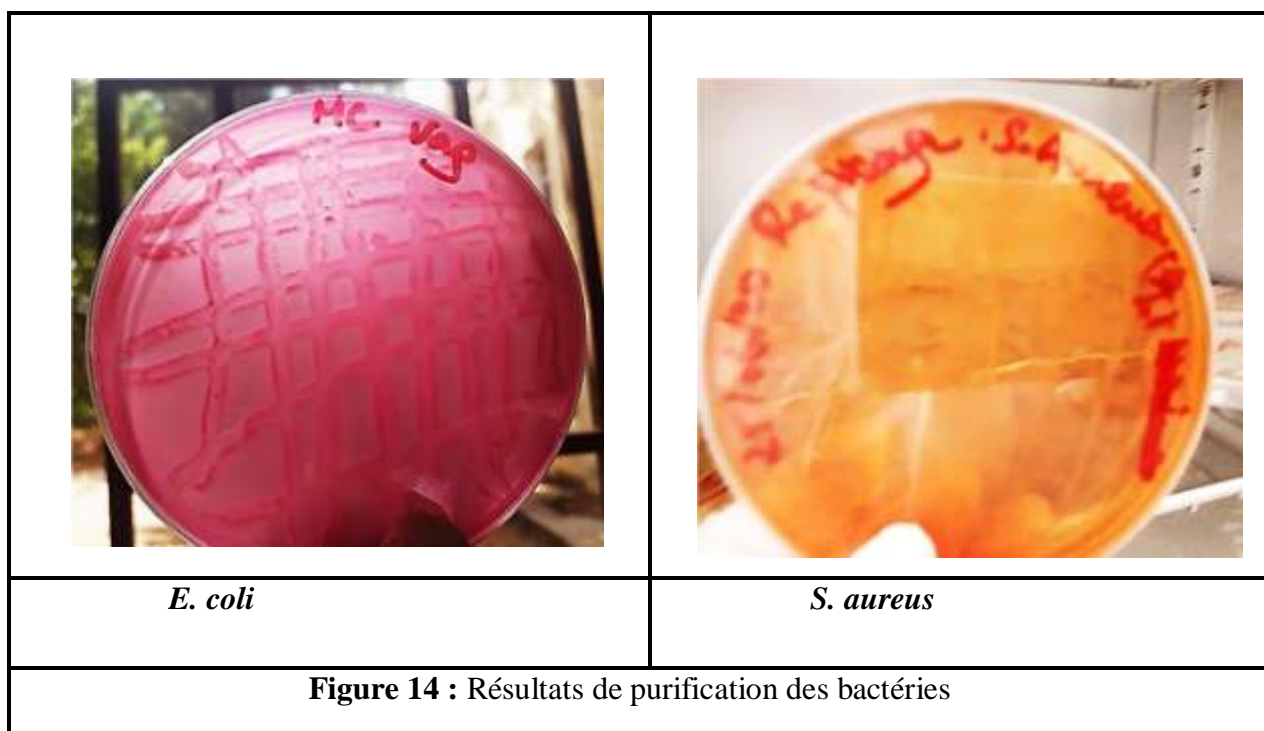
Figure 13 : Variation de rendement en fonction d'état des feuilles de laurier noble

Selon la norme française « AFNOR (1996) », la pharmacopée européenne, (2008) et « l'AFSSAPS (2008) », le rendement de l'espèce étudiée est à son maximum en période de floraison, le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe utilisé de la plante, la période de séchage et la méthode d'extraction employée, etc..., sont aussi de facteurs pouvant avoir un impact direct sur le rendement en HE (Ouafi et *al.*, 2017).

II.2 Activité antibactérienne

✓ Purification

La purification des souches a été faite par le repiquage successif des colonies (**Fig. 14**).



II.2.1. Confirmation des bactéries

✓ Observation macroscopique

Après 24 hrs d'incubation à 37 °C, l'examen macroscopique des colonies bactériennes est consigné dans le **tab. 06**.

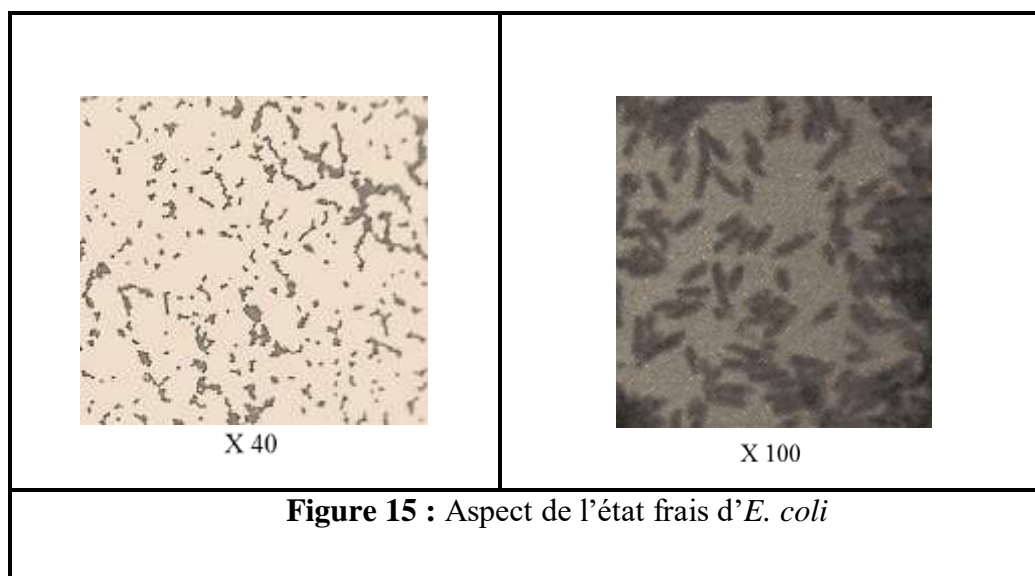
Tableau 06 : Aspect des colonies bactériennes

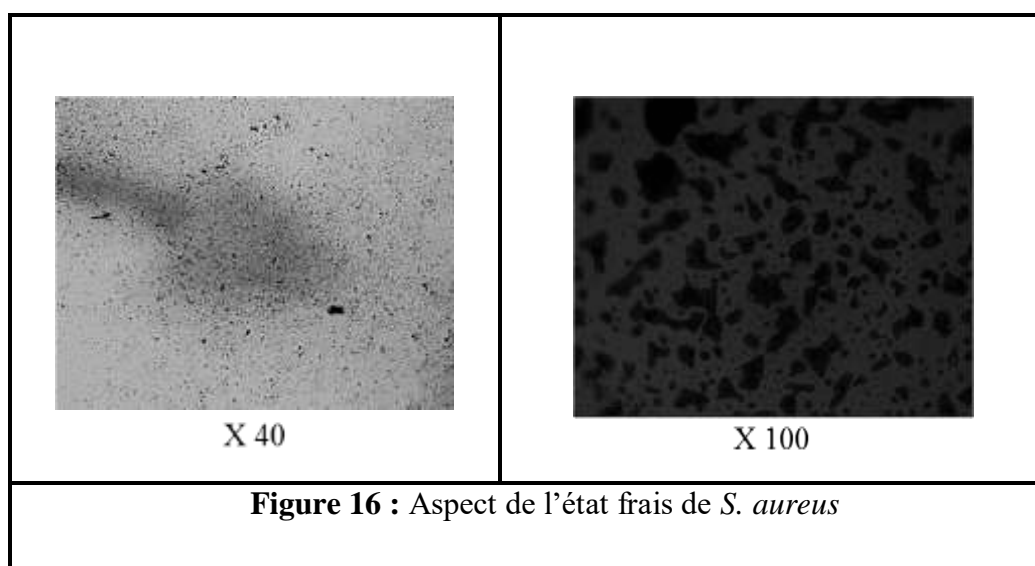
Bactéries	Caractère des colonies
<i>E. coli</i>	Jaunâtre ; lisse ; arrondie ; et translucide
<i>S. aureus</i>	Doré ; lisse ; ronde ; et bombées

✓ **Observation microscopique**

Etats frais

L'état frais des bactéries permet l'observation de la mobilité des bactéries étudiées. *E. coli* est mobile alors que le *S. aureus* immobile (**Figs. 15 et 16**).





- ❖ Notre examen de l'urine entre lame et lamelle à l'objectif x 40 a permis l'observation de leucocytes, d'hématies, de cristaux et de quelque germes en forme de cocci ou de bacilles. Le mouvement des bacilles conclu par la mobilité des souches *E. coli* (Girard et al., 2006 ; Janvier et al., 2008 ; Mattioni et al., 2014).
- ❖ L'examen microscopique du prélèvement de plaie buccale entre lame et lamelle à l'objectif x 40 nous permis l'observation de l'immobilité des germes en forme de Cocci en amas.

Dans le but de confirmation de la mobilité de nos souches bactériennes nous avons constaté à utiliser le milieu Mannitol Mobilité (MM), dont Les résultats sont :

C'est une gélose molle conditionnée en tube et qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des germes.

En ce qui concerne la mobilité les bactéries mobiles ont diffusé à partir de la ligne verticale d'ensemencement en créant un trouble, et nous avons l'exemple comme : *Escherichia coli*. Alors que Les bactéries immobiles ont uniquement poussé le long de la strie d'ensemencement : *Staphylococcus aureus*.

Coloration de Gram

Après coloration de Gram de nos souches, nous avons obtenu les figures (Figs.17 et 18) et Tableau n° 7 :

