

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-
Mostaganem



جامعة عبد الحميد بن باديس

مستغانم

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

Mlle. BENAHHARRAT Fayza et Mlle BOUATTOU Ikram

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité : Microbiologie Fondamentale

Thème

**Effets antimicrobiens
de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* L.,
sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.**

Devant le Jury :

M. AIT SAADA Djamel	Présidente	MCA	Univ. Mostaganem
Mme. AIT CHABANE Ouiza	Rapporteur	MCB	Univ. Mostaganem
M. BEKADA Ahmed Mohamed Ali	Examineur	Professeur	C. U. de Tissemsilt
Mlle. FEKNOUS Ines	Invitée	Doctorante	Univ. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie du département de biologie sise à la faculté SNV- Université de Mostaganem

Année universitaire : 2020-2021.

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le Tous Puissant et le tout miséricordieux, pour nous avoir donné la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincère remerciement, à Madame AITCHABANE Ouiza maître de conférences classe B à l'Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem, pour son encadrement agréable, son soutien, ces fructueux conseils, ces explications, et son encouragements afin de réaliser ce modeste mémoire.

Nous exprimons notre sincère gratitude à Monsieur AIT SAADA maître de conférences classe A à l'Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem, d'avoir accepté de présider le jury.

Nos remerciements vont également à Monsieur BAKKADA AHMED professeur au centre Universitaire de Mostaganem, et Mlle. FEKNOUS Ines dictirante à l'Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem, d'avoir accepté d'examiner et de faire partie du jury.

Résumé :

L'étude expérimentale est consacrée à l'évaluation des effets antimicrobiens de l'extrait au solvant hydrométhanolique de laurier (*Laurus nobilis*) récolté dans la région de mostaganem-Algérie sur *Staphylococcus aureus* un microorganismes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires. L'extrait de laurier a été obtenu par macération d'une prise du végétal dans du méthanol aqueux, suivi d'une filtration et d'une évaporation du filtrat. L'extrait a été concentré à l'eau distillée à 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. L'effet antimicrobien de l'extrait de laurier a été testé sur souche de référence (ATCC 33862) de *S. 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* ont engendré de fortes activités antimicrobiennes vis-à-vis de *S. aureus*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) ont été obtenues avec l'extrait hydrométhanolique de laurier préparé à 40%. Cet extrait a montré une action de type bactéricide chez *Staphylococcus aureus* et une efficacité antilicróbienne proche à 61.9% de la gentamicine.

Mots clés : *Laurus nobilis* L., *Staphylococcus aureus*, extrait hydro méthanolique, antibactérien.

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 mostaganem-Algeria 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 antilicróbien efficacy close to 61.9% of gentamicin.

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

ملخص:

الدراسة التجريبية مكرسة لتقييم التأثيرات المضادة للميكروبات لمستخلص المذيب الميثانول الميثانول لغار (Laurus nobilis) الذي تم جمعه في منطقة مستغانم-الجزائر على بكتيريا *Staphylococcus aureus* ، وهي من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض المسؤولة عن التسمم الغذائي. تم الحصول على مستخلص أوراق الغار عن طريق نقع النبات في ميثانول مائي ، متبوعاً بالترشيح وتبخير المرشح. تم تركيز المستخلص في 0 ، 20 ، 40 ، 60 ، 80 و 100٪ ماء مقطر. تم اختبار التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص ورق الغار على سلالة مرجعية (ATCC 33862) من بكتيريا *S. aureus*. القياسات المعنية: اختبار النمو ، واختبار انتشار القرص ، والتركيز المثبط الأدنى والحد الأدنى لتركيز مبيد للجراثيم. أنتجت محاليل مستخلص *Laurus nobilis* أنشطة قوية مضادة للميكروبات ضد *S. aureus*. تم الحصول على أقل تركيز مثبط (MIC) وأدنى تركيز مبيد للجراثيم (CMB) باستخدام مستخلص الغار الميثانول المحضر بنسبة 40٪. أظهر هذا المستخلص تأثير نوع مبيد للجراثيم في *Staphylococcus aureus* وفعالية مضادة للميكروبات تقترب من 61.9٪ من الجنتاميسين.

