



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

Mlle. Ikhlef Karima et Mlle. Mahmoudi Ratiba

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie fondamentale

THÈME

**Effet antimicrobiens de l'extrait Hydroéthanoliques
de *Laurus nobilis L.* sur la croissance de *Stapylococcus aureus.***

Soutenu le 2021/10/06

DEVANT LE JURY :

Président:	M AIT SAADA Djamal	MCA	U. Mostaganem
Encadreur :	Mme AIT CHABANE Ouiza	MCB	U. Mostaganem
Examineur:	M BAKADA Ahmed Mohamed Ali	Professeur	C.U. Tissemsilt
Invitée :	Mlle. FEKNOUS Ines	Doctorante	U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie et au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition sise à la faculté SNV-Université de Mostaganem.

Année universitaire 2020 /: 2021

Remerciements :

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience d'achever ce modeste mémoire de fin d'études de master en microbiologie.

J'exprime tout d'abord mes profonds remerciements et ma sincère reconnaissance à Madame **AITCHABANE Ouiza** maitre de conférences classe B à l'Université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem pour son encadrement agréable, son soutien moral, ses fructueux conseils, ses explications et ses encouragements afin de mener à bien cette étude.

Nous exprimons notre science gratitude a Monsieur **AIT SAADA** maitre conférence classe A à l'université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem d'avoir accepté de présider le jury.

Nos sincères remerciements s'adressent également à Monsieur **BEKADA A** professeur au centre universitaire de Tissemsilt et Mlle **FEKNIUS Ines** Doctorante au département d'agronomie de l'université de Mostaganem d'avoir accepté d'examiner ce travail ; vos conseils et orientations seront très bénéfiques et peuvent sans doute enrichir davantage cette thématique de recherche entreprise dans le cadre de notre mémoire de master.

On remercie, enfin, toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin concrètement ou par simple signe d'encouragements afin d'aboutir ce modeste travail en l'occurrence les techniciens et techniciennes de laboratoire

Abréviations :

CMB : Concentration Minimale Bactéricide.

MF : Concentration Minimale Fongicide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DO : Densité optique.

MO: Matière organique.

P < 0.05 : Probabilité au seuil de 5 %.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

UFC : Unité formant Clonie.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

Liste des tableaux :

Tableau 1. Position systématique du <i>Laurier noble</i>	05
Tableau 2. Dénomination internationale de <i>Laurus nobilis</i> L.	05
Tableau 03. Autres espèces du laurier noble (<i>Laurus nobilis</i>).	07
Tableau 04. Récoltes et préparation d'espèce de <i>laurier noble</i> (<i>Laurus nobilis</i>).	14
Tableau 05. Effets antimicrobiens de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Tableau 06. Effet antimicrobiens de l'extrait hydro éthanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur les variations des diamètres d'inhibition et sur les taux d'inhibition chez <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Tableau 07. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Tableau 08. Action inhibitrice de l'extrait hydro-éthanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i>	26

Liste des figures :

Figure 01. Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L	04
Figure 02. Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i>	06
Figure 03. Couques de <i>Staphylococcus aureus</i> disposées en grappes de raisins ; micrographie électronique à balayage.....	11
Figure 04 . Photographie original de la feuille de laurus nobilis.	14
Figure 05. Méthode d'activation de la souche bactérienne.	16
Figure 06. Méthode de contact direct.....	17
Figure 07. Méthode des disques par diffusion sur milieu de Muller Hinton.....	19
Figure 08. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).	21
Figure 09. Principales étapes de la détermination de la CMB.....	22
Figure 10. Effets antimicrobiens de la solution sans extrait hydro-éthanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Figure 11. Effets antimicrobiens des solutions d'extrait hydro- éthanolique de <i>Laurus nobilis</i> L., sur les variations des diamètres d'inhibitions chez <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Figure 12. Action inhibitrice des solutions d'extrait de <i>Laurus noblis</i> L., sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	26

Résumé :

L'étude expérimentale a porté sur l'évaluation des effets antimicrobiens de l'extrait hydroéthanoliques de *Laurus nobilis* L., récolté dans la forêt de Mostaganem à l'ouest d'Algérie sur un germe responsable de toxiinfection alimentaire et de contamination nosocomiale à savoir le *Staphylococcus aureus*. L'extrait de laurier noble a été obtenu par macération d'une prise du végétal dans de l'éthanol aqueux, suivi d'une filtration et d'une évaporation du filtrat. L'extrait pur a été ensuite concentré à l'eau distillée à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. L'effet antimicrobien de l'extrait de *Laurus nobilis* L., a été testé sur une souche de référence (ATCC 29213) de *Staphylococcus aureus*. Les mesures ont concerné : le test de croissance, le test de diffusion sur disque, la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide.

Les solutions d'extrait de *Laurus nobilis* L ont engendré des fortes activités antimicrobiennes chez de *Staphylococcus aureus*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide ont été réalisées chez cette espèce microbienne à 20% d'extrait hydroéthanolique de la plante étudiée (*Laurus nobilis* L). L'extrait de laurier a montré une action de type bactéricide vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : Extrait, éthanolique, *Laurus nobilis* L, *Staphylococcus aureus*, antimicrobien, hydroéthanolique.

Abstract:

The experimental study is devoted to the evaluation of the antimicrobial effects of the hydromethanolic solvent extract of laurel (*Laurus nobilis*) collected in the region of mostaganemAlgeria on *Staphylococcus aureus*, a pathogenic microorganisms responsible for food poisoning. The bay leaf extract was obtained by maceration of an intake of the plant in aqueous methanol, followed by filtration and evaporation of the filtrate. The extract was concentrated in 0, 20, 40, 60, 80 and 100% distilled water. The antimicrobial effect of bay leaf extract was tested on a reference strain (ATCC 33862) of *S. aureus*. The measurements concerned: the growth test, the disk diffusion test, the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration. Solutions of *Laurus nobilis* extract produced strong antimicrobial activities against *S. aureus*. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (CMB) were obtained with hydromethanolic extract of laurel prepared at 40%. This extract showed a bactericidal type action in *Staphylococcus aureus* and an antilicrobial efficacy close to 61.9% of gentamicin

Key words: *Laurus nobilis* L., *Staphylococcus aureus*, hydro methanolic extract, antibacterial

Table des matières

Remerciements.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Résumé.

Introduction 01

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur le *Laurus nobilis* L.

Origine de *Laurus nobilis* 03

Historique 03

Répartition géographique de *Laurus nobilis* L 03

Position systématique de laurier noble 04

Détermination internationale 05

Description botanique 05

Autres espèce de Laurier 06

Composition chimique06

Utilisation traditionnelles..... 07

Activités biologique de *Laurus nobilis*08

Chapitre 02 : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

Définition 09

Historique 10

Classification 11

Habita et colonisation 12

Partie II : Méthodologie

1 . Objectifs..... 13

2 . Région de prélèvement de l'échantillon de <i>Laurus nobilis</i>	13
3. Matériel.....	14
4. Extraction des composés bioactifs de <i>Laurus nobile</i>	15
5. Etude des effets antimicrobiens des extraits de <i>Laurus nobilis</i>	16
5.1. Activation de l'inoculum microbien	16
5.2. Méthode de contact direct	17
5.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose	18
5.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI	19
5.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide CMB	21
5.6. Calcul statistique	21

Partie 03 : Résultats et Discussion

1. Résultats	22
1.1 Test de croissance	22
1.2. Diamètres et taux d'inhibitions	23
1.3. Concentration minimale inhibitrice (CMI)	24
1-4 Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	25
1-5. Type d'inhibition	26
2. Discussion	28
Conclusion générale	33

Références Bibliographiques

Annexes

Introduction :

Introduction :

Les plantes médicinales ont une importance capitale pour la santé et la survie de l'homme. Elles renferment une part importante de composés bioactifs qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme (**Hartmann, 2007**). Les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de ces plantes sont bien connues depuis longtemps. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ainsi, un grand nombre de plantes aromatiques et d'épices possédant des propriétés biologiques très importantes trouvent de nos jours plusieurs applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture (**Bahorun et al., 1994**).

Le *Laurus nobilis L.*, est l'un des arbustes appartenant à la famille des *Lauracée* très utilisée dans l'industries de l'aromatization, en parfumerie, pour la conservation des denrées alimentaires, en cosmétiques et en pharmacologie grâce à ses divers effets antimicrobiens et antioxydants. Il pousse dans les lieux humides ombragés (**Iserin, 2001**), ses feuilles comportent plusieurs composants chimiques tels que les composés phénoliques dont (**Bruneton 1999, Demir et al., 2004**). et les polysaccharides (mucilage, pectine) (**Beloued, 2005**).

L'objectif de ce mémoire vise en particulier à suivre l'effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* riche en composés phénoliques vis-à-vis du germe *Staphylococcus aureus* responsable en Algérie de plusieurs toxiinfections alimentaires et des principaux contaminations nosocomiales hospitalières.

Le manuscrit comporte ;

Une première partie bibliographique ou nous avons aborder succinctement les différentes connaissances sur le *Laurus nobilis L.* et la pathogénicité du germe *Staphylococcus aureus*.

- Une deuxième partie, retraçant le protocole expérimental et les méthodes utilisées dans cette étude.
- La dernière partie a été consacrée à la discussion des résultats obtenus et les différentes perspectives de recherche développement à entreprendre dans le futur.

Partie 01 :

Etude ***bibliographique***

Chapitre I :

Généralité sur le Laurus nobilis L.



Chapitre I : Généralité sur le *Laurus nobilis* L.