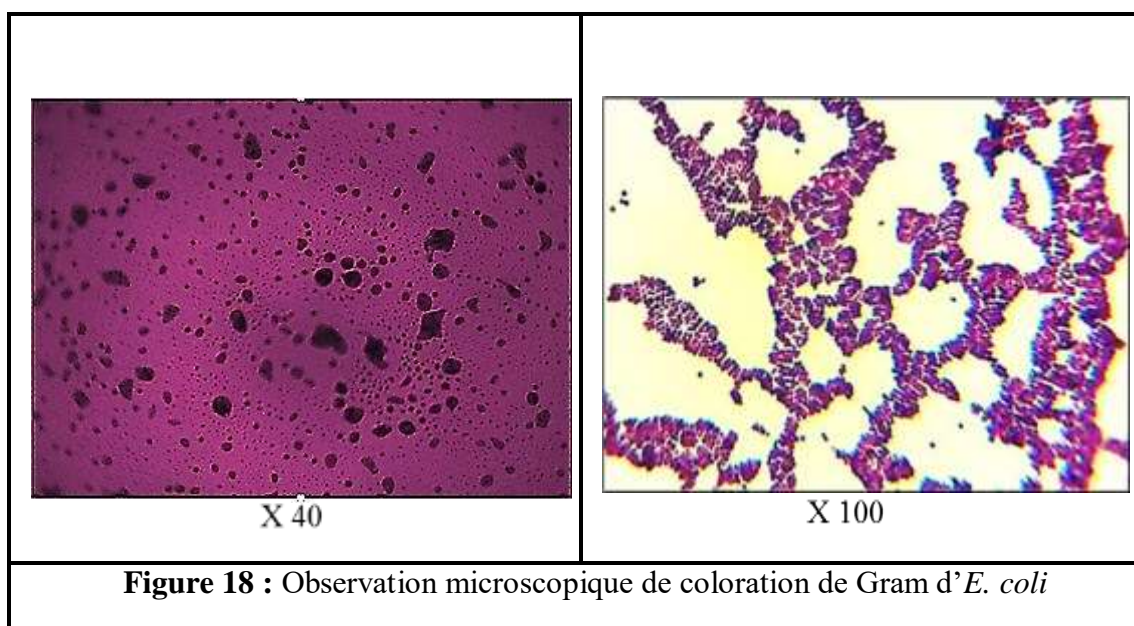
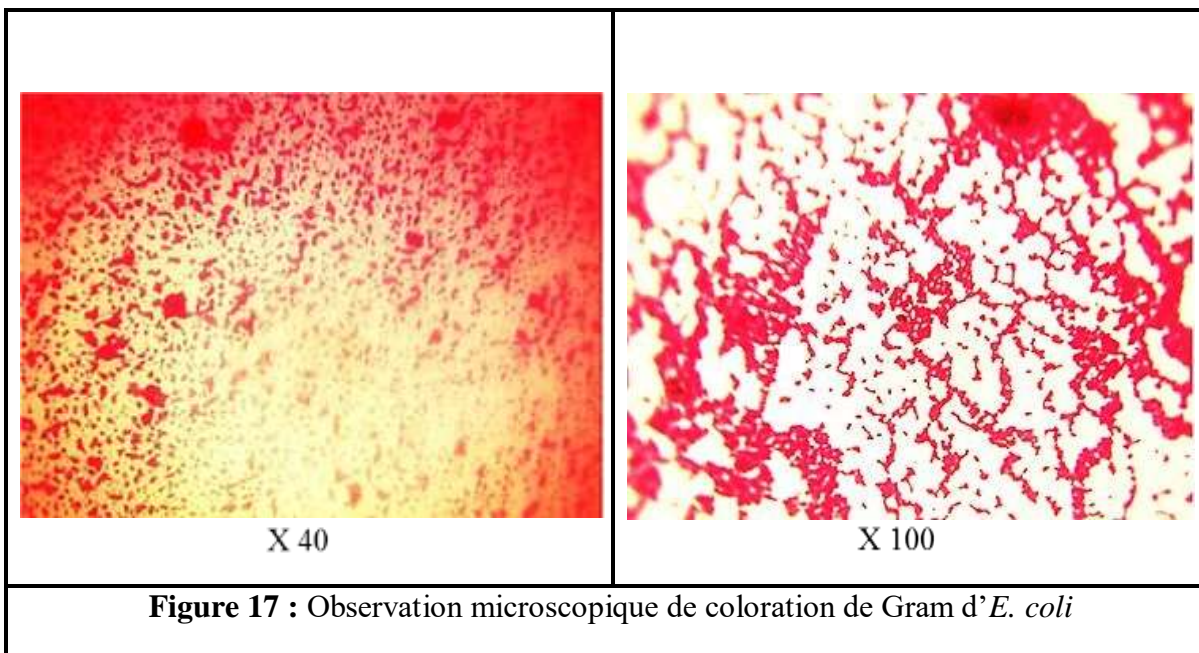
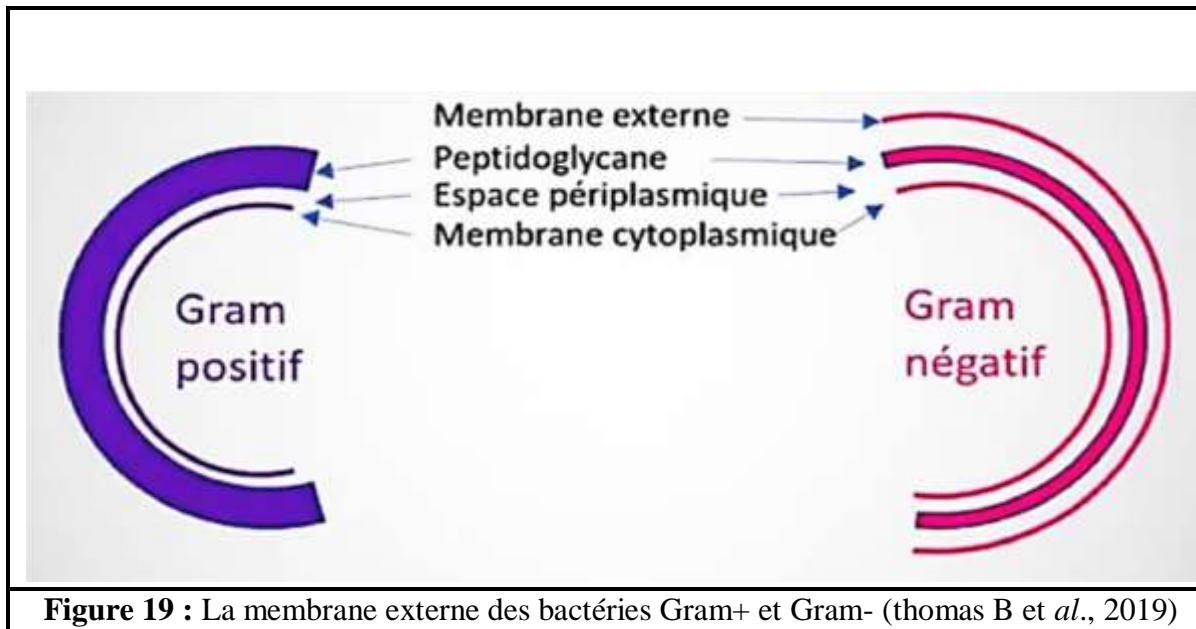


Tableau 07 : Résultats de coloration de Gram des souches bactérienne *E. coli* et *S. aureus*

	FORME	GRAM	GROUPEMENT
<i>E. coli</i>	Bacilles	- Homogène	Isolés
<i>S. aureus</i>	Coques	+ Homogène	Regroupées en Chaine

Les bactéries présentent toutes une paroi constituée d'une substance, la muréine qui est un peptidoglycane. Celle-ci est recouverte par une membrane externe chez les bactéries G -, tandis que les bactéries à G + en sont dépourvues. En se référant à la couleur de la paroi, on peut les classer soit dans les G + ou les G -. La forme de la paroi permet ainsi la reconnaissance de la morphologique et du mode de groupement des bactéries en vue de renseigner sur l'ordre dont font partie les bactéries étudiées (Festy, 2004).

Ainsi, la paroi des bactéries G + étant épaisse, est composée d'une quarantaine de couches de peptidoglycane ne permettant pas à l'alcool de la traverser tandis que la paroi des bactéries à G - n'étant formée que d'une seule couche de peptidoglycane ; ce dernier empêche l'accès de la couleur violette à l'intérieur de la bactérie Gram+, cette couleur en présence de l'alcool sur la superficie de la paroi est à l'origine de sa décoloration (**Fig. 19**) (Blanchot et *al.*, 2019).

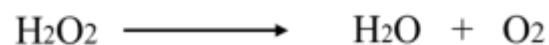


❖ Etude biochimique

✓ La recherche de la catalase

La recherche de l'enzyme catalase a été réalisée par la dissociation d'une colonie isolée dans des gouttes de l'eau oxygénée. La présence d'une catalase se traduit par la formation des bulles d'oxygène (**Annexe IV**) (Bey, 2013).

Les résultats sont positifs montrent l'apparition des bulles d'oxygène se traduit par la dégradation de l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau et oxygène (Reiner, 2010).



✓ La recherche d'oxydase

La recherche de l'enzyme oxydase a été effectuée sur les souches par l'ajout d'un disque d'oxydase à une suspension bactérienne (**Annexe V**).

Il est à noter qu'aucune des souches étudiées possèdent l'enzyme Oxydase, d'où leur incapacité d'oxyder le réactif N-méthylés du para-phénylénylènediamine, ce qui entrave sa transformation en réactif semi quinone ce qui explique l'aspect incolore de la bactérie (Kovacs et *al.*, 1995).

La détermination des caractères biochimiques est indispensable pour l'identification précise des genres et des espèces bactériennes. Dans notre travail nous avons utilisé la macrogalérie pour nos espèces et les comparant aux résultats des souches de référence.

A. *E. coli*

Les résultats sont représentés dans le **tableau 08**

Tableau 08 : Résultats des tests d'identification biochimique de l'*E. coli*

Tests	<i>E. coli</i> « référence »	<i>E. coli</i> « isolée »
CIT	-	-
GLU	+	+
H₂O	-	-
MAN	+	+
ONPG	+	+
SAC	-	-
URE	-	-

Le signe (-) : négatif

Le signe (+) : positif

✓ Le milieu M C

Après ensemencement sur Mac Conkey, à l'étuve à 37 °C d'incubation, nous avons observé au bout de 24 heures la formation de colonies rondes rouges, bombées, et lisse sur ce milieu entourées par un halo opaque (**Fig. 20**). La couleur rouge de colonies induites que les trois souches d'*E. coli* sont à Lactose +.

La présence des colonies sur le MC nous a permis la présence des souches d'E coli « le cas de confirmation de la coloration de gram » : le MC contient des agents sélectifs qui freinent le développement des bactéries à G +.



Figure 20 : Observation macroscopique des colonies sur MC

✓ La recherche de type respiratoire

L'utilisation de milieu VF permet la mise en œuvre du type respiratoire des espèces étudiées « *E. coli* » (**Fig. 21**).

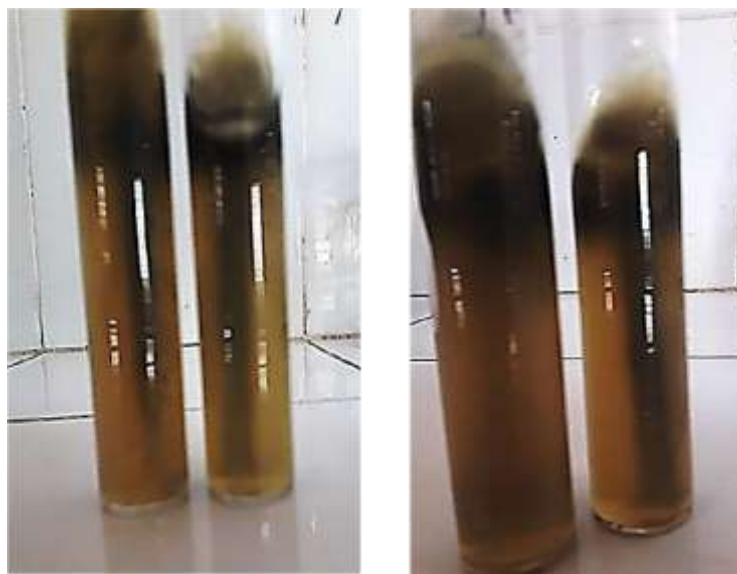


Figure 21 : Observation macroscopique des colonies sur VF

Après incubation, La culture bactérienne est dans les zones aérobie et anaérobie qui se caractérisent par la production du gaz, en présence et en absence d'O₂ et pour ce fait on déduit que la souche bactérienne a un type respiratoire de type Aérobie-anaérobie facultatif avec production de gaz.

Les résultats qu'on a obtenus sont représentés dans le **tableau 09**

Bactéries	Type respiratoire
<i>E. coli</i>	Aéro-anaérobie facultatif

✓ Le milieu MM

Après incubation du milieu, le milieu mannitol mobilité est devient jaune doré, caractérisé par un trouble au milieu du tube avec l'apparition d'un anneau rouge.

Les souches d'*Escherichia coli* ont fermenté le mannitol et le réduise en mannose ce qu'il montre à travers l'indicateur de couleur en jaune doré. Dont la fermentation du mannitol a été matérialisée par un virage du milieu au jaune et la dégradation représenté par l'anneau rouge.

Le trouble est due par le mouvement des bactéries dans le milieu, elles peuvent se déplacer dans la gélose moule : Etude de mobilité.

✓ Le milieu C S

Le résultat de citrate de Simon est négatif, la couleur verte de milieu montre que les souches d'E coli n'utilisent pas le citrate comme une seule source de carbone, donc elles sont incapables d'alcaliniser le milieu (**Fig 22**) (Bey, 2013).

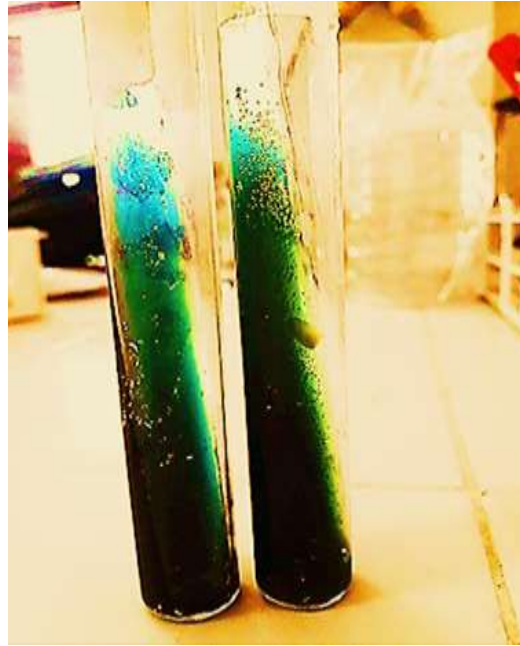


Figure 22 : Aspect de milieu CS des souches d'*E. coli*

✓ **Le milieu TSI**

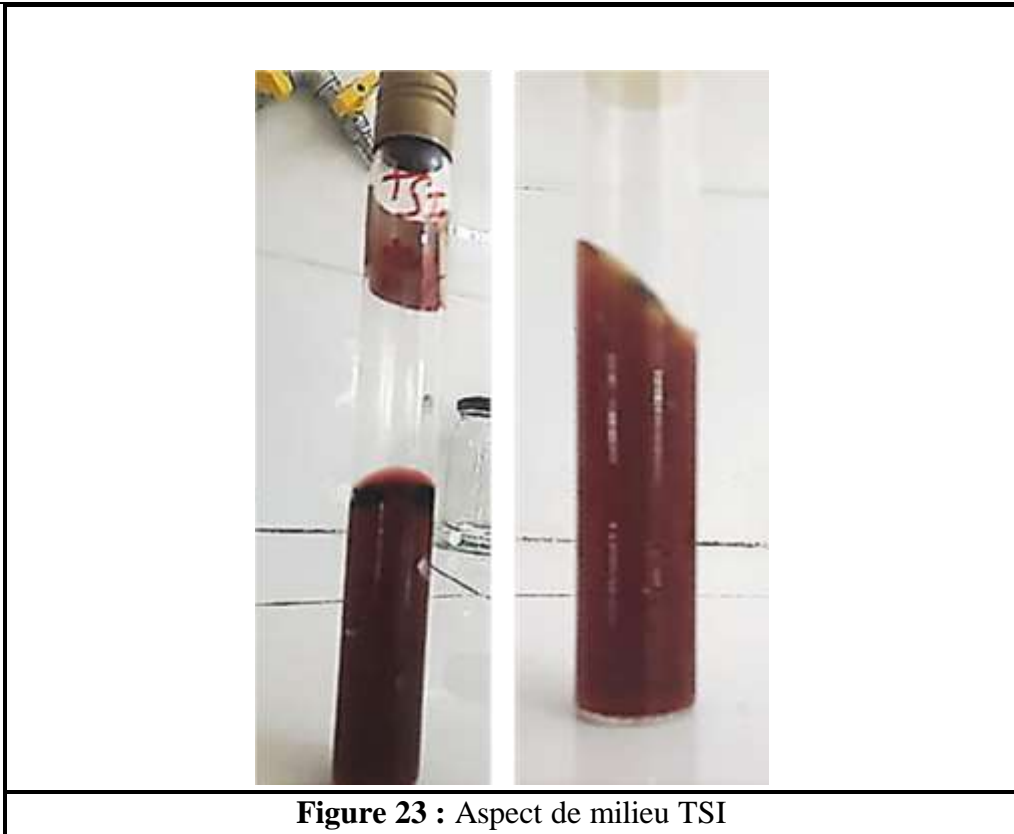
Le résultat en TSI est positif (**Fig. 23**), les indicateurs du milieu étant +, il se caractérise par :