الكلمات المفتاحية: *Laurus nobilis* L. ، *Staphylococcus aureus* ، مستخلص ميثانولي مائي ، مضاد

للجراثيم .

Liste des Tableaux :

Tableau 01. Dénomination internationale de <i>Laurus nobilis L.</i> ,.....	5
Tableau 02. Autres espèces du laurier noble (<i>Laurus nobilis L.</i>).....	5
Tableau 03. Morphologie de <i>Laurus nobilis L.</i> ,.....	8
Tableau 04. Principaux caractères des Staphylocoques	22
Tableau 05. Propriétés des enterotoxines A à J de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Tableau 06. Facteurs de pathogénicité (virulence)	31
Tableau 07. Récoltes et préparation de laurier noble (<i>Laurus nobilis</i>).....	40
Tableau 08. Effet antimicrobien de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i> par la méthode de contact direct	52
Tableau 09. Effets inhibiteurs de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Staphylococcus aureus</i> déterminés par la méthode des disques	54
Tableau10. Variation des taux d'inhibitions de <i>Staphylococcus aureus</i> en fonction des différentes concentrations d'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i>	55
Tableau 11. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Tableau12. Action inhibitrice de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	58

Listes des figures :

Figure 01. Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> .	4
Figure 02. Répartition géographique des Lauracées à travers le monde.	7
Figure 03. Coques de <i>Staphylococcus aureus</i> disposées en grappes de raisins	17
Figure 04. Aspect morphologique de la souche de <i>Staphylococcus aureus</i> observé au microscope électronique	22
Figure 05. Facteurs de virulence de <i>S.aureus</i> .	30
Figure 06. Région de prélèvement de <i>Laurus nobilis L.,.</i>	39
Figure 07. Echantillons de 10 g de matière végétale de <i>Laurus nobilis L.,.</i>	42
Figure 08. Macération des échantillons de matière végétale de <i>Laurus nobilis L.,.</i>	42
Figure 09. Filtration des extraits.	42
Figure 10. Diagramme d'extraction de principes actifs de <i>Laurus nobilis</i> .	44
Figure 11. Evaporateur rotatif.	43
Figure 12. Solution de travail (stockage à 4 C°).	43
Figure 13. Méthode d'activation de la souche bactérienne étudiée.	45
Figure 14. Méthode de contact direct.	46
Figure15. Méthode des disques par diffusion sur milieu de Muller Hinton.	47
Figure 16. Spectrophotomètre.	49
Figure 17. Concentration Minimale Inhibitrice(CMI).	49
Figure 18. Principales étapes de la détermination de la CMB.	50
Figure 19. Effets de extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> .	53
Figure 20. Effets inhibiteur de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Figure 21. CMB de l'extrait hydrométhanolique de la <i>Laurus nobilis</i> collecté à Mostaganem.	57

LISTE DES ABREVIATIONS :

UFC : Unité formant colonie.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

S : Taux de survie du microorganisme en %.

df-di : Différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

Df-Di : Différence de densité optique sans extraits de laurier avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.

TIA :Toxi-infections_alimentaires.

SE :Enterotoxines Staphylococciques

PM :Poids-Moluculaire

Table des matières

Remerciements

Résumé

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

Introduction : 1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Laurus nobilis L.*,

1. Introduction	3
2. Description botanique	3
3. Classification botanique	4
3.1. Dénomination internationale	4
3.2. Autres espèce de Laurier	5
4. Répartition géographique et habitat	6
4.1. Dans le monde	6
4.2. En Algérie.....	6
5. Morphologie du le laurier.....	7
6. Composition chimique	8
7.Origine.....	9
8. Utilisation des feuilles de <i>Laurus nobilis L</i>	9
9. Propriétés pharmacologiques	10

9.1. Effets antioxydants	10
9.2. Effets fumigènes et insecticide.....	11
9.3. Effet anticonvulsive.....	12
9.4. Effet cytotoxique	13
9.5. Effet gastroprotectif.....	13
9.6. Effet inhibiteur d'absorption d'alcool	14
9.7. Effet curatif de blessures	14
9.8. Effet inhibiteur d'enzyme	15
9.9. Effet antimicrobien	15