1. Origine :

Laurus nobilis L appartient à la famille des *lauriers* (*Lauracées*) qui comprend 32 genres et une gamme de 24,00 à 25,00 espèces (**Saima, 2019**), ce nom latin est d'origine celte qui veut dire « toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante (**Pariente, 2001**). Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecs et romain (**Ould Yerou et al., 2015**). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**OuldYerou et al., 2015**).

2. Historique :

Dans les temps anciens, la plante nommée « *Daphné* » a été définie comme *L nobilis* par Goodyear en 1655. Un membre sempervirent naturel à croissance lente, de la région méditerranéenne et largement cultivé en Europe, en Asie, en Afrique du Nord et aux États-Unis comme plante ornementale (**Nehir et al., Sedef 2014 ; Alejo-Armijo et al., 2017**). Il est cultivé commercialement pour ses feuilles aromatiques en Turquie, Algérie, Maroc, Portugal, Espagne, Italie, France et Mexique. En Algérie. Les principaux pays producteurs sont la Turquie, qui produit deux tiers du commerce mondial, l'Albanie, le Maroc ainsi que la Grèce et l'Italie (**Geerts et al., 2002**).

L'arbuste de *laurier* pousse à l'état sauvage dans la région du Tel. Il est cultivé localement sous le nom de « *rend* » (**Bendjarsia et al., 2016 ; Maatallah et al., 2016**).

3. Répartition géographique :

Laurus nobilis L est la seule espèce des lauracées dans la région méditerranéenne d'où pour la production commerciale dans beaucoup de pays tels que l'Algérie, la Turquie, la plante est largement cultivée comme plante ornementale et France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis (**Goudjil et al., 2016**).

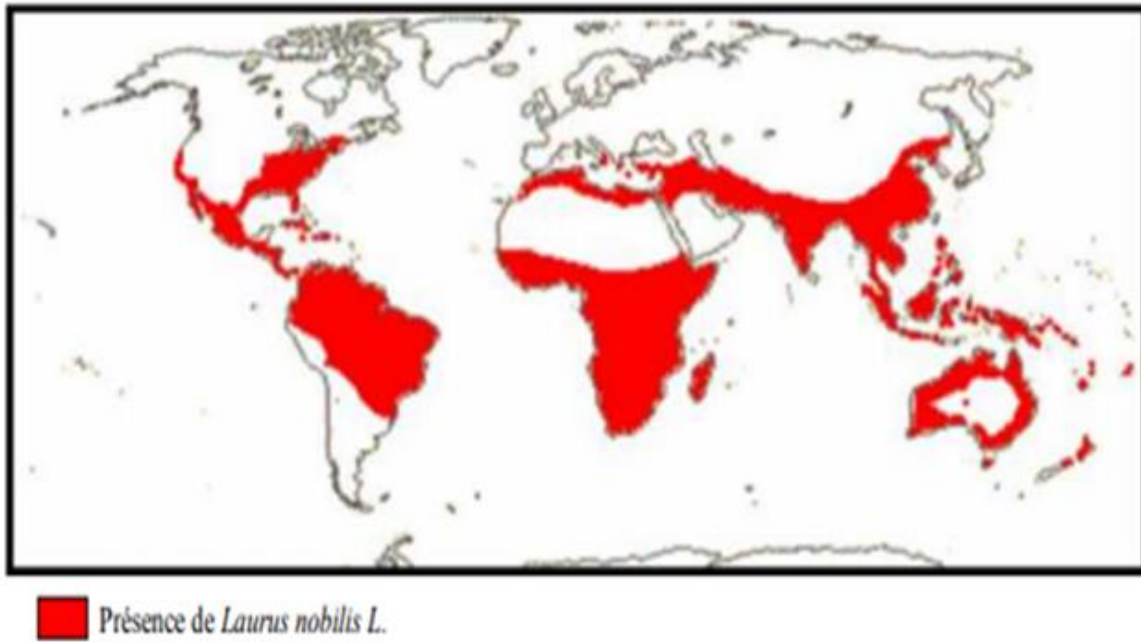


Figure 01. Répartition géographique de *Laruns nobilis* L. (Goudjil et al., 2016).

La famille des *Lauracées* est composée d'arbres et arbustes aromatiques à feuilles persistantes pour la plupart des espèces (Steven, 2001).

04. Position systématique :

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure regroupée dans le tableau 1 selon (Patrakar et al. 2012) est la suivante :

Tableau 01. Position systématique du *laurier noble* (Patrikar et al., 2012).

Règne	Végétale
Sous règne	Plante vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Décotylédones
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Nobilis</i>

5. Dénomination vernaculaire internationale :

La dénomination vernaculaire de *Laurus nobilis* L. figure dans le **tableau 2**.

Tableau 2. Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L. (Anton, 2005; Ballabio, 2010).

Français	Laurier d'Apollon ; Laurier commun ; Laurier franc ; Laurier noble .
Allemand	Lorbeersamen ; lorbeer .
Italien	Olio di alloro
Portugais	<u>Louro</u>
Arabe	Rand, habb r'ar
Anglais	Laural oil; Sweet bay ; bay tree ;roman Laural ; noble Laural.
Nom targui ou berbère	Taselt ; rend

6. Description botanique :

La famille des *lauracées* comprend près de 2500 – 3000 espèces regroupées en environ 52 genres. Cette famille est presque présente dans toutes les parties du monde, avec une forte concentration dans les zones subtropicales et dans les régions tempérées. Et parmi ces espèces le *laurier noble* (*Laurus nobilis* L.) (Babbaïssa et al., 2000).

Arbre pouvant atteindre 15 m de haut mais généralement taillé en arbris-sceau pour en faciliter la récolte ; a l'écorce lisse et noire et au feuillage persistant.

Les feuilles sont alternés, allongées a lancéolées, d'environ 10 cm de long sur 3 a 5 cm de large. Elles se terminent en pointe des 2 cotés et sont courtement pétiolées, leur limbe est coriace, glabre, entier souvent légèrement ondulé et épaissi sur les bords , recourbé vers l'intérieur, d'un vert foncé et luisant a leur partie supérieures plus pale en dessous. Le limbe est parcourus de nervures pennées et saillantes.

Les fleurs vert blanchâtre sont groupées a l'aisselle des feuilles en petite bouquets en forme d'ombelles azillaires ou en courts panicules elles sont enformées dans un involucre formé de bractées caduques a 4 dents. Les fleurs males possèdent généralement 8 a 12

étamines dont la plupart sont stériles ; elles portent en leur centre une glande nectarifères dépourvue de pied. Leurs anthère s'ouvrent par 2 pores munis chacun d'un clapet droit. Les fleurs femelles portent 4 staminodes (Figure 02) (Beloude, 2005).



Figure 02. Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued, 2005).

7. Autres espèce de Laurier :

L'espèce se subdivise en plusieurs variétés qui se différencient selon la forme des feuilles et la taille des fruits; leurs usages culinaires sont cependant strictement non identiques (tableau 03) (Anton, 2005).

Tableau 03. Autres espèces du laurier noble (*Laurus nobilis*) (Anton, 2005).

Nom vernaculaire	Non scientifique	Famille
Laurier- amande	<i>Prunus laurocerasus</i> L	Rosacées
Laurier-benzoin	<i>Linder benzoin</i> L	Lauracées
Laurier-cerise	<i>Prunus laurocerasus</i> L	Rosacées
Laurie r- d'Alexandrie	<i>Danae racmasa</i>	Liliacées
Laurier- californie	<i>Umbellularia californisa</i>	Lauracées
Laurier des bois	<i>Daphnolaureola</i> L	Thyméléacées
Laurier des Iroquois	<i>Sassafras albidum</i>	Lauracées
Laurier du portugale	<i>Prunus lusitanica</i> L	Rosacées
Laurier rose	<i>Nerium oleander</i> L	Apocynacées
Laurier-tin	<i>Viburnum tinus</i> L	Caprifoliacées
Laurier sassafras	<i>Sassafras officinalis</i> Nees	Lauracées

8. Composition chimique :

Les feuilles du Laurier sont riches en :

Huiles essentielles elles représentent 1 à 3 % du poids sec dont: 30 à 70 % de cinéol, 3% d'eugénol, ainsi que plusieurs d'autres composés terpéniques (linalol, géraniol, pinène, terpinène).

Polyphénols : Plusieurs flavonoïdes et dérivés ont été déterminés dans les extraits du laurier comme des flavonoïdes O-glycosides ou C-glycoside, l'acide caféique, la catéchine, les cinnamtannin et certains dérivés du kaempférol.

Alcaloïdes aporphiniques : comme la cryptodorine ou l'actinodaphnine.

Lactones sesquiterpéniques: comme costunolide et zaluzanine D (**Derwich et al., 2009; Flamini et al., 2007**).

Selon une recherche faite par **Beloued et al (2003)** les feuilles de *Laurus nobilis* L. contiennent du tanin, un principe amer , du mucilage , des matières résineuses et pectiques ,et une essence aromatique incolore ou jaune pâle , à saveur chaude , constituée par un mélange de 45% de cinéol, de methylchavicol, de pinène, d'eugénol, de géraniol, de Linalol, d'éthers des acides acétiques iso butyrique et valérianiques.

9. Utilisations traditionnelles :

L. nobilis est une plante d'importance industrielle, utilisée dans les aliments, les médicaments et les produits cosmétiques. *Le laurier* est utilisé depuis des années en médecine populaire, en plus de ses diverses activités pharmacologiques, notamment les propriétés antibactériens, anti oxydantes, anticancéreuses, insecticides et antifongiques (**Bendjersia et al., 2016**).