Le culot

- ❖ Couleur jaune : glucose positif
- ❖ Couleur noir ou fissures : formation de sulfure d'hydrogène
- ❖ Bulles ou fissures : formation de gaz à partir du glucose

La pente de la gélose

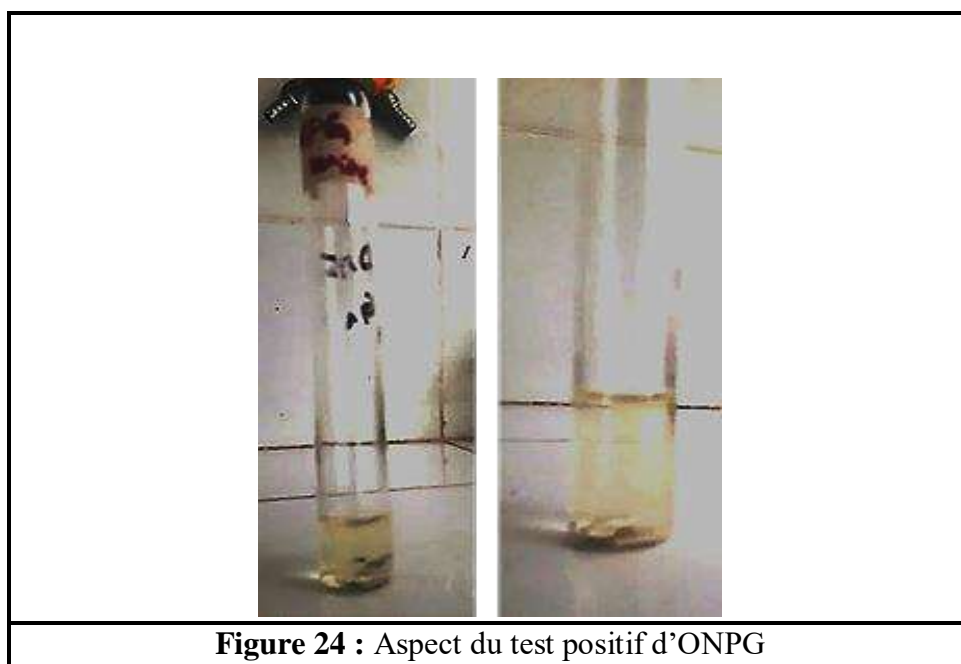
- ❖ Couleur jaune : lactose et / ou saccharose positif



Le H₂O étant positif et se manifestant par la formation des bulles entraine le noircissement du culot (initialement jaune témoin de la présence du glucose+, saccharose+ et lactose+), ce qui en soi indicateur de la fermentation de ces trois sucres et la formation de sulfure d'hydrogène (Hajna, 1945).

✓ Le milieu ONPG

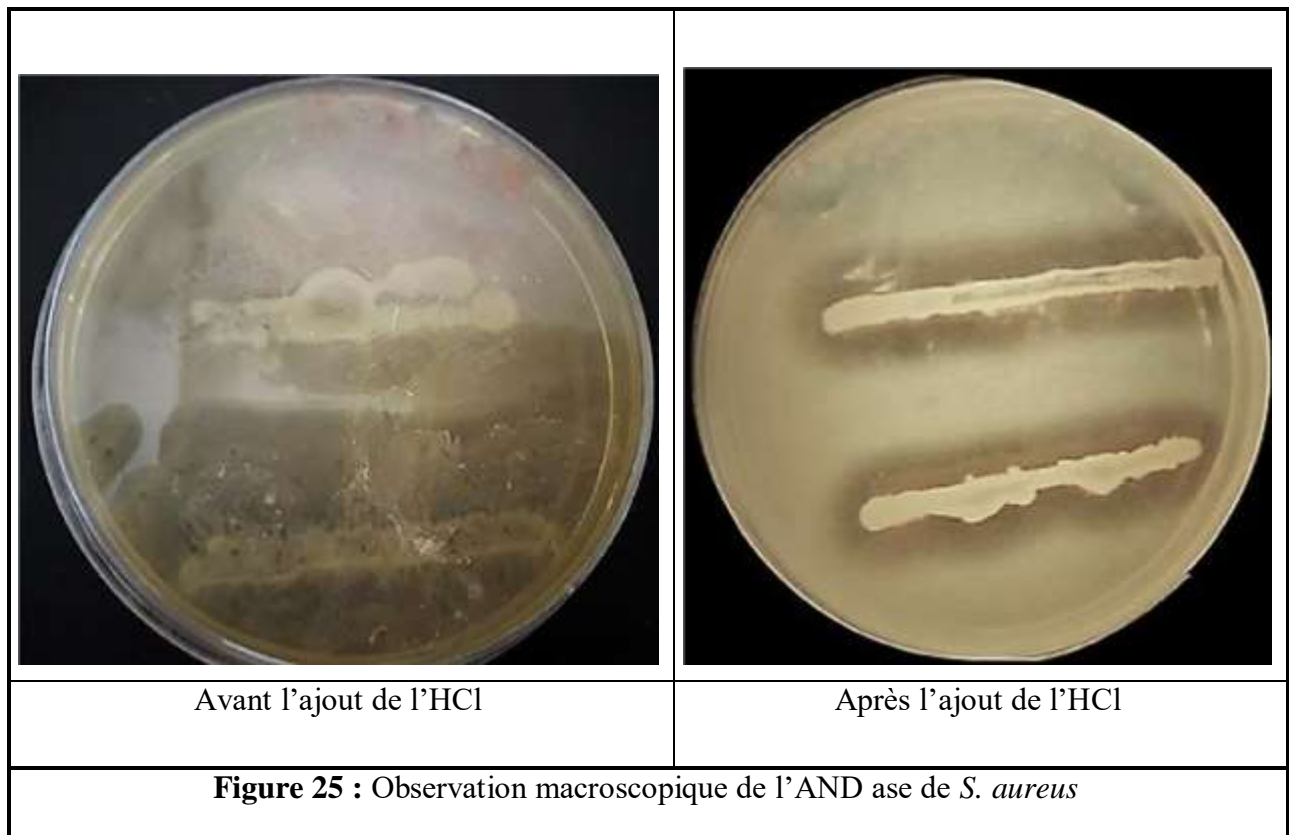
Les souches d'*Escherichia coli* étant toutes pourvues de la B-Galactosidase, elles ont donné un résultat positif. Le milieu utilisé virant ainsi au jaune, cet ONPG est + (**Fig. 24**).

**B. *S. aureus*****Tableau 10 : Résultats d'identification biochimique de *S. aureus***

Tests	<i>S. aureus</i> « référence »	<i>S. aureus</i> « isolé »
ADN ase	+	+
Coagulase	+	+

✓ **Le milieu AND ase**

Après incubation et avant l'ajout d'HCl, l'apparition des aspects d'ADN des souches de *S. aureus* « isolé » est clairement exposée dans le milieu AND ase. Après l'addition du produit HCl, on a observés un halo clair autour de la culture (**Fig. 25**) (Blair et Emerson, 1967).



La zone d'hydrolyse a été observée par l'addition d'acide chlorhydrique à la surface du milieu, ce qui provoque la précipitation de l'ADN et l'opacification du milieu (Guiraud, 2003).

✓ Coagulase

Le test coagulase est considéré comme un test clé d'identification des souches de Staphylocoque, ce test est utilisé pour différencier les Staphylocoques à coagulase + de celles qui ont un coagulase - (ISO 5944, 2001 ; Kenneth et *al.*, 2003).

B.2.1 Observation macroscopique de BP + Jaune d'œuf

L'apparition des colonies noires briontes entourées par un halo clair est due à la dégradation du Tellurite et du jaune d'œuf par la souche étudiée « *S. aureus* » (**Fig. 26**) (ISOFDIS 6888-2).

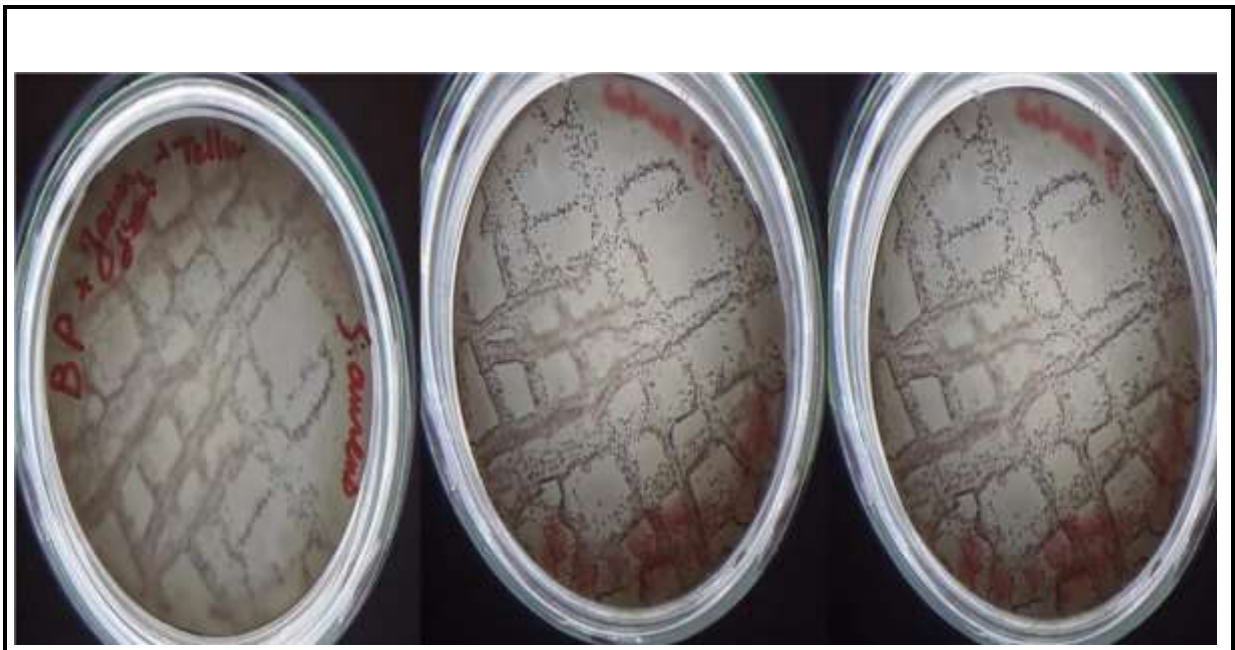


Figure 26 : Aspect macroscopique des colonies de *S. aureus* sur BP + Jaune d'œuf

Coagulation du plasma

Les résultats de notre étude sont pratiquement positifs (**Fig. 27**), la coagulase libre intervient dans la constitution des complexes staphylo - thrombines et que le caillot permet aux bactéries qu'il contient de se protéger contre la phagocytose (ISO 5944, 2001 ; Krammer et Farabaugh, 2007), et qui déduit à la fin que la souche inconnue appartient au *S. aureus* à coagulase +.