Chapitre II : Reveu bibliographique sur *Staphylococcus aureus*

1. Définition	16
2. Historique	16
3. Positions taxonomiques et classification.....	17
4. Classification phylogénique	18
5. Habitat	19
5.1. Réservoirs des <i>S. aureus</i> chez les humains et animaux	19
5.2. Dispersion et survie dans des environnements variés	19
6. Identification de l'espèce au sein du genre	20
6.1. Caractères morphologiques	20
6.2. Caractères cultureux	21
6.3. Caractères biochimiques	23
7. Génétique de <i>S. aureus</i>	23

7.1. Variabilité génomique.....	23
7.2. Support génétique.....	24
8. Pouvoir pathogène.....	25
8.1. Enterotoxines	25
8.2. Facteurs de virulence autre que les enterotoxines	29
8.3. Toxines	33
9. Résistance aux antibiotiques des <i>S. aureus</i>	35

Partie 02 : Méthodologie

1. Objectifs	37
2. Matériel végétal	38
3. Matériel du laboratoire utilisé	38
4. Région de prélèvement.....	38
5. Traitements préliminaire du matériel végétal	39
6. Extraction des composés bioactifs	41
7. Etude des effets antimicrobiens des extraits de <i>Laurus nobilis</i> L.....	45
7.1. Activation des inocula microbiens	45
7.2. Méthode de contact direct	45
7.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose	47
7.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	48
7.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	50
7.6. Traitement statistique	51

Partie 03 : Résultats et discussion

1. Résultats	52
1.1. Méthode de contact direct	52

1.2. Diamètre d'inhibition	52
1.3. Taux d'inhibition	55
1.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	56
1.5. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	57
2. Discussion	59
Conclusion	62
Références	
Annexes	

Introduction :

Introduction :

Depuis longtemps, l'homme a vécu côte à côte avec les plantes médicinales et il les a depuis toujours exploitées pour leurs propriétés pharmaceutiques, curatives et nutritives. Les composés bioactifs les constituants dont huiles essentielles, composés phénoliques, terpène et bien d'autres constituants (Selles, 2012) ont été intégrés dans différents domaines d'activité tels que : cosmétique, pharmacie, agroalimentaire et phytosanitaire.

Ces plantes ont été également utilisées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques très recherchées dans le domaine de la microbiologie médicale (Mohammedi, 2013). En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines des milliers de composés naturels bioactifs appelés métabolites secondaires le plus souvent retrouvés accumulés dans différents organes et parfois même dans certaines cellules spécialisées du végétal (Boudjouref, 2011).

L'étude de l'effet des extraits bioactifs des plantes comme additif à fort pouvoir antimicrobien repose sur l'utilisation des parties les plus riches en métabolites secondaires telles que les feuilles, les graines, les racines, les fruits, les fleurs, ou la totalité de la partie aérienne de la plante (Khenaka, 2011).

A cet égard, il est bien connu que les feuilles de *Laurus nobilis* L., est riche en composés bioactifs dont huiles essentielles (Bruneton 1999, Demir et al., 2004) tels le cinéol, le pinène, le sabinène, le linalol, l'eugénol, le terpinéol, en bien d'autres esters et terpénoides (Iserin 2001 ; Sayyah et al., 2002 ; Demir et al., 2004) ; les flavonoïdes et les alcaloïdes (Kivçak et Mert, 2002 ; Simi et al., 2003) ayant un effet antimicrobien avéré contre de

nombreux microorganismes pathogènes tels salmonelles, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*...etc
(Bouchaale et Zouaoui, 2015 ; Ould Yeroi, 2015).

L'objectif de cette étude est de suivre l'activité antibactérienne d'une plante aromatique largement répandue en Algérie à savoir *Laurus nobilis L.*, récolté dans la région de Mostaganem à l'Ouest d'Algérie vis-à-vis d'un germe pathogène responsable de toxiinfection alimentaire en l'occurrence *Staphylococcus aureus*.

Le manuscrit est subdivisé en trois grandes parties :

- Une synthèse bibliographique qui englobe et rassemble des données théoriques actualisées sur les composés bioactifs de *Laurus nobilis L.*, et des généralités sur *Staphylococcus aureus*.
- La deuxième partie a été consacrée à la méthodologie décrivant le matériel et les méthodes utilisées dans l'étude expérimentale.
- Et la troisième partie relate la critique et la discussion des résultats, ainsi que la conclusion et les perspectives de recherche développement à entreprendre dans le future.