Leurs feuilles séchées et l'huile essentielle (HE) de laurier sont utilisées comme épice et agent aromatisant précieux dans l'industrie culinaire et alimentaire (**Muñiz et al., 2013**), sont traditionnellement utilisés par voie orale pour traiter les symptômes de problèmes gastro-intestinaux, tels que ballonnements et flatulences épigastriques (**Qnais et al., 2012**) et sont utilisés comme phytothérapie contre un certain nombre de maladies telles que, entorses, indigestion , maux d'oreille et améliore la transpiration (**Fang et al., 2005**). Les

feuilles ont été utilisées également dans la médecine populaire iranienne pour traiter l'épilepsie, la névralgie et le parkinsonisme (**Caputo et al, 2017**). L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine populaire turque comme anti-hémorroïdaire, antirhumatismal, diurétique, comme un antidote contre les morsures de serpent, pour le traitement des maux d'estomac et diurétique. Récemment, il est utilisé dans le traitement de diabète et prévention de la migraine (**Oussama et al. 2018**). L'HE de feuilles de *laurier* est largement utilisé dans le parfume industries du savon (**Caputo et al. 2017**).

10. Activités biologiques de *Laurus nobilis* :

La feuille de laurier a de nombreuses activités biologiques telles que l'activité cicatrisante, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne, l'activité antivirale, l'activité immunostimulante, l'activité anticholinergique, l'activité antifongique, l'activité insectifuge, l'activité anticonvulsivante, l'activité antimutagène et l'activité analgésique et anti-inflammatoire (**Saima, 2019**).

L'HE de Laurier possède une notable activité anti-infectieuse à cause de sa forte concentration en 1,8-cinéole associé notamment à l'eugénol ou son méthyl (**Demir et al., 2004 ; Taban et al.,2018**).

Les oxydes terpéniques comme le 1,8-cinéole contenus dans cette HE stimulent 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 (**Lobstein et al., 2017**).

L'HE de *Laurus nobilis* a une capacité d'inhiber l' α -glycosidase intestinale (à plus de 90% à la concentration de 7.5 μ L/ml, par inhibition compétitive) ; donc peut être mise à profit pour réguler la glycémie (**Khan, 2009**).

Les oxydes terpéniques comme le 1,8-cinéole contenus dans cette HE stimulent 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 (**Lobstein et al., 2017**).

L'HE de Laurier noble est également capable de stimuler l'immunité. Le 1,8-cinéole a démontré, lors d'expériences, son caractère immunostimulant en augmentant les γ -globulines et les β -globulines (**Lobstein et al., 2017**).

L'HE de Laurier noble possède une activité répulsive significative sur *Culex pipiens* : jusqu'à 83 % de répulsion à 315 secondes d'exposition pour une dose de 10 μ L (**Mediouni et al., 2012**).

L'HE de Laurier noble a montré une action antiproliférative sur des cellules rencontrées dans la leucémie myéloïde chronique (LMC). Par ailleurs, elle permet d'obtenir une synergie d'action antitumorale lorsqu'elle est associée aux chimiothérapies à base de cytarabine (Saab A. et al. 2012), un impact significatif est observé sur une lignée de cellules tumorales mammaires (**Al-Kalaldeh et al., 2010**).

Chapitre II :

Généralités sur Staphylococcus aureus



Chapitre II : Généralités sur Staphylococcus aureus

1. Définition :

Les *staphylocoques* sont des cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5 μ de diamètre; ce n'est qu'au cours de la lyse ou de la dégénérescence (veilles cellules), que parfois les cellules perdent leur affinité tinctoriale et peuvent devenir à Gram variable (**El Kour, 2003**) Ainsi, ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudo capsule (**Couture, 1990**). Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" (**Fauchere, 2002**). Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en générale de 3 à 5 éléments) (**Couture, 1990**).

Il a été nommé ainsi en raison de la production de caroténoïde donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (**Licitera, 2013**). Ce genre comprend des coques à Gram positif de 0,8 à 1 micromètre de diamètre (**Prescott et al., 2003**). Peuvent être observées isolées, en paires ou en tétrades, le plus souvent ce sont des amas ressemblant à des grappes de raisins (**Prescott et al., 2003**). Les *staphylocoques* sont non-mobiles, ne forment pas de spores et sont généralement anaérobies facultatifs (**Sneath, 1986**). La croissance de *S. aureus* sur milieu ordinaire est facile entre 10 et 45 °C. Sur une gélose profonde en tube, les bactéries cultivent tout au long du tube donc le caractère aéro-anaérobie facultatif est confirmé. Après 24h d'incubation, il peut se développer sur géloses trypticase-soja supplémentées ou non en sang. Les colonies observées sont alors lisses, opaques, convexes et rondes (à bord net). Leur diamètre est compris entre 1 et 3 mm et elles peuvent être pigmentées. Cette coloration a d'ailleurs donné le nom d' « aureus » à *S. aureus* car la pigmentation est souvent de couleur or (jaune à jaune orangée), C'est un germe halotolérant, capable de pousser sur des milieux riche en Na Cl et thermo tolérant a un certain degré. Ces caractéristiques jouent un rôle important dans la pathogénicité de ces bactéries (**Cohen, 1972 ; Tortora et al., 2003 ; Sneath, 1986 ; Hardy, 2004**).

:

Les *S. aureus* possèdent une coagulase, une désoxyribonucléase une activité catalase positive et peuvent fermenter le mannitol.



Figure 03 .Coques de *Staphylococcus aureus* disposées en grappes de raisins ; micrographie électronique à balayage (Gx100) (Willy et al. 2010).

2-Historique :

Le *staphylocoque* fut découvert à la fin du XIX^{ème} siècle, grâce à l'apparition du microscope. Il fût d'abord observé dans du pus sous la forme de grains en amas par Robert Koch, puis Louis Pasteur (Le Noir et al., 2009). Le nom de genre *Staphylococcus* provient de l'aspect en microscopie de la bactérie : du grec *staphyle* = grappe de raisin et *Kok Kos* = baies.

En 1881, Alexander Ogston, un chirurgien écossais, démontra son rôle infectieux Il parvint cultiver la bactérie dans des œufs de poules et à réinfecter des animaux à partir d'abcès postopératoires. En 1884, Anton Rodenbach isola deux types de *staphylocoques* dont *Staphylococcus aureus* qu'il nomma ainsi en raison de sa couleur jaune d'or et qu'il opposa au *Staphylococcus album* renommé depuis *Staphylococcus epidermidis* (Newsom et al., 2008). La grande plasticité du génome de *Staphylococcus aureus* est associée à la constante évolution des caractéristiques épidémiologiques, des clones de *S. aureus* responsables

:

d'infections chez l'homme. Schématiquement, chaque décennie amène l'émergence de nouveaux clones. Ainsi avant les années 40, les souches de *Saures* étaient sensibles à la pénicilline G, dix années après 90% étaient sécrétrices de β -lactames. En 1960, la première souche de *S.aureus* résistante à la méticilline (SARM) est apparue en Angleterre, puis les SARM se sont répandus de façon épidémique dans les hôpitaux à partir des années 70, pour devenir vers 1980 multi-résistants aux antibiotiques et pandémiques. Les années 90 ont vu la description des souches de SARM de sensibilité diminuée aux glycopeptides . Aux alentours des années 2000 , les SARM n'ont plus été limités au secteur hospitalier (**Oliveira et al., 2002**) .

3-Classification :

Selon la 9ème édition du **Bergey's Manuel**, *les staphylocoques* sont Classés parmi bactéries à Gram positif pauvres en GC, l'introduction de techniques génomiques en 1976 a Synthèse bibliographique 6 permis la vérification de certaines classifications tout en engendrant de nombreuses modifications , amenant progressivement à la taxonomie actuelle (**Hill, 1981**).

Domaine : *Bactérie ou Eubactérie.*

Phylum XIII : *Fimicutes.*

Classe : *Bacilli.*

Ordre : *Bacillales.*

Familles : *Staphylococcaceae.*

Genre : *Staphylococcus.*

Espèce : *Staphylococcus aureus.*

4- Habitat et colonisation :

S. aureus est un germe ubiquitaire, commensal de la peau et des muqueuses mais sa niche écologique dominante est la partie antérieure du nez (**Kluytmans et al. 1997**). On les trouve

:

chez les animaux à sang chaud. Ils peuvent également survivre sur des surfaces inanimées telles que la literie, les vêtements, et les poignées de portes (**Freeman, 2006**). Chez l'homme, les *staphylocoques* font partie de la flore résidante cutanée qui joue un rôle dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constitue une barrière contre l'implantation des bactéries de la flore transitoire (**Eveillard et al, 2007**). Les fosses nasales antérieures constituent avec les zones humides de la peau comme les aisselles et le périnée, un site de portage préférentiel de cette bactérie (**Vincenot et al, 2008**). La fréquence du portage cutané dépend du portage nasal (**Nguyen et al. 2006**). La transmission interhumaine est le plus souvent manu portée (**Dumitrescu et al, 2008**), ou même par les aérosols émis par des patients atteints de pneumopathie (**Freeman et al, 2006**).

Partie 02 :

Méthodologie

Partie 2 : Méthodologie.

1. Objectifs :

L'étude a pour but de démontrer l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-éthanoïque des feuilles de *Laurus nobilis* L. sur la croissance de *Staphylococcus aureus* responsable d'intoxication alimentaire chez l'Homme.

2. Région de prélèvement des échantillons de *Laurus nobilis* :

L'étude a été réalisée sur les feuilles de *Laurus nobilis* L. récoltées à la fin du mois de Mai au niveau de la wilaya de Mostaganem.