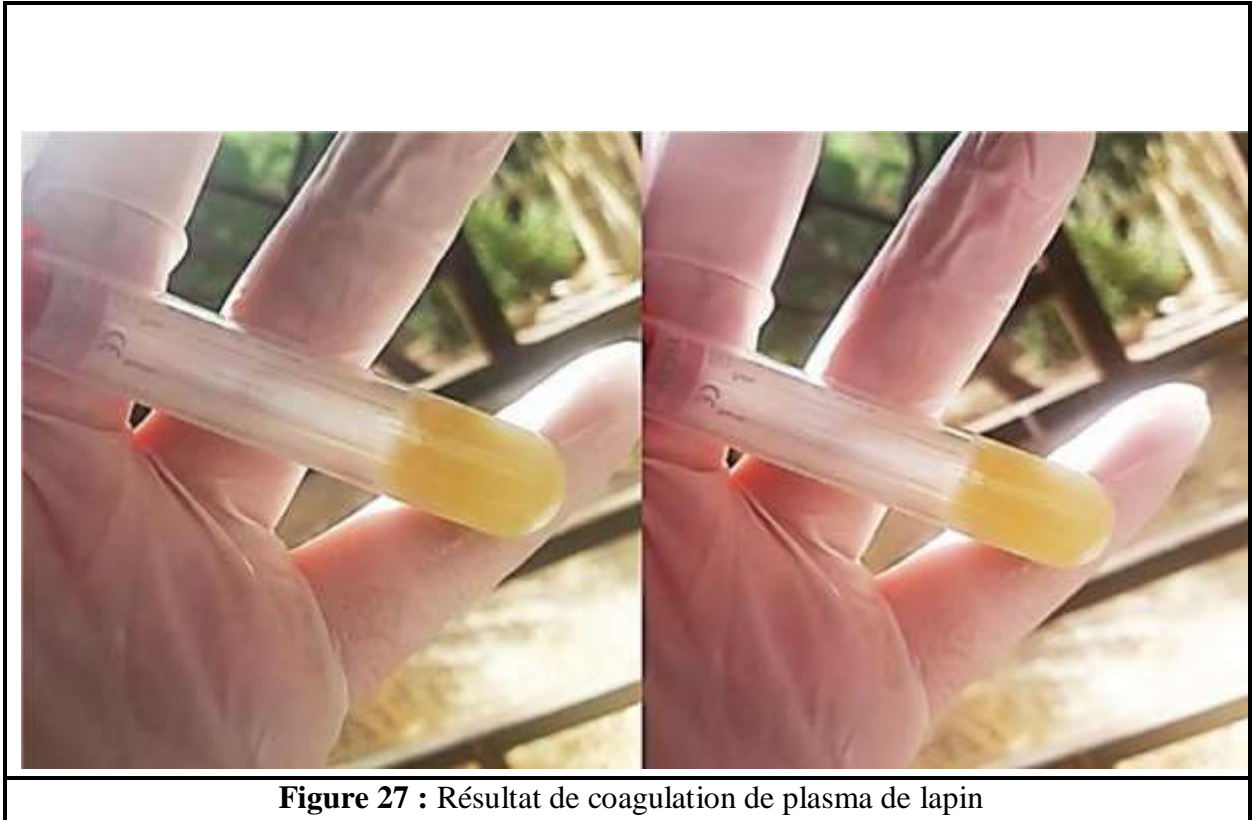


Figure 27 : Résultat de coagulation de plasma de lapin

L'identification bactérienne est une étape très importante dans le diagnostic d'une maladie, elle consiste à reconnaître le microorganisme inconnu, à le placer dans un taxon connu et enfin à déterminer l'agent pathogène responsable de cette maladie.

Les maladies liées aux infections causées par certaines bactéries sont courantes et l'identification des germes impliqués est fondamentale dans le diagnostic posé dans les laboratoires d'analyse de biologie médicale. La démarche de l'identification repose sur les moyens classiques. Ces derniers sont utilisés depuis longtemps ; notre principe d'identification repose sur les moyens classiques : il s'agit en pratique d'effectuer un examen microscopique et macroscopique et une macro-galerie biochimique. Il convient ensuite de comparer les différents caractères morphologiques et biochimiques de l'espèce inconnue avec une espèce déjà décrite

(une souche type). Ces résultats concordent bien avec ceux qui l'ont obtenu dans la littérature (Drancourt, 1998 ; Kreusch, 2003).

VI-5.1.4 Activité antibactérienne

Les zones d'inhibition ont été mesurées précisément par un pied à coulisse sur un compteur des colonies (**Fig. 28**).



Figure 28 : Méthode de mesure des zones d'inhibition

VI-5.1.4.1 Aromatogramme

L'activité antibactérienne de l'HE de *Laurus nobilis* pure a pu être estimée en se basant sur les diamètres de la zone d'inhibitions mesurée précisément par un pied à coulisse (**Figs. 29, 30 et 32**), puis on les comparant à l'échelle donnée par Kheyar et Meridja (2014).



Figure 29 : Aspect des zones d'HEL sur les souches de référence



Figure 30 : Aspect des zones d'inhibition d'HEL sur *E. coli*



Figure 31 : Aspect des zones d'inhibition d'HEL sur *S. aureus*

Les diamètres de ces derniers sont interprétés dans les tableaux suivants :

Tableau 11 : Résultats d'aromatogramme d'HE de Laurier sur *E. coli* « les diamètres sont exprimés en mm »

	<i>E. coli</i> « R »	<i>E. coli</i> « U »	<i>E. coli</i> « V »
HE pure	8.92	00	6.06

R : Référence U : prélèvement à partir des urines V : prélèvement vaginal

Tableau 12 : résultats d'aromatogramme d'HE de Laurier sur *S. aureus* « les diamètres sont exprimés en mm »

	<i>S. aureus</i> « R »	<i>S. aureus</i> « PB »
HE pure	12.98	7.53

R : Référence PB : prélèvement de la plaie buccale

Les résultats obtenus montrent que l'HE possède un spectre d'activité plus large sur les bactéries à Gram+ (*staphylococcus aureus*) que sur les bactéries à Gram- (*Escherichia coli*), Celle-ci est due à la capacité de pénétration des composés actifs présents dans les huiles essentielles au niveau de la paroi bactérienne.

Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; le lipo-polysaccharide, grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes (Hogan, et Kolter, 2003). Cependant les bactéries à Gram positif sont moins protégées contre les agents antibactériens, le peptidoglycane n'entrave que la diffusion des poids moléculaires à 50KD (Kheyar et Meridja, 2014).

L'HE de Laurier noble possède une notable activité anti-infectieuse. Celle-ci peut être considérée comme modérée en comparaison à d'autres HE, mais néanmoins intéressante en thérapeutique. Par ailleurs, de nombreux travaux confirment son activité antibactérienne à spectre large in vitro, par sa forte concentration en 1,8-cinéole associé notamment à l'eugénol ou son méthyl (Alili et Tantar, 2017).

Les Oxydes : Ont des propriétés antibactériennes et antivirales, parmi eux on trouve 1,8cinéole qui est le principale composant d'HE de laurier et qui stimule les glandes à mucine ainsi que le mouvement des cils de la muqueuse de l'arbre respiratoire. Le rôle de ces molécules est de dissoudre les complexes colloïdo-lipidiques des sécrétions afin de permettre la destruction des germes qui y sont enfouis (Djilan et Deko, 2012)

L'HE de Laurier noble est couramment utilisée pour traiter les plaies buccales. Une étude confirme son pouvoir anti-staphylococcique : elle a la capacité d'inhiber les souches buccales de *S. aureus* avec une importante activité anti-biofilm. Elle pourrait ainsi avoir un rôle prometteur dans la prévention des infections bucco-dentaires. En plus, in vitro, il inhibe l'activité de l' α -glucosidase à plus de 90 % à la concentration de 7.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, par inhibition compétitive (Khan et al., 2009)

L'ester d'huile essentielle de laurier correspond aux alcools qu'ils contiennent, l'acétate de linalyle dérivé du linalol est l'ester le plus fréquent nommé l'Acétate de terpényle (Djilan et Dicko, 2012).

Conclusion

Conclusion

Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Laurier Nobel. Dans ce contexte nous nous sommes intéressées à extraire l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Hydrodistillation est une méthode de choix pour l'extraction des huiles essentielles. Les résultats obtenus indiquent que le rendement en huile essentielle estimé varie entre 0.16 et 0.83% pour 100 g des feuilles selon l'état utilisé.

Les tests d'activité antibactérienne réalisés *in vitro* par la méthode d'aromatogramme par la technique de diffusion sur un milieu gélosé, les résultats qu'on a obtenus ont démontré que l'huile essentielle possède une activité inhibitrice sur toutes les souches testées, la sensibilité la plus élevée a été donnée par *S. aureus* avec un DZI égale à 12.98 mm.

Dans cette perspective, notre travail vise à un objectif principal qui est l'étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles de laurier noble sur les deux souches *E. coli* et *S. aureus* pathogène ce qui revient à déceler les dessous de notre question de recherche « L'huile essentielle du laurier a-t-elle un effet bactéricide ? ».

Au terme de notre étude, il s'est avéré que nos résultats issus des travaux des chercheurs relatifs à notre thème évoqué traduisent que les huiles essentielles ont un effet antibactérien plus ou moins important.

Références bibliographiques

A

Abdel-Moneim I., Aboel-A. (2009). On the taxonomy of *Laurus L.*(*Lauraceae*),evidence from isozymes ,RAPD and ISSR. *Acedemic Journal of Plant Sciences*,2(2):82-91.

AFNOR (1986). Recueil des normes françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris, 57p.

AFNOR ISO 9235 (1997). Aromatic natural raw materials -Vocabulary .32-33pp.

[Internet].2019].Disponiblesur:

<https://www.boutique.afnor.org/resources/extraits/3177581CD.pdf>

AFNOR NF T 75-006 (1998). Matières premières aromatiques d'origine naturelle -Vocabulaire. http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784f10b16654e1ac94b60e3fb.pdf

AFNOR (1999). Huiles essentielles , recueil de norme française AFNOR. Paris. 14p.

NF T 75-006 (1998). Matières premières aromatiques d'origine naturelle -Vocabulaire.10-11pp.

AFNOR (Association Française de Normalisation) (1996). Huiles essentielles, recueil de normes françaises, 5^{ème} Ed.,1, échantillonnage et méthode d'analyse, 2, spécifications, Paris.12p.

AFSSPS (2008). Recommandation relatives aux critères de qualité des huiles essentielles : contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles [en ligne]. (page consultée le 2/4/2019).

Disponible sur :

http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784f10b16654e1ac94b60e3fb.pdf.

Alili Z., Tantar O. (2017). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de laurier noble et du thym à linalol testées individuellement et en combinaison .Mémoire de Master en microbiologie, Université Mouloud- Mammeri.Tizi Ouzou ,19-27pp.

Alzoreky N.S., Nakahava K. (2003). Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80:223-230.

Anton R., Lobstein A., Teuscher E. (2005). Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. Paris: Ed. Technique et Documentaion. 285-289pp.

B

Baba Aissa F., (1991). Les plantes médicinales en Algérie. Coédition Bouchéné et Ad,Diwan. Algérie,29p.

Ballabio R., Goetz P. (2010). Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis L.*, *Laurus azorica* (Seub.) France, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart. *Phytothérapie*,8(2): 141-144.

- Balthazar Mv., Pedersen K.R., Chane P.R., Stasipanoni M., Marie Feris E. (2007).** Potomacanthus Lobatus Gen et SP. NOV, A new flower of probable *Lauraceae* from the early Cretaceous (early to middle Eocene Albian) of eastern North America American Journal of Botany,94 (12): 2051.
- Barla A., Topcu G., Oksuz S., Tumen G., Gl Kingston D. (2007).** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis*. Food Chemistry,104(4):1478-1484.
- Barlier L., (2014).** Etat des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'Angers.(de 2000 à 2013),Université Angers,87p.
- Baser K.H.C., Buchbauer G. (2010).** Citrus oils as chain transfer agents in the cross-metathesis degradation of polybutadiene in block copolymers using Ru-alkylidene catalysts.Natural Science,5(7):8p
- Baudoux D. (2008).** L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles. Ed. Amyris Bruxelles. 256p.
- Bekkali F., Averbek D., Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils-A review.Food and Chemical Toxicology, 46(2):446-475.
- Beloued A. (1998).** Les plantes médicinales d'Algérie. 1^{ère} Ed. Office des Publications Universitaires. Alger, 274p.
- Beloued A. (2001).** Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Ed. OPU, Ben Aknoun, Alger, 100-227pp.
- Beloued A. (2005).** Les plantes médicinales d'Algérie. 3^{ème} Ed. Office des publications universitaires (OPU), Alger, 284p.
- Benamour B. (2009).** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; Texturation par détente instantanée contrôlée(DIC).Thèse de Doctorat en Biothéologie,Université de La Rochelle-France.69p.
- Bernard P., Jarlier V., Santre-Henriksen A. (2008).** Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* responsables d'infections cutanées communautaires. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, 135 (1) : 13-19.
- Berthélémy S. (2016).** L'examen cyto-bactériologique des urines. Actualités Pharmaceutiques France,55 (556) : 57-59.
- Bertrand X., Mueller A., Thouvez M., Talon D. (2004).** Retour vers la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la mécilline (SARM) : relation entre génotype et antibiotype. Pathologie Biologie, 52 (8): 480-485.
- Besombes C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées. Thèse de Doctorat en génie des procédés industriels,Université de la Rochelle.1:285p et 255-264.
- Bey F. (2013).** Etude de l'interaction antagoniste entre *Lactobacillus sp.* et quelques souches d'entérobactérie. Mémoire de Magister en Microbiologie alimentaire, Université d'Oran Es-Senia.144p.
- Bfuneno S.(2011).** Quel cadre juridique pour les huiles essentielles ? [en ligne] (page consultée le 09/12/2019).