Partie 1: Synthèse bibliographique

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

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

1. Introduction :

Laurus nobilis L., membre de la famille des lauracées renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Le *Laurus*, nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante (**Pariente, 2001**).

Les feuilles sont largement utilisées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antique grec et romain (**Demir et al., 2004**). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle, a des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**Ferreira et al., 2006**).

2. Description botanique :

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

Le *Laurier noble* est un arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant en fil du temps. L'écorce est noire à gris foncé et lisse. 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 (**Figure. 1**) (**Ouibrahim et al. ,2015**).



Figure 1. Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (Beloued ,2005).

3. Classification botanique :

La position systématique de *Laurus nobilis* est comme suit dans le royaume végétal selon (Quezel et santa, 1962) :

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

3.1. Dénomination internationale :

La dénomination vernaculaire de *Laurus nobilis* L. à travers le monde est illustrée dans le (Tableau 1).

Tableau 1. Dénomination internationale de *Laurus nobilis* L.

Français	Laurier d'Apollon, Laurier commun, Laurier franc, Laurier noble.
Allemand	Lorbeersamen, lorbeer.
Anglais	Laurel oil, sweet bay, bay tree, roman Laurel, noble Laurel.
Italien	Olio di alloro
Portugais	Louro
Arabe	Rand, habb r'ar
Nom targui ou berbère	Taselt, rend

(Anton, 2005; Ballabio,2010).

3.2. Autres espèce de Laurier :

L'espèce *Laurus* 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 (Anton, 2005)..

Tableau 2. Autres espèces du laurier noble (*Laurus nobilis* L.)

Nom vernaculaire	Nom scientifique	Famille
Laurier-amande	Prunus laurocerasus L	Rosacées
Laurier-benzoin	Lindera benzoin L	Lauracées
Laurier-cerise	Prunus laurocerasus L	Rosacées

Chapitre I: Généralités sur le Laurus nobilis L.

Laurier-d'Alexandrie	Danae racemosa	Liliacées
Laurier-Californie	Umbellularia californica	Lauracées
Laurier des bois	Daphnolaureola L	Thyméléacées
Laurier des Iroquois	Sassafras albidum	Lauracées
Laurier du portugale	Prunus lusitânica L	Rosacées
Laurier rose	Nerium oleander L	Apocynacées
Laurier- tin	Viburnum tinus L	Caprifoliacées
Laurier sassafras	Sassafras officinalis Nees	Lauracées

(Anton, 2005).

4. Répartition géographique et habitat :

4.1. Dans le monde :

Cette famille qui est principalement tropical, se trouve dans la région méditerranéenne en particulier dans les pays suivant : Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France,algerie. Le laurier est aussi largement cultivé dans les pays arabes de la Libye au Maroc. Actuellement, cette espèce, sauvage ou cultivée, est présent dans le sud et l'ouest de l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale **(Ivan, 2001; Emam, 2010).**

Elle est surtout répartie dans toutes les régions humides. Elle se développe sur les bords des cours d'eau. Elle s'accommode sur tous les types des sols **(figure.02) (Messaoudi, 2008).**

4.2. En Algérie :

Le laurier est retrouvé de part l'algérie surtout dans les forêts et ravins humides, commun dans le tell algérois et constantinois. La floraison de la plante est observée entre les mois de mars et Avril **(Beloued, 2001).**