Les feuilles fraîches de *Laurus nobilis* L., ont été séchées pendant une semaine, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Les particules ainsi obtenues après broyage ont été tamisées à l'aide d'un tamis d'un diamètre de 125µm pour récupérer à la fin une poudre homogène qui a été transportée immédiatement au laboratoire en vue d'utilisations et d'analyses ultérieures.

L'identification de la plante a été basée sur l'aspect morphologique des feuilles de *Laurus nobilis* L., en comparaison aux données figurant dans les ouvrages de Bruneton (2001) et Stursa (2001).





Non vernaculaire	Non scientifiques	Lieu et date de récolte	Aspect de la plante au niveau de la station de prélèvement	Etat frais	Etat sec	Etat poudre
Laurier noble	<i>Laurus nobilis</i> L.	-Forêt Ouilis- Mostaganem. -Fin du mois de Mai.				

Figure 04. Photographie originale des feuilles fraîches et sèches de *Laurus nobilis* L. récoltées à Mostaganem

3. Matériel et produits chimiques utilisés :

Dans la présente étude le matériel et produits chimiques utilisés sont comme suit :

Milieus de Cultures	Verrerie	Appareil	Autres matériels
-Gélose Muller Hinton. -Gélose nutritif. -Bouillon nutritif. -Milieu Chapman. -Eau physiologie. -Eau distillée stérile. -Ethanol -Extrait de <i>Laurus nobilis</i> L.	-Bécher. -Boites Petri. -Entonnoir. -Erlenmeyer. -Flacons. -Fioles. -Tubes à essais. -Verre de montre Agitateur.	-Autoclave. -Balance. -Etuve. -Bain marie. -Rota-vapor. -Plaque chauffante. -Spectrophotomètre.	-Aluminium. -Anse à platine. -Bec bensen. -Disque en papiers stérile (6 mm) -Papier wattman n°3. -Papier filtre stérile.

4. Extraction des composés bioactifs:

L'extraction des principaux composés bioactifs a été effectuée uniquement sur les feuilles de la plante objet de l'étude le *Laurus nobilis* L.

L'extraction a été réalisée par usage d'un solvant polaire à savoir l'éthanol. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillon de 30 g de matière végétale broyée. L'échantillon de poudre de feuilles de *Laurus nobilis* L., a été mélangé avec 300 ml de solvant aqueux (240/60, solvant / eau, v / v). L'extraction a été laissée se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorise ainsi la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permet une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs. La solution trouble d'extrait hydro-alcooliques a été ensuite filtrée en utilisant un papier filtre Wattman ayant une porosité de 0,2µm et débarrassé du solvant par

évaporation sous vide à 45 °C (Sultana et al., 2009). L'extrait pur riche en composés phénoliques récupéré a été enfin dilué à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement. Le effet antimicrobien de ces solutions expérimentales ont été enfin testées sur un germe pathogène de référence (ATCC 29213) à savoir le *Staphylococcus aureus*.

5. Etude des effets antimicrobiens de l'extrait de *Laurus nobilis* L. :

5.1. Activation de l'inoculum microbien

L'effet antimicrobien a porté sur une souche pure de référence et spécifique à savoir *Staphylococcus aureus* (ATCC : 29213). Cette espèce et tout d'abord activée avant son utilisation expérimentale. Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4°C est au préalable ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. 0,1 ml de cette dernière solution constituant l'inoculum bactérien a été pris pour être ensemencée en surface d'une boîte de Pétri contenant un milieu spécifique gélosé de croissance pour cette espèce microbienne milieu gélosé Chapman puis le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures.

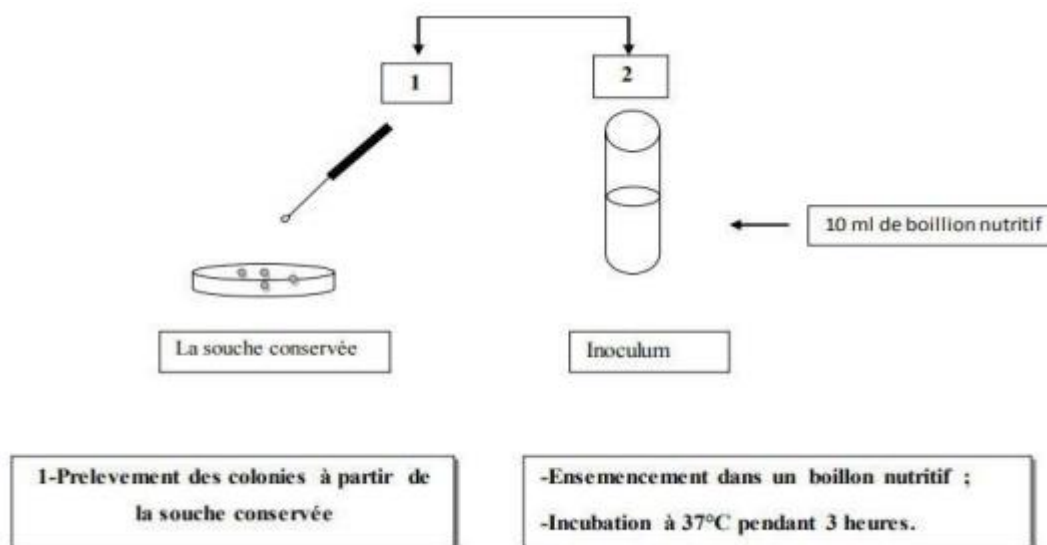


Figure 05. Méthode d'Activation de la souche bactérienne étudiée

5.2. Méthode de contact direct :

Une colonie issue d'une culture jeune de l'espèce microbienne *S. aureus* activée comme préalablement sur milieu solide Chapman spécifique a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, et ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif, suivi d'une

incubation à 37°C durant 03 heures. A partir de cette dernière solution constituant la solution mère des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant jusqu'à 10^{-4} ont été effectuée pour l'espèce bactérienne étudiée. Des prélèvements de 01 ml de la dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque extrait de *Laurus nobilis* dilué à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100% (**Figure 06**). Les mélanges des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.1 ml sur le milieu spécifique Chapman de croissance de l'espèce microbienne testée. La lecture du nombre de colonies développé a été effectuée après incubation des milieuxensemencés à 37°C pendant 48 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

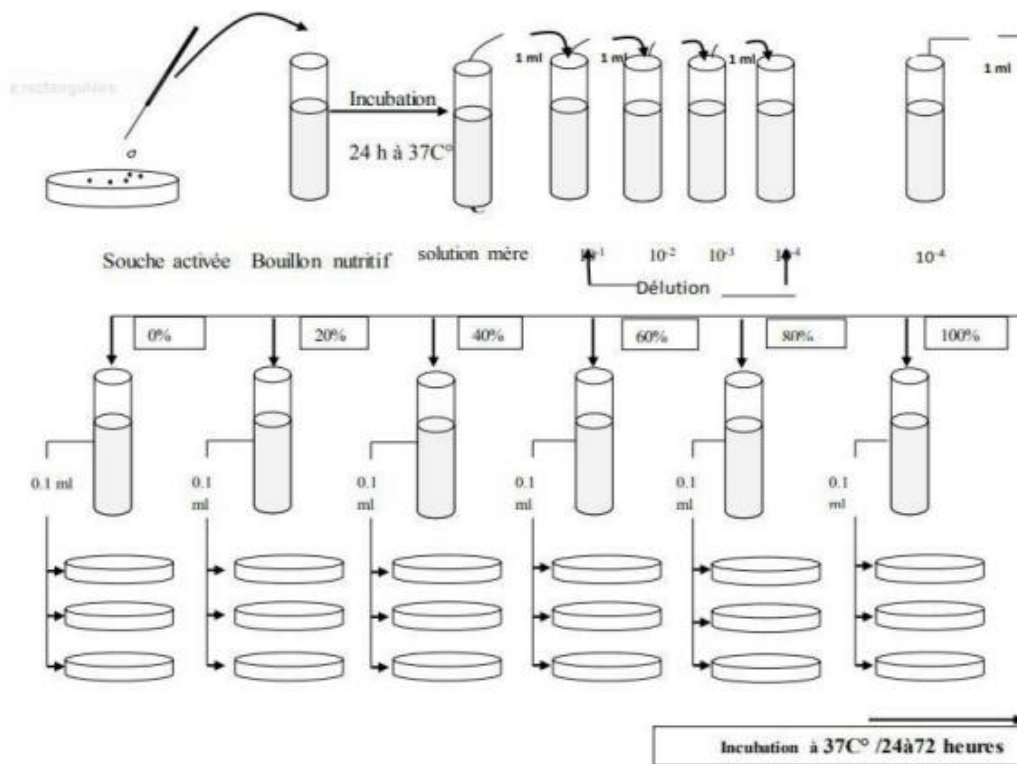
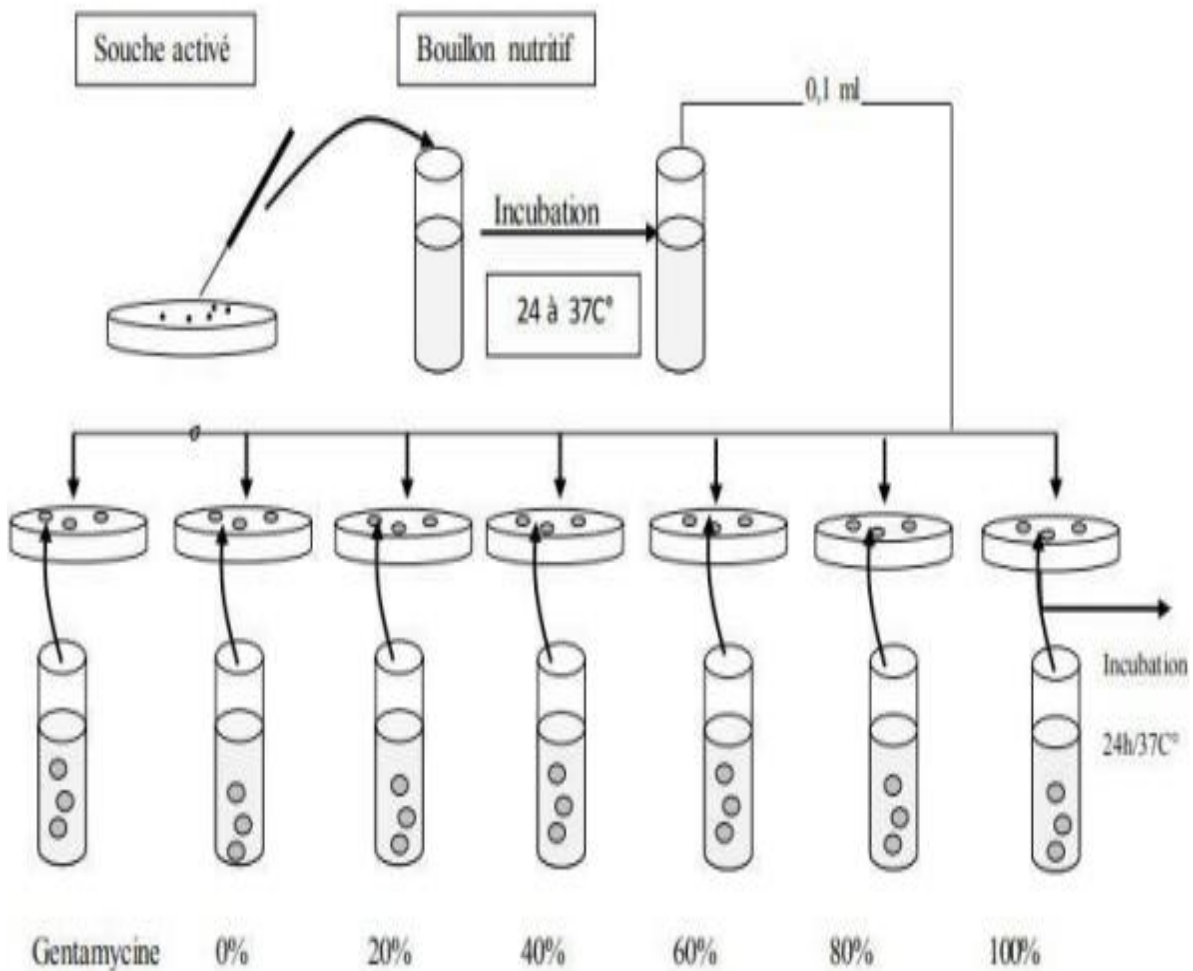