Disponible sur:

<http://www.institut-hysope.com/ysop/wp-content/uploads/2011/07/Quelcadre-juridique-pour-les-huiles-essentielles1.pdf>

Bidet P., Bonarcorsi S., Bingen E. (2012). Facteurs de pathogénicité et physiopathologie des *Escherichia coli* extra-intestinaux. UNV, Paris des Diderot. Archives de Pédiatrie, 19(S3) : S80-S92.

Blanchot Th., Muggeo A., Limellette A., Abdelaziz A., Brasme L. (2019). Difficile examen direct par coloration de Gram : à propos d'un cas d'endocardite à *Cardiobacterium hominis* . Annales de Biologie Clinique, 77(5):549-556.

Blair E.B., Emerson J.S. (1967). Milieux de culture déshydraté.DNASE(gélose). American Journal of Clinical Pathology, 47:30-39.

Bonnet R., Caron F., Cavallo JD., Chardon H., Chidiac C., Courvalin P., Drugeon H., L Dubreui L.V. (2012). Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie. Recommandation, 2:15-23.

Botineau M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs.Ed.Technique et Documentation,Lavoisier.35-41pp.

Bouchaale I., Kahalerras A., Zouaoui S. (2015). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie).Mémoire de Master en Biologie Moléculaire et cellulaire,Departement SNV.STU,Université 8 Mai 1945,Guelma,104p.

Boukhatem MN., Ferhat MA., Kameli A., Saidi F., Kebir HT. (2014). Lemon grass, essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. Libyan Journal of Medicine,9:25-31.

Boutabia L., Telailia S., Bouquetof I., Guenadi F., Azzedine. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de *Rosmarinus officinalis L.* de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des sciences de Liège, 85 : 174-189.

Bras S., Mendes-Bastos P., Amaro C. (2015). Allergic contact dermatitis caused by laurel leaf oil.Contact Dermatitis,72(6):417-419 .

Brian-Jaisson F. (2014). Identification et caractérisation des exopolymères de biofilms de bactéries marines.Thèse de Doctorat en Ecologie Microbienne.Université de la Nouvelle-Calédonie, France,110p.

Briot C. (2016). Le laurier noble, plante des héros : aspects historique, botanique et thérapeutique.Thèse de Diplôme d'état en Pharmacie, Université de Lorraine,108p.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International Journal of Food Microbiol, 94:223-253.

Bruneton J.N. (1993). Pharmacognosie phytochimie-plantes médicinales.2^{ème}Ed.Technique et Documentation,Lavoisier,Paris,France.519p.

Bruneton J.N. (1999). Pharmacognosie phytochimie-plantes médicinales.3^{ème}Ed.Technique et Documentation.Lavoisier.584p.

Bruneton J.N. (2009). Pharmacognosie phytochimie-plantes médicinales.4^{ème}Ed.Technique et Documentation.Paris,1268p.

Bruneton J.N. (2016). Pharmacognosie phytochimie-plantes médicinales.5^{ème}Ed.Technique et Documentation,Lavoisier.1504p.

C

Caldefie-Chézet F., Fusillier C., Jarde T., Laroye H., Damez M.,Vasson M-P., Guillot J. (2006). Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes.Phytotherapy Research,20(5):364-370.

Chaaben H., Motri S., Ben Selma MZ. (2015). Etude des propriétés physico-chimiques l'huile de fruit de *Laurus nobilis* et effet de la macération par les fruits et les feuilles de *Laurus nobilis* sur les propriétés. Journal New Science Agrical Biotechnol,8: 873-880.

Chapin K., Musgnug M. (2003). Evaluation of three rapid methods for the direct identification of *Staphylococcus aureus* from positive blood cultures.Journal Internatinal,41(9):4324-4327.

Chaumont J.P., Leger D. (1989). Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisins.Relation structure-activité.Plante Médicinale.Phytomedecine,23(2);124-126.

Chen S.L., Hung Ch-S., Xu J., Christoner S.R., Magrini V. (2006). Identification of genes subject to positive selection in : uropathogenic strains of *Escherichia coli* : a comparative genomics approach. Proceeding of the National Academy of Sciences, 103(15) :5977-5982.

Chibah S., Djouaher F., Haliame F.Z. (2018). Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles *d'eucalyptus*, Laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire de Master en Sciences Biologiques,Université Djilali Bounaama,.146p.

Coimbra J., Ribeiro Rocha Monteiro P., Armanda M., Henriques R. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit *in vitro* ovarian steroidogenesis in the flounder (*Platichthys flesus* L.).Aquatic Toxicology, 48(4):546-559.

Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. Actualité Pharmaceutique, 52(525): 22-25.

D

Da Silva F. (2010). Utilisation des huiles essentielles en Infectiologie ORL : UHP-Université Henri Poincaré.Rapport de stage,150p.

Daurel C., Leclercq R. (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.In: Francophone des Laboratoires, 407:81-90.

De Billerbeck V-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 5(5):249-253.

De Mouy D., Fabre R., Cavallo J-D. (2007). Infections urinaires communautaires de la femme de 15 à 65ans : sensibilité aux antibiotiques de *E. coli* en fonction des antécédents : étude AFORCOPI-BIO.Médecine et Maladies Infectieuses, 37 (9): 594-598.

Demir, T. Gunhan, A.K. Yagcioglu and A. (2014). Mathematical modelling and the determination of some quality parameters of air-dried bay leaves', *Biosystems Engineering*,88(3): 325 - 335.

Demo A., Petrakis Ch., Boskou D. (1998). Nutrient antioxydants in some herbs and mediterranean plant leaves. *Food Research International*,31(5), 351-354.

Djilan A., Deko A. (2012). The therapeutic benefits of essential oils. In : *Nutrition, well-being and health*, 7:178p.

Donnio P-Y., Gaschet A., Cady A. (2010). Actualités du traitement antibiotique des infections à *Staphylococcus aureus*. *Médecine Thérapeutique*,16 (3): 244-251.

Drancourt M. (1998). Outils moléculaires d'identification en bactériologie. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28 (4):380-382.

E

El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Borikv D., Fechtal M. (2003). Composition chimique et activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Botanic Gallica*, 150 (3): 267-274.

Elhamzaoui S.,Benouda A.,Allali F.,Abouqual R.,Elouennass M., (2009). Sensibilités aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aurues* isolées dans deux hopitaux universitaires Rabat, Maroc.*Médecine et Maladies Infecieuses*,39(12):891-895.

Elharas K., Daagare A., Mesifioui A., Ouhssine M. (2013). Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus nobilis* et *Lavandula angustifolia*. *Afrique science. International des Sciences et Technologie*, 9 (2):134-141.

F

Fabre R., Mérens A., Lefebvre F., Epifanoff G., Cerutti F., Pupin H., Tarif D., Cavallo J-D., Ternois I. (2010). Sensibilité aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés d'infections urinaire communautaires. *Médecine et Maladies Infectieuses*,40(10):555-559.

Fabre R., Mérens A., Tabone-Ledan C., Epifanoff G., Cavallo J-D., Ternois I. (2013). *Staphylococcus saprophyticus* isolés d'examens cytobactériologiques urinaires en ville : épidémiologie et sensibilité aux antibiotiques. *Pathologie Biologie*,61(2): 44-48.

Ferrari F., Castilho P., Tomi F., Rodrigue AI. (2005). Direct identification and quantitaive determination of costunolide and dehydrocostuslactone in the fixed oil of *Laurus novocanariensis* by¹³C-NMR spectroscopy.*Phytochemical Analysis*,16(2):130-137.

Festy D.(2004). Mon abécédaire illustré des huiles essentielles : de A à Y, les meilleures huiles essentielles. Paris:Ed. LEDUC, 240 p.

Fontanay S., Mougnot M-E., Duval R.E. (2015). Evaluation des activités antibactérienne des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires.*Hegel*, (2):109-118.

Forsgren A., Sjoquist J. (1966). Protein A from *S.aureus*:I.Pseudo-immune reaction with human y-globulin.*Journal of Immunology*, 97 (6): 822-827.

Franchomme P., Pénoel D.Roger J. (2009). L'aromathérapie exactement-encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements,démonstrations,illustrations et

et application d'une science médicale naturelle..Limoges.Ed.Roger Jollois,490p.

G

Garnier F., Mariani-Kurkdjian P., Nordmann P., Ferroni A., Vu-Thien H., Phillippe JC., Raymond J. (2002). Sensibilités aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* et d'entérocoque isolées en pédiatrie. Médecine et Maladies Infectieuses,32 (8): 432-438.

Garnotel E., Asitier H., Surcouf C., Bavette J., Bouigue A., Alexandre. (2017). Sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolé des infections communitaires : étude AFORCOPI-BIO, . In Francophone des Laboratoires, (496): 66-73.

Giancarlo L. (2013). Etymologia : *Staphylococcus*.Emerging Infectious Diseases.19(9):38-44.

Giordani R., Kaloustian J. (2006). Action anticandidosique des huiles essentielles:Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongique. Phytothérapie, 4:121-124.

Girard R., De Montclos M., Bournaud C., Orgiazzi J. (2006). Dépistage des bactériuries à l'admission chez les patients diabétiques : peut-on abandonner les examens cyto bactériologique urinaires systématiques. Médecine et Maladies Infectieuses, 36 (4):219-222.

Goeb Ph., Pesoni D. (2010). Huiles essentielles : guide utilisation : 170 conseils pratique ,50 huiles essentielles, 10 huiles végétales.Ed.Lssy les Moulineaux Ravintsara,1(1):127p.

Goetz P., Gherdira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse.Ed. Springer,382p.

Gueguen M., Jacquet J. (1982). Etudes sur le caractère culturaux et la morphologie de *Geotrichum candidum* Link. Le lait, 62 (9):625-644.

Guignard J-L. (2001). Botanique -systématique-moléculaire. Ed. Masson.290p.

Guiraud JP. (1998). Microbiologie alimentaire: technique et ingénierie.Série agro alimentaire. Ed. Dunod, Paris, 652p.

Guiraud JP. (2003). Microbiologie alimentaire: technique d'analyse microbiologiques.Ed.Dunod, Paris, 651p.

H

Haddouchi F., Benmansour A., (2008). Huile essentielle, obtentions, utilisations et activité biologique. Application à deux plantes aromatiques. Les Technologies de Laboratoire, 3(8):20-27.

Hajna AA. (1945). Triple sugar iron medium for the identification of the intestinal group of bacteria. Journal of Bacteriology,49:516-517.

Hamouche E., Sarkis DK. (2012). Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* dans un CHU de Beyrouth. Pathologie Biologie, 60 (3):15 -20.

Hamze M., Dabboussi F., Daher W., Izard D. (2003). Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* au nord du Liban : place de la résistance à la méticilline et comparaison des méthodes de détection. Pathologie Biologie,51(1):21-26.

Himed L., Merniz S., Barkat M. (2016). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus limon* (variété Lisbon) extraite par

hydrodistillation. Algerian Journal of Natural Products,4 (1): 252-260.

Hogan D., Kolter L. (2003). Why are bacteria refractory to antimicrobials?. Current Opinion in Microbiology.Pathology Biology,5:472-477.

Huang J., Redman RE. (1995). Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seeding growth.Canadian Journal of Plant Science,75(4):815-819.

I

Idir T., Taleb S. (2018). Préparation des milieux de cultures pour le diagnostic des *Leishmanioses* et étude rétrospective de la prévalence des *Leishmanioses* humaines dans la wilaya de Tizi-Ouzou.Mémoire de Master en Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammeri.53p.

Imam A. (2010). Isolation and structure elucidation of antioxidant compound from leaves of *Laurus nobilis* and *Emex spinous*. Egypt. Drug Discoveries and Therapeutics,4(3):202-207.