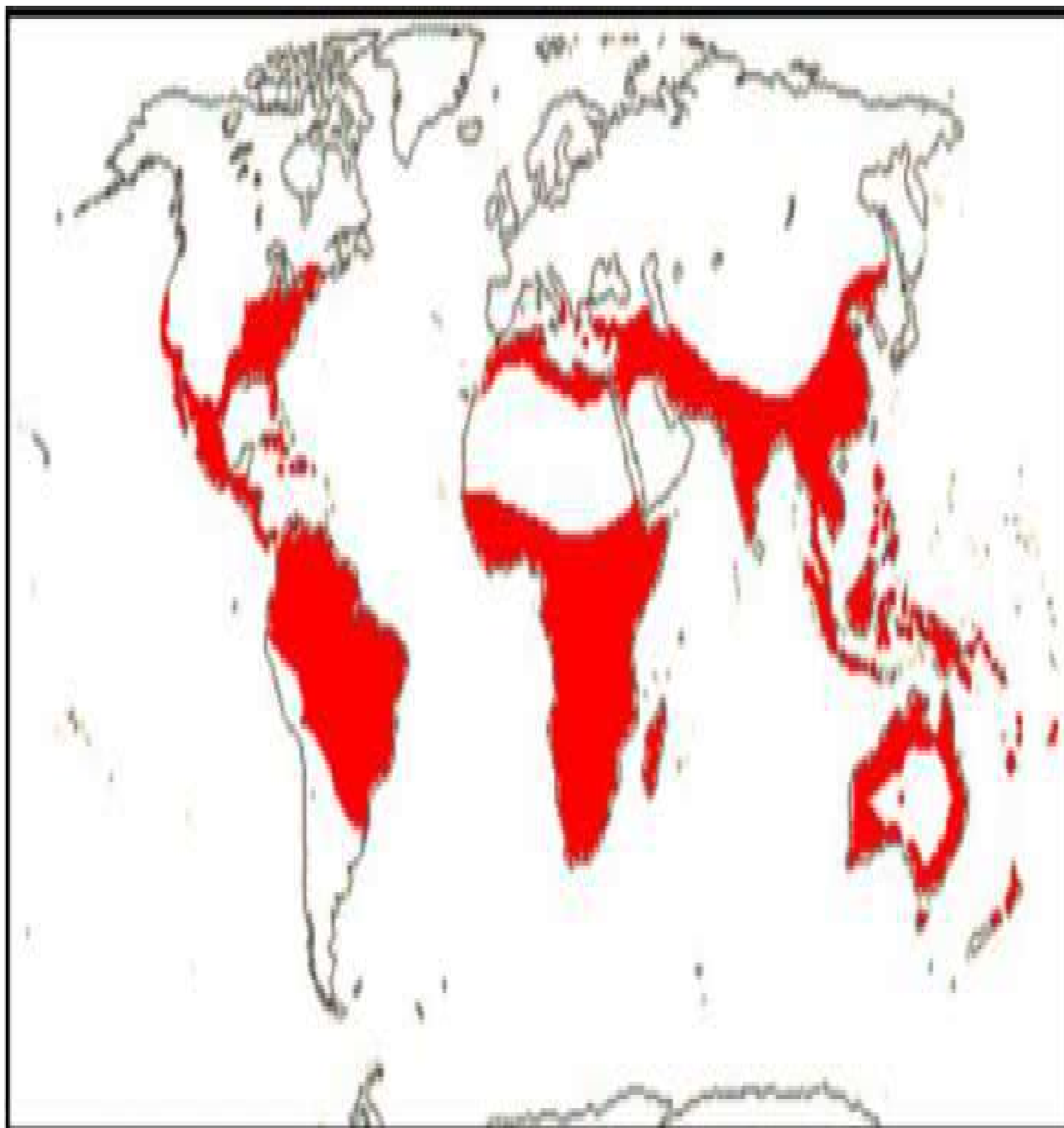


Figure 2. Répartition géographique des Lauracées à travers le monde (Steven, 2001).

5. Morphologie du laurier :

Le (Tableau 3) ci-dessous résume la morphologie de *Laurus nobilis L.*,

Tableau 3. Morphologie de *Laurus nobilis L.* (Guedouari, 2012).