Figure 06. Méthode de contact direct

5.3 Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Wattman n° 3), à raison de 6mm de diamètre. Pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Une colonie de l'espèce pathogène prélevée du milieu gélosé spécifique de culture après activation a été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif ; ce mélange a constitué la solution mère. Des prises de volume de 0.4 ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boîtes de Pétri contenant le milieu MH. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque solution d'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* L., ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamycine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boîte de Pétri contenant le milieu gélosé MH et ensemencé au germe pathogène étudié (**Figure 07**) (**Prescott et al., 2003**). La lecture des diamètres d'inhibition a été effectuée à l'aide d'un pied à colis après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 heures (**Guignar, 1998**).



*

Figure 07. Méthode des disques par diffusion sur milieu de Muller Hinton.

5.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La concentration minimal inhibitrice est la plus petite concentration en antibiotique, en antifongique et /ou en principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (Denis et al., 2011). Dans le cas de notre étude, c'est les principes composés bioactifs de l'extrait de *Laurus nobilis* L., obtenus par extraction à l'éthanol aqueux qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez l'espèce *Staphylococcus aureus*. Ainsi, une colonie jeune de *S.aureus* prélevée à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif et incubée pendant 03 heures à 37°C a été effectuée en vue d'obtenir l'inoculum bactérien. Des prises de 0,2 ml de l'inoculum bactérien ont été ensuite introduites respectivement dans 2 ml de chaque solution d'extrait hydroéthanolique de laurier dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton (Figure 08). Les mélanges ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures (Moroh et al. 2008). La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI a été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspondra donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité. Par conséquent c'est le premier tube où la valeur di sera égale à df (di = df). Le taux de survie du microorganisme sera mesuré au spectrophotomètre réglé à 650 nm comme suit :

$$s = \frac{df - di}{Df - Di} \times 100.$$

- S : Taux de survie du microorganisme en %.

-df-di : Différence de densité optique dans la solution d'extrait phénolique de *Laurus nobilis* L.,ensemencée au germe étudié, avant et après incubation à 37°C durant 24 heures.

-Df-Di : différence de densité optique dans la solution d'eau physiologique stérile sans extrait *Laurus nobilis* L.,ensemencée au germe étudié , avant et après incubation à 37°C durant 24 heures (Kra et al., 2001 ; Zrihiet al., 2007).

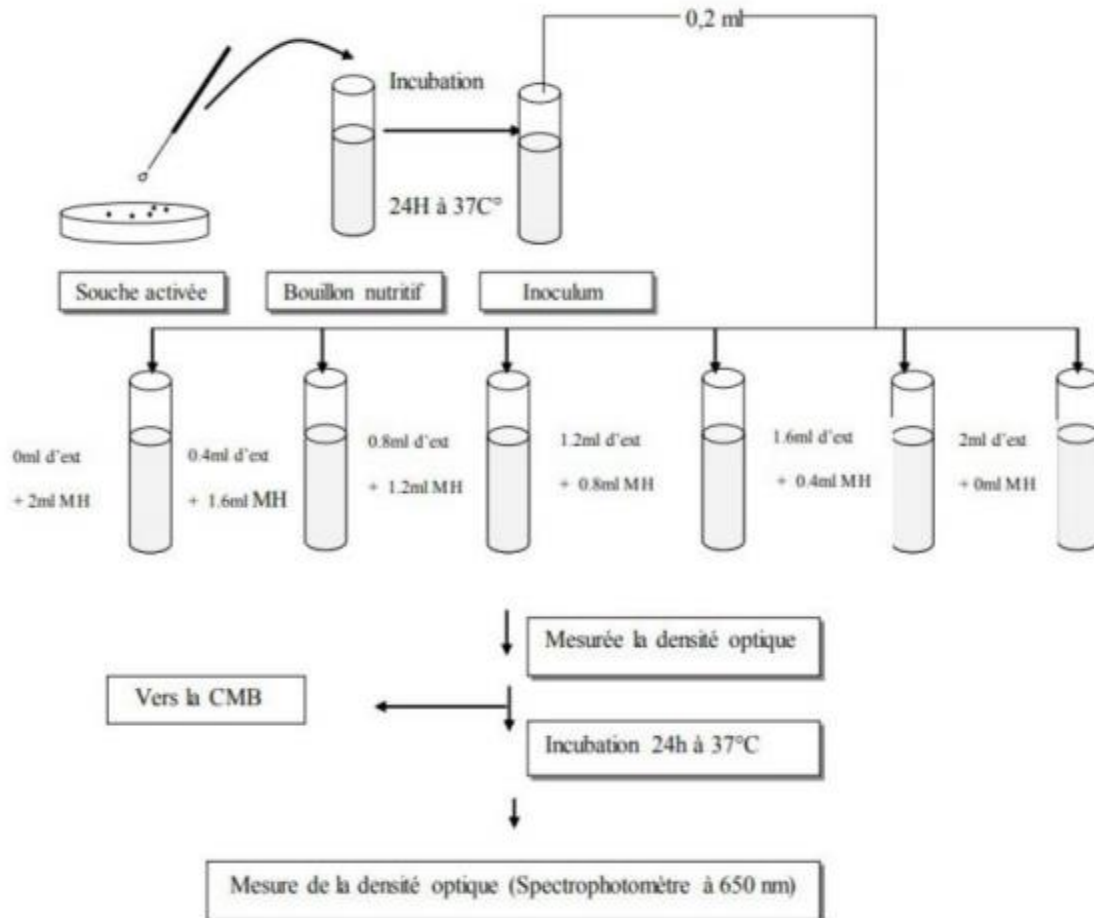


Figure 08. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

5.5 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) :

La concentration minimale bactéricide d'une espèce étudiée représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (Moroh et al., 2008). Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10^{-4} a été comparé à celui de chaque tube expérimental contenant une solution d'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* et l'inoculum microbien préparé comme préalablement lors de la détermination de la CMI et également ensemencé sur le même milieu de culture MH en strie de 5cm et incubé à 37 °C durant 18 à 24 heures. Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10^{-4} correspondra à la CMB (Figure 09).