Iserin P. (2001). Encyclopédies des plantes médicinales.2^{ème} Ed. Larousse,Londres: 143p et 225-226pp.

ISO 5944 (2001). (fr) - Matières premières aromatiques naturelles - Vocabulaire [Internet].(Page consultée le 2019) Disponible sur : <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:fr>

ISO. ISO 6576:(2004). Laurier (*Laurus nobilis* L.) - Feuilles entières et broyées - Spécifications [en ligne]. (page consultée le 13/01/2019). Disponible sur: http://www.iso.org/iso/fr/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.ht

ISO - 71.100.60. Huiles essentielles [Internet]. Disponible sur:[en ligne].(page consultée le 2019).Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/ics/71.100.60/x/>

ISO – FDIS 6888 - 2. Technique d'analyse Microbiologique [Internet].(page consultée le 2019).Disponible sur <https://www.iso.org/fr/ics/71.100.60/x/> .

Ivan A. (2001). Ross-medicinal plants of the world. Chemical constituents traditional and modern.,United States of America.Medicinal uses-HUMANA PRESS,2:261-264.

J

Janvier F., Mbongo-Kama E., Mérens A., Cavallo J.D. (2008). Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines.In:Francophone des Laboratoires, 406:51-59.

John GHolt. (1993). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ed.Ninth. 816p.

K

Kahouadji L. (2010). Analyse ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques de la flore marocaine : cas de la région de Zaër. Phytothérapie,8(9): 202p.

Kaper J.B., Nataro J.P., Mobley H.L.T. (2004). Photogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology, 2(2):123-140.

Karmamanos AJ., Sotiropoulou DEK. (2013). Field studies of nitrogen application in Greek oregano (*Oreganum vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) Lets waart) essential oil during two cultivation

seasons. *Industrial Crops and Products*, 46:246-252.

Khan A., Zaman G., Andreson R. (2009). Bay leaves improve glucose and lipid profile with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 44(1): 52-56.

Kheyar N., Meridja D. (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerien Journal of Products*, 2(1):18-26.

Kivçak B., Mert T. (2002). Évaluation préliminaire des propriétés cytotoxiques des extraits de feuilles de *Laurus nobilis*. *Actualité pharmaceutique*, 73:242-243.

Klevens M.R., Morrison M.A., Nadle J., Gershman S., Rav S. (2007). Infections invasives à *Staphylococcus aureus* résistant à la methicilline aux Etats-Unis. *JAMA-français*, 298 (15): 1763p.

Kocabas B.B., Attar A., Peksel A., Yapaoz M.A. (2010). Phytosynthesis of CuONPs via *Laurus nobilis* : Determination of antioxidant content, antibacterial activity, and dye decolorization potential. *Biotechnology and applied biochemistry. Journal of Natural Products*, 1(638):125-156.

Kovacs L.G., Ballati P.A., Kroshman H.B. et Pueppke S.G. (1995). Transcription alorganisation and expression of nol XWBTUV.A locus that regulate cultiviar-specific nodulation soybean by rhizobium fredii USDA257. *Molecular Microbiology*, 17:923-933.

Krammer E.B., Farabaugh Ph.J. (2007). The frequency of translational misreading errors in *E. coli* is largely determined by tRNA competition. *Ed.National Directory of Association*, 13(1):87-96.

Kreusch A., Spraggon G., Lee Ch.L., Kloch H., McMullan D., Ken Ng., Tanva. (2003). Structure analysis of peptide deformylases from *Streptococcus pneumonia*, *Thermotoga maritima* and *Pseudomonas aeruginosa* : snapshots of the oxygen. *Journal of Molecular Biology*, 330 (2):309-321.

L

Lahsissene H., Kahouadji M., Tijane M., Hseini S. (2010). Analyse ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques de la flore marocaine : cas de la région de Zaer. *Phytothérapie*, 8:202-209.

Lange RV., Hengge-Aronis R. (1991). Identification of central regulator of stationary-phase gene expression in *Escherichia coli*. *Molecular Microbiology*, 5(1):49-59.

Laurent J. (2017). Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie. Université Paul Sabatier Toulouse 3. 225p.

Leminor L. (1987). Diagnostic de facteurs de pathogénicité des *Escherichia coli*. présent et perspectives. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 17:87-91.

Lehar S.M., Pillow T., Xu M., Staben L., Kajihara K.K., Vandlen R. (2015). Novel antibody-antibiotic conjugate eliminates intracellular *S. aureus*. *Nature*, 5(27): 328-332.

Lemort M-L., Neuville S., Medus M., Gueudet P., Saada M., Aumaitre H., Llecaillon E. (2006). Evaluation comparée de la sensibilité de souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires de patients consultant aux urgences et de patients hospitalisés. *Pathologie Biologie*, 54

(8): 427-430.

Lewandowski Th., Huang J., Fan F., Roaers Sh., Gentry D. (2013). *Staphylococcus aureus* formyl-methionyl transferase mutants demonstrate reduced virulence factor production and pathogenicity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,57(7):2929-2936.

Licitra G. (2013). Etymologia : *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Diseases* 19 (9):1553p.

Lobstein A., Briot C. (2017). Huile essentielle de Laurier noble. *Actualités Pharmaceutiques*, 56 (571):57-60.

Lobstein A., Couic-Marinier F., Briot C. (2017). Huile essentielle de Gaulthérie. *Laboratoire d'Innovation Thérapeutique*, 65(517):57-60.

M

Mabberly D.J. (1997). The plant book de Mabberly. Ed. Combridge University Press, Combridge. 858p.

Marouki H., Khaldi A., Marongiu B., Piras A., Harzallah-Skhiri F. (2011). Chemical polymorphism of essential oils from populations of *Laurus nobilis* grown on Tunisia, Algeria and France. *Natural Product Communication*,6(10):1483-1486.

Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O., Hamammi M., Khedher M. (2006). Sensibilités aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline : détection de premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathologie Biologie*, 54 (1):33-36.

Mattioni S., Verdet C., Gordien E., Steichen O. (2014). Pertinence clinique des examens cytobactériologique des urines (ECBU) réalisés dans un service de médecine interne. In; *Médecine Interne*,35:120-121.

Merghache S., Hamza M., Tabti B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle en, Algérie. *Afrique, science*. In: *Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1):67-81.

Messouadi S. (2008). Les plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Dar Elfikr, Tunisie 14:23-181.

Mokkadem A. (1999). Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatique d'Algérie. In *Vie et Nature*,7: 24-26.

Moran G.J., Krishnadasan A., Gorwitz R.J., Fosheim G.E., Mc Dougal L.K., Carey R.B., Talan DA. (2006). Methicillin-Resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency Department. *New England Journal of Medicine*,355(7):666-674.

Mougeot C., Guillaumat-Tailliet J., Libert JM. (2001). *Staphylococcus aureus* : nouvelle détection de la résistance intrinsèque par la méthode de diffusion. *Pathologie Biologie*,49 (3):199-204.

Muthu Ch., Muniappan A., Nagappan R., et Savarimuthu I. (2006). Plantes médicinales utilisées par les guérisseurs traditionnels dans le district de Kancheepuram du Tamil Nadu, Inde. *Journal d'Ethnobiologie et d'Ethnomédecine*,2(43).200-217.

N

Nataro J.P., Kaper J.B. (1998). Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*,11(1): 142-201

O

Oliveira D., Borges A., Simoes M. (2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*,10(6):252p.

Oliveira K., Brecher S.M., Durbin A., Shapiro D.S., Schwart D.R. (2003). Direct identification of *Staphylococcus aureus* from positive blood culture bottles. *Journal of Clinical Microbiology* ,41 (2):889-891.

OMS. (2002). Médecine traditionnelle..Page consulté (1/02/2019)https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/fr.

Ortega E., Abriouel H., Lucas R., Galvez A. (2010). Multiple roles of *Staphylococcus aureus* enterotoxin : pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. *Toxins*, 2 (8):2117-2131.

Ouafi N., Moghrani H., Benaouda N., Yassaa N., Maachi R. (2017). Feuilles de *Laurier noble* Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif.In: *Des Energies Renouvelables* ,20(1):161-168.

Ouis N. (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctort en chimie organique : Université d’Oran 1.125p.

Ould Yerou K., Meddah B., Tir Toul A. (2015). Etude de l'effet d'huile essentielle de Laurier noble de l'ouest Algérien sur *Salmonella* Spp. *In vitro* et *in vivo*. *European Scientific Journal*,11 (33):8p.

P

Pariente L. (2001). Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques.1^{ère} Ed..Académie Nationale de Pharmacie Louis Pariente.1643p.

Patrakar R. (2012). Cutivons le laurier-sauce (*Laurus nobilis*). *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 1(12), 595-602.

Pech B., Bruneton J. (1982). Alcoloide du Laurier noble, *Laurus nobilis*. *Journal National Products*, 45(5):560-563.

Peleg AY., Monga D., Pillai S., Mylonakis E., Robert C., Moellering Jr. (2009). Reduced susceptibility to vancomycin influences pathogenicity in *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of Infectious Diseases*, 199 (9):532-536.

Perna N.T., Plunkett G., Burland V., Mau B., Glanser J.D. (2001). Genome sequence of entero-haemorrhagic *Escherichia coli*157 : H 7. *Nature* 409:529-533.

Pharmacopée Européenne.(2008). EDQM (Direction européen de la qualité des médicaments et soins de santé). 6^{ème} Ed.

Poirot T. (2016). Bon usage des huiles essentielles, effets indésirable et toxicologie : Université de lorraine.3(98):122-124.

Prescott L.M., Harley A., Donald A. (2003). Microbiologie, De Boeck Université 2^{ème} Edition française. 128 :28-29.

Q

Quzel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, 1170p.

R

Ramet M., Manfrulli P., Pearson A., Mathy-Prevot B., Alan R., Ezekowitz B. (2002). Functional genomic analysis of phagocytosis and identification of a *Drosophila* receptor for *E. coli*. Nature, 416:644-648..

Raynaud J.(2002). La flore du pharmacien .3^{ème}Ed. Technique et Documentation, Paris. 11(6):419-424.

Reiner R. (2010). Les entérobactéries: Bactériologie Médicale et vétérinaire: systématique bactérienne. Doins. Paris, Bilohy and Medicine, 3(2):313-316.

Richter H.G., Werff H.V.D.(1996). Toward and improved classification of *Lauraceae*. Annals of the Missouri Botanical Garden , 83(3). 10p.

Riegel P. (2016). Automatisation de l'identification bactérienne. In: Francophone des Laboratoires (482):39-47.

Roux R., Cartier O. (2007). Conseils en aromathérapie - 2^{ème} Edition. Pro-officina. 189p.

S

Sansonetti P.J. (1987). Facteurs de pathogénicité d'*Escherichia coli*. Médecine et Maladies Infectieuses, 17:11-16.

Sayyah M., Valizadeh J., Kamaline M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole and maximal electroshock-induced seizures. Phytomedicine, 9(3):212-216.

Sehksokh Y., Chadli M., El Hamzaoui SA. (2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. Médecine et Maladies Infectieuses, 38 (6):324-327.

Seu-Saberno M., Blakeway J. (1984). Composition chimique d'huile essentielle. Ed. Partenaire BEED IRD, 83p.

Soltani A., Azzouz S., Rezouga F. (2019). Modélisation mathématique des cinétiques de séchage en couches minces des feuilles de Laurier noble (*Laurus nobilis*). Algerian Journal National Products, 2:1 .18- 26.

Spichiger R-E., Figeat M., Vicent V.S. (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. 821p.

Steven P.F. (2001). Angiosperm phylogeny. American Journal Botany, 94(12):2051p.

T

Takaku S., Haber W.A., Setzer W.N. (2007). Leaf essential oil composition of 10 species of Lauraceae from Monteverde, Costa Rica. Biochemical Systematics and Ecology, 35(8):525-532.

Tchoumboungang F., Pierre Michel J.D., Modeste Lambert S., Edwige G-N.M., TiakoFotso G-b., Paul Henri A.Z, Chantal M. (2008). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1):319-336.

Teissedre P.L., Bernet A. (1994). Intérêt de l'utilisation de chitine, chitosane et de leurs dérivés en œnologie. *OENO on*, 39(4):199-207.

Trividic-Rumeau M., Bouyssou-Gauthier M-L., Mounier M.A., Sparsa M.A., Blaise S., Bédane C., J-M. (2003). Etude prospective comparative de la morbidité des *Staphylococcus aureus* et multirésistants dans les plaies chroniques. *Annales de dermatologie et de Vénérologie*, 130(6):601-605.

W

Watson L., Dallwitz M.J. (1992). The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval (Version: 20 Mai 2010). Agiosperm Families. <http://delta-intkey.com>

Wichtl M., Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique - (2^{ème} Edition) Technique et Documentation, 692p.