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

Parties de la plante	Morphologie
<p>Les feuilles :</p> 	<p>Persistantes, alternes, allongées à lancéolées, d'environ 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large, si la feuille a une couleur brun-vert, il est trop âgés et amer, sans arôme. La feuille a une saveur forte, épicé, amer, piquant et de refroidissement nuances.</p>
<p>Les fleurs :</p> 	<p>Petites odorantes en forme d'étoile à la fin du printemps de couleur blanchâtre à jaune, les fleurs sont groupées à l'aisselle des feuilles en petits bouquets en forme d'ombelles axillaires ou en courtes panicules</p>
<p>Les fruits :</p> 	<p>Fruits ou baies de laurier (baies globuleuse, drupe aromatique charnue) ressembler à une petite olive avec la forme ovale ou ellipsoïde. Les fruits sont de couleur verte au début et violets au noir profond à maturité (Septembre). Les fruits secs sont drupacés, ovoïdes, d'environ 15 mm à 2 cm de long et 10 mm de large.</p>

6. Composition chimique :

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis* et plusieurs ont prouvé la richesse de ses feuilles en substances actives. Par hydrodistillation les feuilles fournissent environ 10-30 ml/Kg (1-3%) d'huile essentielle (**Bruneton 1999, Demir et al.,**

2004) dont les constituants majoritaires inclut : cinéol, et pinène, sabinène, linalol, eugénol, terpinéol, plus d'autres esters et terpenoïdes, mais dont les proportions varient selon l'origine géographique (Iserin 2001 ; Sayyah et al.,2002 ; Demir et al., 2004).

Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine, kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol) (Fiorini et al., 1998 ; Kivçak et Mert, 2002), sesquiterpènes lactones, alcaloïdes d'isoquinoline (Kivçak et Mert, 2002 ; Simi et al., 2003), en plus Demo et al. (1998) et Gómez- Coronado et al. (2004) ont montré la richesse de ses feuilles en vitamine E.

7. Origine :

Consacré à Apollon et Esculape « dieux de la santé et de la médecine » chez les grecs, en couronnant les empereurs et les héros chez les romains ; le *Laurier noble* jouit d'une place importante tant dans le domaine mythologique, culinaire et médicinale depuis l'antiquité (Vetvicka et Matousova, 1991).

Le laurier, ou laurier-sauce (*Laurus nobilis L.*) est un arbuste ou un arbre de la famille des Lauraceae, à feuilles persistantes et coriaces (Vetvicka et Matousova, 1991). Etymologiquement, le nom latin laurus signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et nobilis du latin « fameux » (Pariente, 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).

8. Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis* :

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus

dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce,...) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant (**Sini et al., 2003**), le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (**Iserin, 2001**).

L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (**Kivçak et Mert, 2002**).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (**Aqili Khorasani, 1992**).

L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales (**Sayyah et al., 2002**). En outre, l'huile essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir et al., 2004 ; Beloued, 2005**).

9. Propriétés pharmacologiques :

9.1. Effets antioxydants :

L'activité antioxydante des extraits méthanolique (bruts et dégraissés) des feuilles, d'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* ont été étudiés au niveau de la peroxydation de lipide (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺² / ascorbate et mesuré spectrophotométriquement à 533 nm. Les résultats ont

montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité antioxydante. L'extrait dégraissé des feuilles montre une inhibition plus élevée du LP que l'extrait brut et que tous les autres extraits et le maximum de son activité (68,4%) a été atteint avec une plus petite quantité (2,0 mg) (Simi et al., 2003).

Ferreira et al. , (2006) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis* ; cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante pour chacun des trois extraits et elle est plus haute pour les extraits polaires. Dans le laurier, l'isoquercitrin et les glycosides flavonol peuvent expliquer l'activité exhibée.

Dans une autre étude, **Demo et al. , (1998)** ont démontré la présence des tocophérols (vitamine E), principalement la - tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction hexane. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité antioxydante de l'extrait hexane des feuilles.

Ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arome plaisant, mais probablement aussi a des possibilités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres pièces de cette plante.

9.2. Effets fumigènes et insecticide :

Récemment, il ya un intérêt croissant pour l'utilisation probable des extraits de plantes comme solution de rechange aux insecticides synthétiques. Treize huiles essentielles dont ceux de *Laurus nobilis* ont été examinées sous leurs formes de vapeur contre une espèce d'insectes attaquant les produits stockés dont

Acanthoscelides obtectue d'une branche de haricot. Les résultats ont indiqués que l'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a une action répulsive, réduit la fécondité, diminue la couvaison d'oeufs, augmente la mortalité larvaire de nouveau-né et influence défavorablement l'apparition de progéniture (**Papachristos et Stamopoulos, 2002**).