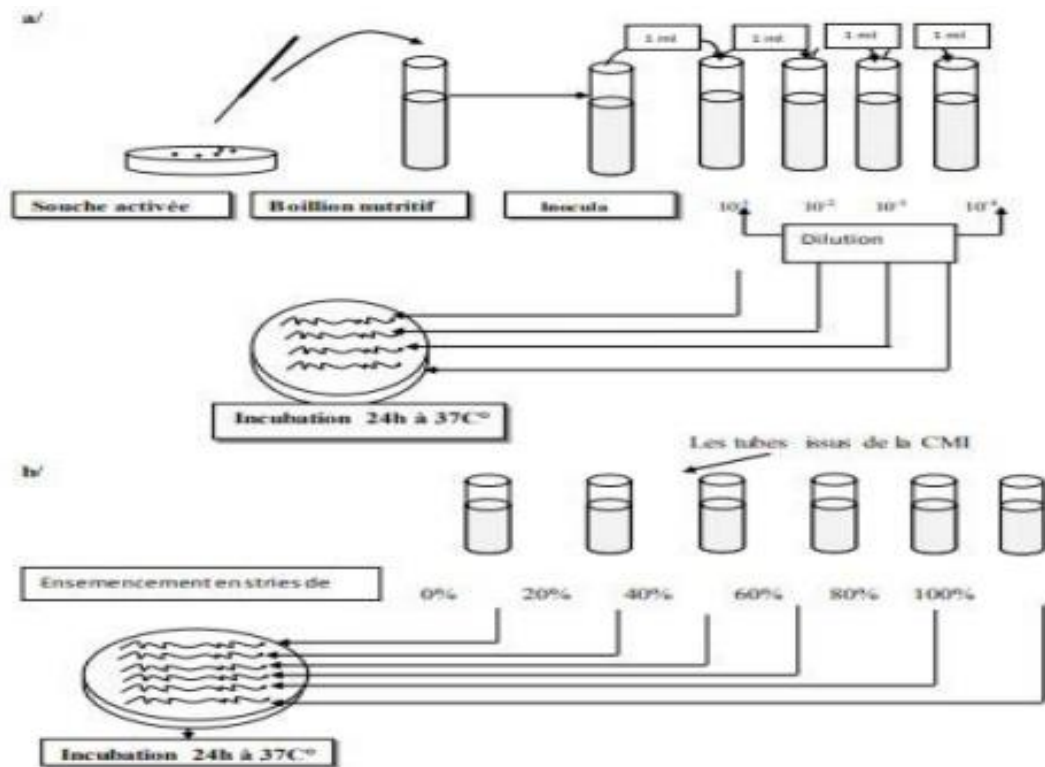


Figure 09. Principales étapes de détermination de la CMB.

6. Calcul statistique :

Le logiciel utilisé dans le traitement des données expérimentales est le Stat box 6.4. Les résultats obtenus ont subi une analyse de variance mono factorielle en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls. Les groupes homogènes de comparaison des moyennes ont été révélés aux deux seuils de probabilité : à $p < 0.05$ et à $p < 0.01$.

Partie 03:

Résultats et Discussion

Partie 03: Résultats et Discussion

1. Résultats :

1.1 Test de croissance :

Le test de croissance du germe *Staphylococcus aureus* sur milieu spécifique Chapman a montré une prolifération importante des germes en absence d'extrait de *Laurus nobilis* ($297 \cdot 10^3$ UFC/ ml).

En revanche, aucune croissance de *Staphylococcus aureus* n'a été observée en présence d'extrait de la plante étudiée même à une faible concentration de 20 % (**Figure 10 et Tableau 6**)

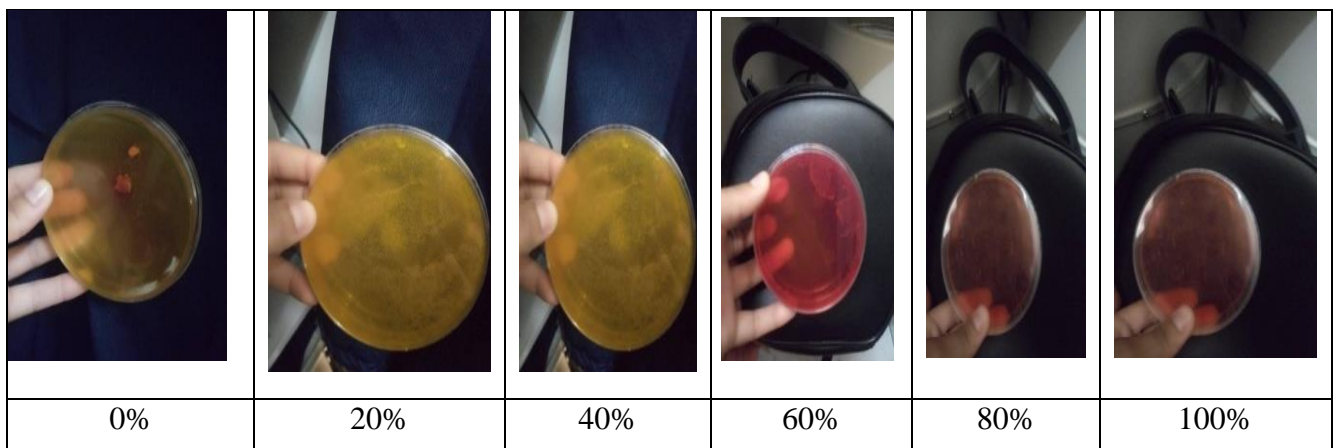


Figure 10. Effets antimicrobiens de la solution sans extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* chez *Staphylococcus aureus*.

Tableau 06. Effets antimicrobiens des solutions d'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Mesures	Concentrations d'extrait de <i>Laurus nobilis</i> L.						Effet des concentrations d'extrait de <i>Laurus nobilis</i> L.
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
Test de croissance (UFC/ ml)	29710^3	0	0	0	0	0	$P > 0.05$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes avec un nombre de répétitions n=3 ; $P > 0.05$: Effet non significatif du facteur étudié (taux d'extrait hydroéthanolique) ; a ; b ; c...ETC. : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon les tests de Newman et Keuls.

1.2. Diamètres et taux d'inhibition :

Le meilleur diamètre d'inhibition vis-à-vis du germe *Staphylococcus aureus* a été obtenu par l'entremise de la gentamicine ; 21.33 mm, en moyenne.

Par ailleurs, les solutions d'extrait de *Laurus nobilis* préparées a 60, 80 et 100 % ont accusé des diamètres d'inhibition très intéressants et relativement ($P<0.05$) proches de l'antibiotique contrôle ; 17.83, 16.67 et 15.33 mm, en moyenne, successivement.

Enfin, les faibles diamètres d'inhibition du germe étudié ($P<0.05$) ont été enregistrés avec les solutions d'extrait concentrées à 20 et 40% ; 12,67 et 12,67mm, respectivement.

Ainsi, les faibles taux d'inhibitions des germes *Staphylococcus aureus* ont été enregistrés a 20 et 40 % d'extrait ; alors que les forts taux d'inhibitions comparativement a la gentamicine ont été remarqués à des taux d'extrait bien plus élevés de 60, 80 et 100% ; 71.89 à 83.61 %, en moyenne (Tableau 7 et Figure 11).

Tableau 7. Effets antimicrobiens des solutions d'extrait hydro- éthanolique de *Laurus nobilis* L., sur les variations des diamètres d'inhibitions et les taux d'inhibitions chez *Staphylococcus aureus*.

Mesures	Antibiotique	Concentration d'extrait de <i>Laurus nobilis</i> L					Effet de la concentration d'extrait de <i>Laurus nobilis</i> L.
	Gentamicine	20%	40%	60%	80%	100%	
Diamètre d'inhibition (mm)	21.33 ± 1.53	12.67 ± 0.58	12.67 ± 1.16	17.8 ± 5.20	16.67 ± 5.03	15.33 ± 1.53	P<0.05
Taux d'inhibition (%)	100	59.38	59.38	83.61	78.14	71.14	P<0.05

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes et écarts types, avec un nombre de répétitions n=3 ; $P<0.05$: Effet significatif du facteur étudié ; a, b, c...etc. : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon les tests de Newman et Keuls

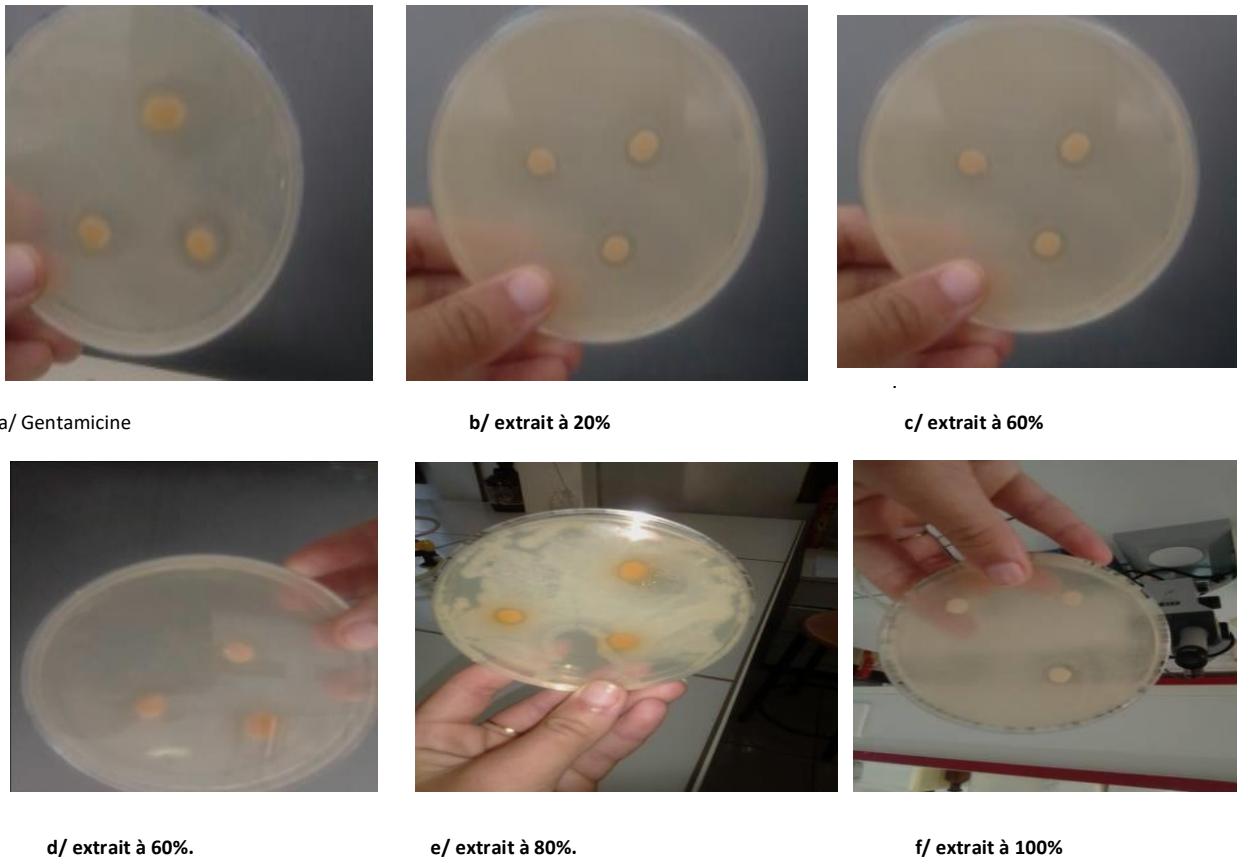


Figure 11. Effets antimicrobiens des solutions d'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* L., sur les variations des diamètres d'inhibitions chez *Staphylococcus aureus*.