Williams J.D. (1997). Rapport du comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie. *Clinical Microbiology and Infection*, 3(3):390p.

Z

Zhiri A., Baudoux D. (2005). Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies : aromathérapie scientifique. Luxembourg .Ed. Inspir Development, 88p.

L'huile essentielle extraite des feuilles est d'aspect liquide mobile limpide, de couleur jaune très pâle à jaune, d'odeur aromatique, épicée, Sa particularité se présente sous forme de propriétés anti-dégénérative, antibactérienne remarquables.

Le principal composant de l'huile de laurier est le 1,8-Cinéole, un éther de monoterpènes cycliques. Ce composé est populairement connu comme eucalyptol. Les cineoles, possédant des activités biologiques importantes (surtout pour le traitement des maladies des voies respiratoires). Ils sont volatils, symétriques monoterpéniques, et des éthers cycliques.

Principaux constituants : (FRANCHOMME P, PENOEL D., 2001)

Oxyde monoterpénique : 1,8-cinéole (35 à 60 %)

Carbures monoterpéniques : α et β -pinène (9 à 12 %), sabinène (8 à 10%)

Alcools monoterpéniques : linalol (8 à 16%) ; α -terpinéol (2 à 6%) ; terpinène 1-ol4 (2 à 4%)

Esters monoterpéniques : acétate de terpényle (9 à 12%)

Eugénol : (2 à 3%)

Allylpropénylphénol : méthyl eugénol (3 à 6%)

Lactones sesquiterpéniques : costunolide (1 à 2%)

Principales propriétés : (FRANCHOMME P, PENOEL D., 2001)

1. Antibactérienne, antivirale, antifongique, antiparasitaire
2. Spasmolytique +++
3. Expectorant +++, mucolytique
4. Anti-inflammatoire, analgésique +++
5. Anticoagulante

Principales indications : (FRANCHOMME P., PENOEL D., R. Jollois., 2001)

1. Infections pulmonaires (rhume, sinusite, rhinite, bronchite aux toux) +
2. Infections intestinales
3. Grippe+++

4. Dermatose (acné, dermatites...)
5. Douleurs dentaires et de gencives +++ L'eugénol, contenu dans l'HE de girofle, est un spécifique bien connu des algies dentaires. Moins connue, l'huile essentielle extraite des feuilles de laurier noble présente une activité plus grande encore, et apparemment liée à la présence de dérivés de ce phénol tout à fait particulier (tout à la fois phénol, et phénol méthyl-éther).
6. Mycoses (candidoses diverses...)
7. Douleurs articulaires (rhumatismes, arthrose...) ++
8. Traumatologie (coups, contractures musculaires...)
9. Digestive et carminative

Modes d'utilisation (FRANCHOMME P., PENOEL D., R. Jollois., 2001)

1. La voie orale est la voie préférentielle pour cette HE, mais ne pas l'utiliser pure.
2. La voie cutanée doit être utilisée diluée dans une HV.
3. La diffusion de cette HE n'est pas conseillée.

Quelques applications :

b. Aphtes, gingivites : (Adultes)

2 applications en local, 2 fois par jour, seul ou en association avec de l'Arbre à thé.

c. Gastro-entérite « turista » : (Adulte)

1 goutte de Laurier noble et 1 goutte d'Origan compact sur un support le plus tôt possible. Renouveler si nécessaire maximum 3 fois par jour pendant 2 à 3 jours.

Précautions d'emploi

Potentiellement allergisant notamment par voie cutanée, ne pas utiliser en continu plus de 15 jours d'affilée, respecter des fenêtres thérapeutiques.

Coques à Gram Positif		
Morphologie	Genre	Espèces
En amas	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylocoque à coagulase négative</i>
En chaînette	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptocoque bêta hémolytique :</i> <i>Groupe A pyogenes</i> <i>Groupe B agalactiae</i> <i>Autres groupes : C, G, F ...</i> <i>Streptocoques alpha hémolytiques :</i> <i>mutans, oralis, sanguis, salivarius, complexe milleri</i> <i>(anginosus, constellatis, intermedius)</i>
En diplocoque	<i>Streptococcus</i>	<i>pneumoniae</i>
En courtes chaînette	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> <i>faecium</i>
Coques à Gram Négatif		
Morphologie	Genre	Espèces
En diplocoque	<i>Neisseria</i>	<i>meningitidis</i> <i>gonorrhoeae</i>
Bacille à Gram Négatif		
Morphologie	Famille	Genre et Espèces
Bacille à Coloration bipolaire	<i>Enterobactériaceae</i>	<i>Escherichia coli (colibacille)</i> <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Enterobacter</i> <i>Proteus</i> <i>Serratia</i> <i>Providencia</i> <i>Morganella</i> <i>Salmonella (typhimurium)</i> <i>Shigella (sonnei)</i> <i>Yersinia (enterocolitica)</i>
Cocco bacilles		<i>Brucella melitensis</i> <i>Haemophilus (influenzae)</i> <i>Moraxella (catarrhalis)</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Bordetella pertussis</i> <i>Legionella pneumoniae</i> <i>Kingella</i>
Bacilles aérobies stricts	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa (bacille pyocyanique)</i> <i>Autres (Burkholderia – Stenotrophomonas ..)</i> <i>Acinetobacter baumannii</i>
Vibrions	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Autres Vibrions</i> <i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>

Bacille à Gram Positif		
Morphologie	Genre	Espèces
Petits	<i>Listéria</i>	<i>monocytogenes</i>
	<i>Erysipelothryx</i>	<i>rhusiopathiae</i> : bacille du rouget du porc
	<i>Corynebacterium</i>	<i>diphtheriae</i> : bacille de Loeffler Autres : <i>coryneformes</i>
Grands	<i>Bacillus</i>	<i>Anthraxis</i> : bacille du charbon Autres
	<i>Nocardia</i>	

Bactéries de Forme spiralée		
Morphologie	Genre	Espèces
	<i>Treponema</i>	<i>pallidum</i> (agent de la syphilis)
	<i>Leptospira</i>	<i>icterohémorragiae</i> (Leptosirose)
	<i>Borrelia</i>	<i>Recurrentis</i> / <i>burgdorferi</i> (Fièvres récurrentes – Maladie de Lyme)
	<i>Spirillum</i>	<i>minus</i> (Sodoku)

Mycoplasmes		
Morphologie	Genre	Espèces
Sans paroi	<i>Mycoplasma</i>	<i>pneumoniae</i> <i>hominis</i> Autres
	<i>Ureaplasma</i>	<i>urealyticum</i>

Bactéries intracellulaires		
Morphologie	Genre	Espèces
Très petite taille	<i>Chlamydia</i>	<i>trachomatis</i> <i>psittaci</i> <i>pneumoniae</i>
	<i>Rickettsia</i>	<i>conorii</i> Autres

Mycobactéries		
Morphologie	Genre	Espèces
Bacilles alcool-acido-résistants	<i>Mycobacterium</i>	<i>Tuberculosis</i> : bacille de Koch (BK) <i>bovis</i> «atypiques» BCG <i>Leprie</i> : bacille de Hansen

Bactéries Anaérobies strictes		
Morphologie	Genre	Espèces
Coques à Gram positif	<i>Peptostreptococcus</i>	
Coques à Gram négatif	<i>Veillonella</i>	
Bacilles à Gram positif	<i>Clostridium</i> <i>Actinomyces</i> <i>Peptococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>tetani</i> , <i>perfringens</i> , <i>botulinum</i> , <i>difficile</i> <i>acnes</i>
	Bacilles à Gram négatif	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Eubacterium</i>

ANNEXE III

Composition des milieux de culture

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire les exigences nutritives du micro-organisme étudié ce qui implique :

- couvrir les besoins en ions minéraux, en facteurs de croissance, apporter la source de carbone et d'énergie.
- présenter un PH voisin du PH optimal.
- présenter une force ionique optimale (le milieu peut être isotonique mais ce n'est pas obligatoire).

Milieux solides

- Les milieux solides sont obtenus à partir de milieux liquides, auxquels on ajoute un gélifiant : le plus souvent de l'agar ou de la gélose.
- Parmi ces milieux, certains sont coulés en boîtes de Pétri ou en tube avec une teneur en gélose d'environ 15 g/L, alors que les géloses molles ou semi-solides, ont une teneur de 3 à 5 g/L et présentent une consistance intermédiaire.

Milieux liquides

- Ces milieux sont la plupart du temps des bouillons nutritifs ordinaires. Ils ont trois composants principaux : les peptones, les extraits de viandes et les extraits de levures.
- Les peptones sont des hydrolysats enzymatiques de protéines animales ou végétales riches en acides aminés et en peptides.
- Les extraits de viandes apportent des sels minéraux, des vitamines, des protéines peu dégradées et des glucides.
- Les extraits de levure eux représentent une source d'acides aminés et des vitamines hydrosolubles.

❖ **Gélose Nutritive (ISO., 2013)**

La gélose nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Composée par :

Peptone _____	05g
Extrait de bœuf _____	03g
Chlorure de sodium _____	05g
Agar _____	15g
pH = 7.3 ± 0.2	

Préparation : 23 g de GN + 1000 ml d'eau distillée.

❖ **Gélose Chapman (Meyer et al., 2004)**

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif semi-synthétique, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance et l'isolement des germes halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol, parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif.

Composé par :

Peptone _____	10g
Extrait de viande de bœuf _____	01g
Chlorure de sodium _____	75g
Mannitol _____	10g
Rouge de phénol _____	0.025g
Agar agar _____	15g
Eau distillé _____	1000ml
PH=7.4	

Préparation : 111 g de Chapman + 1000 ml d'eau distillée.

❖ **Gélose Mueller – Hinton (Mueller et Hinton, 1941)**

Eau distillée _____	1000ml
Macération de viande de bœuf _____	0.300ml
Hydrolysate caséine _____	17,5g
Amidon _____	1,5g
Agar _____	10 g
pH = 7,4	

Préparation : 38 g de MH + 1000 ml d'eau distillée.

❖ Gélose Mac-Conky (Becton Dickinson., 2014)

La BD MacConkey II Agar (gélose MacConkey II) est un milieu différentiel sélectif servant à l'isolement et à la différenciation des Enterobacteriaceae et de nombreux autres bâtonnets Gram-négatifs issus d'échantillons cliniques.

C'est l'un des premiers milieux de ce type a été développé par MacConkey et documenté en **1900** et **1905**. L'élaboration de cette préparation s'est appuyée sur deux données fondamentales : la précipitation des sels biliaires par les acides et la fermentation du lactose par certains microorganismes entériques exclusifs. Par la suite, ce milieu a été modifié à diverses reprises. Ce milieu est recommandé pour les échantillons cliniques susceptibles de contenir un mélange de flores microbiennes : échantillons d'urine, respiratoires, prélevés sur des plaies, etc. En effet, il permet d'effectuer un groupement préliminaire des bactéries entériques et d'autres bactéries Gram-négatives dans les fermentants et non-fermentants du lactose.

Composition :

Digestion pancréatique de gélatine _____	17,0 g
Digestion pancréatique de caséine _____	1,5g
Digestion peptique de tissu animal _____	1,5g
Lactose _____	10g
Sels biliaires _____	1,5g
Chlorure de sodium _____	05g
Rouge neutre _____	0,03g
Cristal violet _____	0,001g
Gélose _____	13,5g
pH=7.1± 0,2	

Préparation : ... g de MC + 1000 ml d'eau distillée.

❖ Gélose Baird-Parker (AFNOR., 2012)

La gélose Baird-Parker est recommandée pour la recherche et la numération des staphylocoques coagulase positive. Son utilisation est recommandée par la pharmacopée européenne et américaine et pour la recherche de *Staphylococcus aureus* dans des aliments (**méthode AFNOR**).

Composée par :

Peptone pancréatique de caséine _____	10 g
Extrait de viande de bœuf _____	05 g
Chlorure de lithium _____	12 g
Extrait de levure _____	01g
Glycine _____	10g
Pyruvate de sodium _____	10g
Agar _____	20g
PH = 7.0 ± 0.2	

Préparation : 63 g de BP + 1000 ml d'eau distillée.

❖ **Citrate de Simmons (GuyLERYAL, Jean-Noel JOFFIN)**

Est un milieu de culture utilisant le citrate comme seule source de carbone.

Composée par :

Citrate de sodium _____	01g
Bleu de bomothymol _____	0,08g
Chlorure de sodium _____	5,0g
Sulfate de magnésium _____	0,2 g
Hydrogénophosphate de potassium _____	01g
Dihydrogénophosphate d'ammonium _____	01g
Agar-agar _____	15 g
pH=	6.9

Préparation : 23g de CS + 1000 ml d'eau distillée.

❖ **Viande Foie (Arial Provost, 2020)**

Est un milieu de culture pour la détermination de type respiratoire des micro-organismes, mais aussi pour la culture des germes anaérobies stricts tel que les clostridium.