1.3. Concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La CMI de l'espèce microbienne *Staphylococcus aureus* a été noté en présence de l'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* concentré à 20% (**Tableau 8**).

Tableau 8. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des solutions d'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* L., sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Paramètres	Témoin	Taux d'extrait hydro-éthanolique				
	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Di	0.01	1.43	1.48	1.67	1.34	1.03
Df	0.02	0.45	0.63	0.83	0.71	0.71
Df-Di	0.01	0	0	0	0	0
S	100	0	0	0	0	0
CMI	CMI= 20%					

DO : Densité optique ; S : pourcentage de survie ; Df : Densité optique après incubation ; Di : Densité optique avant incubation ; CMI : Concentration minimale inhibitrice.

1-4 Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :

À travers **la Figure 12**, il apparaît que la CMB de l'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* vis-à-vis du germe étudié *Staphylococcus aureus* est notée avec la solution pure de la plante concentrée à 100% .

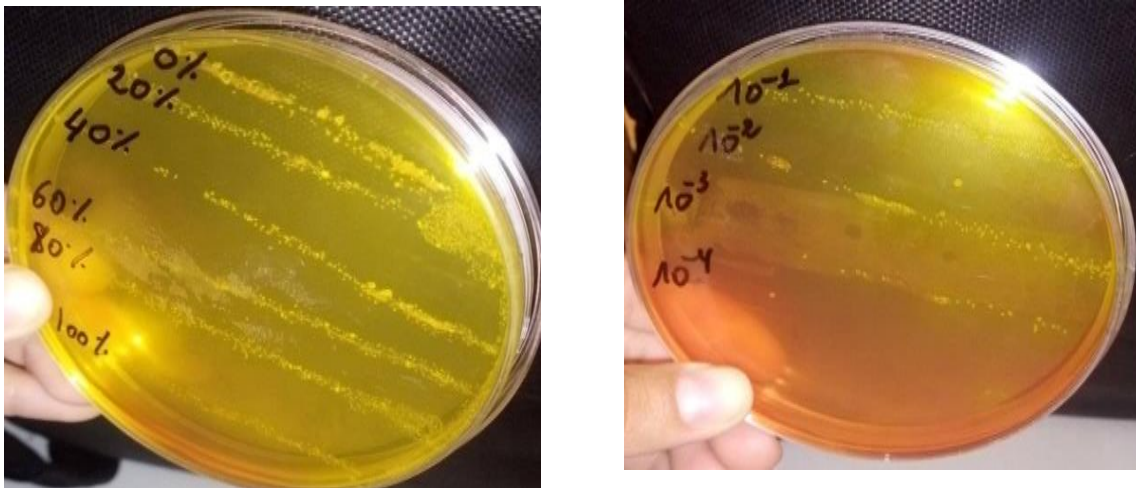


Figure 12. Action inhibitrice des solutions d'extrait de *Laurus nobilis* L., sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

1-5. Types d'inhibition

D'après le rapport CMB/CMI égale à 5, l'extrait de *Laurus nobilis* semble exercer un effet antimicrobienne inhibiteur de types bactériostatique à l'égard du germe testé *Staphylococcus aureus* (**Tableau 9**).

Tableau 9. Type d'inhibition de l'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* L., vis-à-vis de *Staphylococcus aure*.

Paramètres	CMB	CMI	CMB /CMI	Type d'inhibition de l'extrait hydro-éthanolique
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%	20%	5	Bactériostatique
Normes	D'après (Olivier 2007) : CMB/CM \leq 2 (Effet bactéricide) CMB/CMI \geq 2 (Effet bactériostatique) D'après (Marmonier ; 1990.) CMB/CMI \leq 4 (Effet bactéricide) CMB/ CMI \geq 4 (Effet bactériostatique)			

2. Discussion :

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales dont l'espèce végétale le *Laurus nobilis* L., n'a cessé de d'augmenter durant ces dernières années dans le but de recherches des alternatives thérapeutique aux substances chimiques dont les antibiotiques qui présentent de nos jours des risques incontestables pour la santé humaine et pour l'environnement.

Les feuilles de la plante sont largement utilisées comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecs et romain (**OuldYerou et al., 2015**) ou elle revêt un aspect sacré dans la mythologie grecque puisque la nymphe Daphné préféra être changée en laurier plutôt que de céder aux avances d'Apollon (**Lobstein et al., 2017**).

Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**OuldYerou et al., 2015**).

L'extrait hydro-éthanolique de *Laurus nobilis* L., récolté à Mostaganem situé à l'ouest du pays a montré un effet antimicrobien intéressant vis- a vis du germe pathogène *Staphylococcus aureus* responsable d'intoxication alimentaire et impliqué dans de multiples contaminations nosocomiales hospitalières (**Bouchaale et Zouaoui, 2015 ; Ould Yeroi, 2015**).

Les solutions d'extrait préparés à 60, 80 et 100% ont relevé, par ailleurs, des taux d'inhibition plus élevés variant de 71.89 à 83.61%; alors que ceux préparés à 20 et 40% ont enregistré de plus faibles taux ; de l'ordre de 59.38. Ceci confirme que l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de laurier accuse un effet antimicrobien certain sur la croissance du *Staphylococcus aureus* .

Apparemment, le degré d'inhibition s'avère dépende de la concentration de l'extrait hydro éthanolique utilisé et donc de sa grande richesse en principaux composés bioactifs dont les composés phénoliques. Ainsi, plus la concentration de l'extrait est importante plus le degré

d'inhibition du germe *Staphylococcus aureus* est considérable. Apparemment, le degré d'inhibition s'avère dépendre de la concentration de l'extrait hydro éthanolique utilisé et donc de sa grande richesse en principaux composés bioactifs dont les composés phénoliques. Ainsi, plus la concentration de l'extrait est importante plus le degré d'inhibition du germe *Staphylococcus aureus* est considérable.

Il est bien établi que les feuilles du Laurier sont riches en huile essentielle qui représente 1 à 3 % du poids sec dont 30 à 70 % de cinéol, 3% d'eugéol, ainsi que plusieurs autres composés terpéniques comme le linalol, le géraniol, le pinène et la terpinène. Il renferme aussi des polyphénols dont plusieurs flavonoïdes et dérivés ont été déterminés dans les extraits du laurier comme les flavonoïdes O-glycosides ou C-glycoside, l'acide caféique, la catéchine, les cinnamtannin et certains dérivés du kaempférol. Le laurier semble éventuellement contenir des alcaloïdes aporphiniques tels la cryptodrine ou l'actinodaphnine et des lactones sesquiterpéniques: comme le costunolide et le zaluzanine D (**Derwich et al., 2009; Flamini et al., 2007**). Selon une étude les feuilles de *Laurus nobilis L.* contiennent du tanin, un principe amer, du mucilage, des matières résineuses et pectiques ,et une essence aromatique incolore ou jaune pâle, à saveur chaude, constituée par un mélange de 45% de cinéol, de méthylchavicol, de pinène, d'eugéol, de géraniol, de linalol, d'éthers des acides acétiques iso butyrique et valérianiques (**beloued et al ; 2003**).

Ces multiples composés dont phénoliques ont montré de nombreuses activités biologiques telles que l'activité cicatrisante, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne, l'activité antivirale, l'activité immunostimulante, l'activité anticholinergique, l'activité antifongique, l'activité insectifuge, l'activité anticonvulsivante, l'activité antimutagène et l'activité analgésique et anti-inflammatoire (**Saima, 2019**).

D'après (**Demir et al., 2004 ; Taban et al.,2018**) les activités antibactériennes, antivirales et anti-infectieuses démontrées par les extrait de Laurier sont dues sa forte concentration en 1,8-cinéole associé notamment à l'eugénol ou son méthyl.

Par ailleurs, la CMI de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L., contre *Staphylococcus aureus* a été obtenue avec la solution expérimentale concentrée à 20% ; alors que la CMB à été réalisée avec l'extrait pur non diluée. D'après (**Olivier ; 2007**) avec un rapport de CMI / CMB égale à 5 l'extrait de la plante (*Laurus nobilis* L.) présente un effet de type bactériostatique vis-à-vis de la croissance de *Staphylococcus aureus*. **Marmonier (1990)** rapporte aussi que lorsque le rapport CMB / CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal a 4 ceci suppose qu'elle doté d'un effet bactéricide ; alors que si le rapport est supérieur à 4 elle présente plutôt un effet dit bactériostatique . Ainsi et d'une façon globale l'extrait hydro- éthanolique de *Laurus nobilis* L., semblent exercer un effet bactériostatique très intéressant vis- à – vis de *Staphylococcus aureus*.

Cet effet inhibiteur des principaux composés bioactifs de la plante étudiée contre la prolifération du germe *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer en partie par plusieurs mécanismes impliquant une dénaturation de la paroi bactérienne, une détérioration de l'ADN microbien et une complication d'enzymes impliquées dans la synthèse métabolique du germe (**Bakkali et al., 2014**).

CONCLUSION :

Conclusion :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus il résulte que les extraits hydroéthanoliques de *Laurus nobilis* L préparés à 60, 80 et 100% ont accusé des diamètres d'inhibitions vis-à-vis du germe *Staphylococcus aureus* proches de 71 à 83% à celui de la gentamicine.

Par ailleurs, le test de contact direct dit de croissance a montré aucune prolifération de ce microorganisme dans ces solutions à base d'extrait des feuilles de laurier..

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide ont été obtenues chez cette espèce bactérienne à 20% d'extrait de la plante étudiée.

L'extrait de laurier semble exercer une action de type bactéricide vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Il est souhaitable d'entreprendre, à l'avenir, d'autres recherches sur l'effet antimicrobien des extraits des feuilles de *Laurus nobilis* L riches en composés phénoliques contre plusieurs autres germes pathogènes en utilisant d'autres solvants d'extraction dont l'acétone, le méthanol, l'eau...etc. En perspective, on suggère aussi d'incorporer les extraits de laurier comme additif dans certains produits alimentaires transformés en vue d'améliorer de leurs qualités diététiques et de conservation à différentes températures d'entreposages.

Référence :

A

ANTON R, LOBSTEIN A. Plantes aromatiques. Epice, aromates, condiments et huiles essentielles- Tec & Doc, Paris (France) .(2005)

Al-Kalaldehy,J., Abu-Dahab, R.,&Afifi, F. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. *Nutrition Research*, 30(4), (2010); 271–278p.

B

Babba Aissa F. Encyclopédie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident. Alger : EDAS(2000)

Beloued A. Plantes médicinales d'Algérie. Alger : Office des publications universitaires 2003.

Bendjersia F.Z., Tazeroutia F ., Belkhelfa-Slimani R., Djerdjourib B and Meklati B.Y. Photochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. leaves extracts obtained by solvent-free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research* 2016. 28: 202–210p

Beloued A.,. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. 2005. 124p

Bahorun T, Troitin F, Pommery J, Vasseur J et Pinkas M. Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta Med.* 1994 ; 60 : 323 -328. Benzyl isothiocyanate, a major component from the roots of *Salvadora persica* is highly active against Gram-Negative bacteria, *PLoS ONE*.2011;16(8):23045.

Bakkali et al, . les facteurs associés a la servenue de la marosomie chez le nouveau né à l'hôpital régional cherif adrissi dans la région du gharbau maroc *ESJ* ,2014 ;10 :11 22 p.

Bouchaal et Zouaoui . Etude comparative de l'activité antimicrobienne des huille essentielle de *Laurus nobilis* de deux region Algerie et tunisie .

Bourgeois CM, Leveau JM. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. Le contrôle microbiologique. Technique et documentation. *Apria* 1980 ; 3 : 331.

Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine A., Chaouch B., Satrani . Effet de séchage sur Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaire de Mr Akkou Madjid 2009.

Brunton j . ; 1999 . Pharmacognosie ; phtochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire ; 3 eme édition. **1999** . 484 ;485 P .

C

Camille D ; Microbiologie pratiques pour laboratoire d'analyse oued contrôle sanitaire .Edition lavoisier.**2007** :Pp :156 .

D

Denis F., Ploy M-C., Martin C., Bingin É., et Quentin R.. Bactériologie médicale édition Masson, Paris. **2011**: 640p.

Dubus ; j . ; 5 Plantes pour protéger mes cultures . Les Edition du jadinier Bio . **2012** p77 .

Eveillard ; Matthieu. (2007) .Politique de dépistage de staphylococcus aureus résistant a la méticilline a l'admission adaptation a la diversification des facteurs de risque de protage ; conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission Biologie

of some quality parameters of air-dried bay leaves.Biosystems Engineering, **2007**) 88(3), 325-335•
cellulaire .ANGERS :UNIVERSITE D'ANGERS (**2007**):p159).

Demir, V., Gunhan, T., Yagcioglu, A. K.,&Degirmencioglu, A.. Mathematical modelling and the determination (**2007**) (**2004**).

F

Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P.L., Ceccarini, L., Ricci, A.S., and Longo, .(Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. J. Chromatogr **2007**).1143 : 36-40.

G

Guedouari R. .Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *Laurus nobilis* L. essais de formulations thérapeutiques.[Mémoire de Magister] : Génie des Procédés Chimiques et Pharmaceutiques : Université Mohamed Bougara Boumerdes **2012**

Goudjil M.**2016**.Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.[Thèses] :Genie des procedés et environnement :Universite Kasdi Merbah Ouargla .

Guiraud JP. Microbiologie alimentaire. Ed Dunod.Parie.**1998** ;54 -571.

Geerts P., Rammeloo J., Van Cauteren G., *Laurus nobilis*: le livre du laurier. Gand: Ed. Ludion; **2002** 131 p

H

Hartmann T., From waste products to Eco chemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. *Phytochemistry*. **2007**;68 :2831–2846

K

Kara .Statistical optimization of α -amylase production by *Streptomyces erumpens* MTCC 7317 cells in calcium alginate beads using response surface methodology. *Pol J Microbiol*. **2001**; 57: 49-57

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

L

Le Noir, Y ;Gauthier, M(2009). *staphylococcus aureus* ; Monographie de microbiologie Lavoisier . *Libya j infect Dev Ctries* ; 5 :723-6.

Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Briot, C. (2017). Huile essentielle de *Laurier noble*. *Actualités Pharmaceutiques*, **2009**. 56(571), 57–60.

M

Moroh J L A., C Bahi, K Dje, Y G Loukou and F. Guede-guina., Study of the antibacterial activity of Morindamorindoides(Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of Escherichia coli strains. *Bulletin Société Royale des Sciences Liege*. **2008**;77: 44-6

Mediouni Ben Jemâa, J., Tersim, N., & Toudert, K. T. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, **2012** 48, 97–104.

O

Ouibrahim A., Tlili-Ait Kaki Y., Bennadja S., Mansouri R., Ait Kaki S., Khbizi S., Djebar M. Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L provenant de la région d'El Kala (Nord–Est Algérien). *Algerian J. Nat. Products*, **2015**3:33 pp 209-216.

OuldYerou K., Meddah B., TirTouil A. 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*. **2015** 11:33 pp. 311-318.

Oliveira,D ,C ;tomasz A ..de Lancaster H secretes of success of a human pathogens molecular evolution of pandemic clones of methicillin –resistant *staphylococcus aureus* ;Lancet Infect. Dis. **2002**

P

Prescott L M., J P Harley and D A Klein., Microbiologie. De Boeck Supérieur. 2003 pp: 1137

Patrakar R., Mansuriya M et Patil P. Phytochemical and Pharmacological Review on Laurus Nobilis. International journal of pharmaceutical and chemical sciences.1 (2): **P. 2012.** 595- 602.

S

Sedef Nehir Yavuz E., Karagozlu N., Karakaya S and Sahin S. 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from Laurus nobilis L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydro distillation .Food and Nutrition Sciences. **2014.** 5: 97-106

Iserin P.,. Larousse des plantes médicinales: Identification, préparation, soins. Ed. Larousse: **2001.** 10p.225-226. .

STEVEN P.S. « Angiosperm Phylogeny Website ». **2001).**

Stursa j .; . Arbustes a feuilles persistantes. Grand .Paris . **2001** P 118- 203 .

la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters.
AGROSOLUTIONS SEPTEMBRE VOL. 20 No.P45. Alger, École Nationale Supérieure
Vétérinaire : 2017

Annexe 1 :

Composition chimiques des milieux utilisés :

1. Muller Hinton agar

- Infusion de viande de bœuf déshydraté.....300 g
- Hydrolysate de caséine17.5 g
- Agar Agar13 g
- Eau distillée1000 g
- Amidon de maïs 5 g
- Stériliser a 115° C pendant 20 min .

2. Gélose nutritive : (bouillon nutritif solidifié par addition d'agar – agar) .

- Macération de viande (eau distillés + extrait de viande q.s.)
- Peptone tryptique15g
- Na Cl ou KCl5g
- Agar15 a 20 g
- PH finale 7.2-7.4 litre 15g 5 g 15 a 20 g
- Stériliser a 115° C pendant 20 min .

3. Bouillon nutritif :

- Macération de viande (eau distillée + extrait de viande q.s.) 1L
- Peptone tryptique15g
- Na Cl ou KCl5g
- PH final7.2 -7.4
- Stériliser a 115 ° C pendant 20 min

4. Chapman (Gélose)

La gélose Chapman est un milieu d'isolement sélectif utilisé pour la recherche des *staphylococcus*. Il peut être utilisé par exemple lors de l'analyse des selles. Le pouvoir sélectif de ce milieu repose sur sa concentration très élevée en Na cl (75 g / L) .

Composition :

- Peptone..... 10 g
- Extrait de bouf..... 1 g
- Chlorure de sodium..... 75 g
- D- mannitol 10 g
- Rouge de phénol 25 mg
- Agar 1g
- PH..... 7.5