Composée par :

Base viande foie _____	30g
Glucose _____	02g
Agar _____	06g
pH =	7.4

Préparation : 38g de VF + 1000 ml d'eau distillée.

❖ **Le Triple Sugar Iron (HAJNA A. A, 1945)**

Est un milieu utilisé pour l'identification des entérobactéries. Il permet de voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate.

Composée par :

Extrait de viande _____	03g
Extrait de levure _____	03g
Pepton _____	20g
Chlorure de sodium _____	05g
Lactose _____	10g
Saccharose _____	10g
Agar _____	11g
Glucose _____	01g
Sulfate ferreux ammoniacal _____	300mg
Rouge de phénol _____	24mg
Thiosulfate de sodium anhydre _____	300mg
pH =	7,4 ±2

Préparation : 63.5g de TSI + 1000 ml d'eau distillée.

❖ **ADN ase ou DNA ase**

La gélose à l'acide désoxyribonucléique (A.D.N), est un milieu destiné a la mise en évidence de la désoxyribonucléase des bactéries (principalement celle des (staphylococcus).

Composée par :

Hydrolysats tryptique de caséine _____	20g
Acide désoxyribonucléase _____	02g
Chlorure de sodium _____	05g
Agar _____	12g
pH=	7,3 ± 0,2

Préparation : 39g de DNA ase + 1000 ml d'eau distillée.

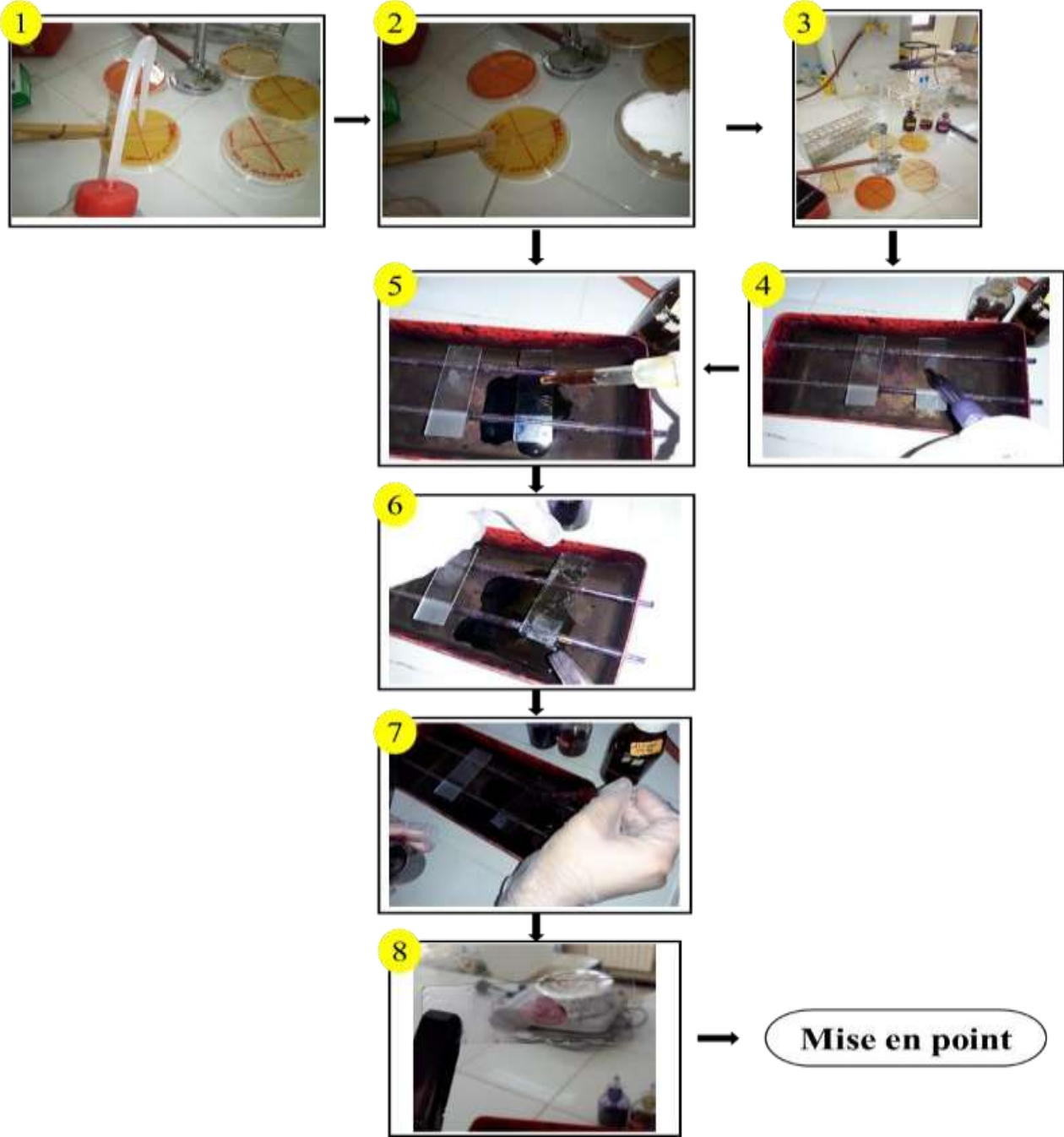
❖ **Le bouillon BHIB ou Le bouillon Cœur cervelle (ISO 6888 QranuCult)**

Le bouillon Cœur cervelle ou le BHI (Brain Heart Infusion) broth est un milieu riche utilisé pour la culture des germes exigeant. Son utilisation est recommandée pour le dénombrement de Staphylococcus aureus dans les aliments.

Extrait de cœur _____	05g
Extrait de cervelle _____	12.5g
Peptone _____	10g
Glucose _____	02g
Chlorure de sodium _____	05g
Phosphate de sodium _____	2,5g
pH =	7,2± 0,4

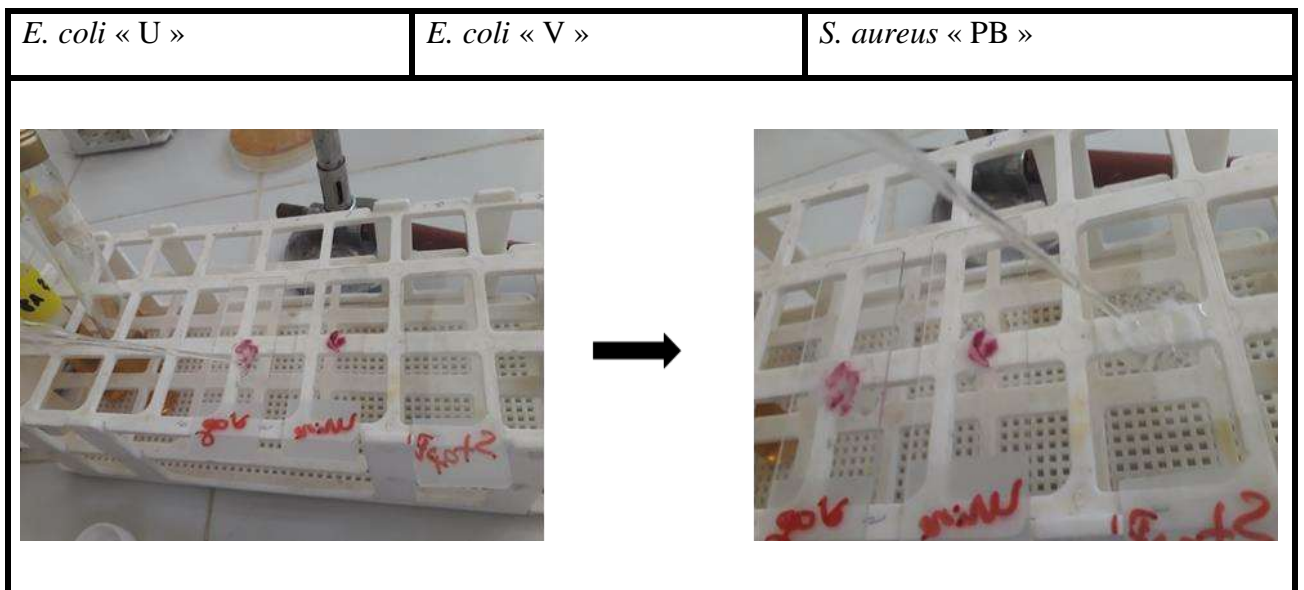
Préparation : 337g de DNA ase + 1000 ml d'eau distillée.

N.B : tous les milieux ont été met à autoclave à 120 °C pendant 15 min

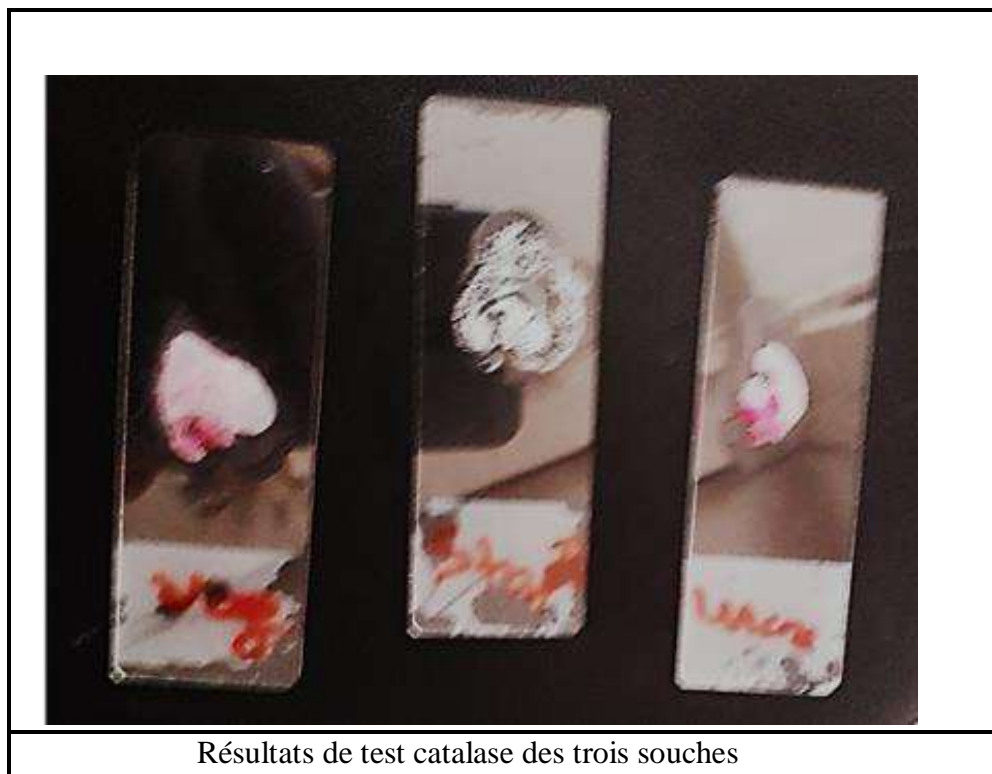


ANNEXE V

Test catalase



« U » : prélèvement à partir des urines « V » : prélèvement vaginal « PB » : prélèvement de la plaie buccale



ANNEXE VI Test oxydase



Résultats de test oxydase des trois souches (photo originale, le 09-07-2020)

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de laurier noble dans la région de Tiaret, vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli* / *Staphylococcus aureus*). Cette activité a été effectuée par la technique de diffusion sur milieu gélosé ou l'Aromatogramme.

Les résultats obtenus montrent que le rendement en huile essentielle des feuilles extraites par hydrodistillation atteint 0.83%, À propos de l'effet antibactérien, les zones d'inhibition d'huile essentielle est plus remarquer chez les *Staphylococcus aureus* avec un diamètre attend 12,98 mm, alors que le diamètre de la DZI chez l'*Escherichia coli* égale à 8.92 mm.

Les mots clés :

Laurier Noble

Les huiles essentielles

Activité antibactérienne

Hydrodistillation

Aromatogramme

ملخص

يعتبر هذا العمل جزء من دراسة تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي العطري المستخلصة من ورق الغار أو ما يسمى بورق الرند (لورييس نوبليس) في منطقة تيارت. إذ تعتمد طريقة استخلاص الزيوت الأساسية العطرية على تقنية التصوير العطري والتي تم اختبارها على مجموعة من البكتيريا المسببة للأمراض، في حين بلغ مردود الزيت العطري 0.3%.

من خلال الدراسة الميكروبيولوجية، بلغت مناطق تثبيط الزيوت العطرية بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية أكبر مما

88... مم عالية مقارنة بالإشريكية القولونية التي كانت حوالي 8... مم

الكلمات الدالة

النشاط المضاد للبكتيريا

الزيوت العطرية الأساسية

ورق الغار

التقطير المائي

التصوير العطري