Une étude similaire a été réalisée par **Erler et ses collaborateurs (2006)**, où l'huile essentielle extraite à partir du feuillage frais de *Laurus nobilis* a été examinée pour son activité répulsive contre les femelles adultes d'une espèce de moustique (*Culex pipiens*) ; cette huile a montré un degré de répulsion intéressant contre ces parasites vecteurs de plusieurs maladies comme la malaria, fièvre jaune, dengue, encéphalite...etc.

De même, l'activité fumigène de certains composés qui se produisent naturellement dans les huiles essentielles des plantes aromatiques dont cinéol, eugénol et linalol, composés principales de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, a été évalué contre trois espèces d'insectes parasites des produits entreposés (*Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* et *Tribolium castaneum*). L'activité insecticide a changé avec l'espèce d'insecte, le composé et le temps d'exposition. Les résultats ont prouvé que ces composés peuvent convenir comme fumigène en raison de leur volatilité élevée, efficacité et leur sûreté (non toxique aux humains) (**Rozman et al., 2007**).

9.3. Effet anticonvulsive :

L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a été évaluée pour son activité anticonvulsive. Elle semble protéger les souris contre des convulsions toniques, induites par électrochoc maximal et particulièrement par pentylènetétrazol. Aux doses d'anticonvulsivant, l'huile essentielle a produit la sédation et un relâchement du coeur. D'après **Sayyah et al., (2002)**, les composants

responsables de cet effet anticonvulsif peuvent être le cinéol, eugénole et le méthyle eugénole

9.4. Effet cytotoxique :

Les extraits n-hexane, éthanol et aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* ont été testés pour leurs propriétés cytotoxiques en utilisant l'essai biologique de crevette de saumure (*Artemia salina*). Seul l'extrait n-hexane exhibé une activité cytotoxique contre la crevette de saumure même si on l'avérait moins active que l'umbelliférol et la colchicine. Dans le criblage phytochimique tous les extraits ont donné des résultats positifs pour les sesquiterpènes, les extraits éthanol et aqueux pour les alcaloïdes mais seulement l'extrait n-hexane était positif pour les flavonoïdes et la vitamine E. Ainsi, les glycosides flavonol pourraient être des principes actifs responsables de l'activité cytotoxique observée (**Kivçak et Mert, 2002**).

D'autres études ont été réalisées sur l'isolement et l'identification des composés des feuilles et des fruits de *Laurus nobilis* supposés être cytotoxique. Six sesquiterpènes lactone connue et un nouveau sesquiterpène le lauroxépine ont été isolés. Ces substances actives se sont avérées fortement cytotoxiques contre la lignée cellulaire ovarienne cancéreuse A2780. (**Fang et al., 2005 ; Barla et al., 2007**).

9.5. Effet gastroprotectif :

Une seule étude a été réalisée à ce sujet par **Gurbuz et al., (2002)** où cinq plantes aromatiques dont *Laurus nobilis*, sont employées traditionnellement en Turquie pour traiter le mal d'estomac. Ils ont été choisis pour déterminer leur pouvoir anti-ulcérogène. Une décoction et un extrait méthanol ont été préparés à partir des fruits de Laurier pour déterminer leurs effets sur un modèle d'ulcère

gastrique induit par l'éthanol chez des rats. Les expériences pharmacologiques et les techniques histopathologiques ont clairement montré que ces extraits donnés oralement ont significativement protégé l'estomac contre ce modèle d'ulcère. Cette étude doit être continue pour l'isolement des constituants actifs et pour révéler leur mode d'activité.

9.6. Effet inhibiteur d'absorption d'alcool :

L'extrait méthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* a efficacement empêché l'élévation du taux d'éthanol dans le sang chez un rat chargé d'éthanol. Sept sesquiterpènes actifs ont été isolés en tant qu'inhibiteurs d'absorption d'alcool. La partie active dans ces sesquiterpènes s'est avéré la partie -méthylène- -butyrolactone qui était essentielle pour montrer la suppression de l'absorption d'éthanol. En outre, le retard de vidange gastrique a été présumé impliqué partiellement dans leur effet inhibiteur (**Matsuda et al.,1999 ; Yoshikawa et al., 2000**). Ces sesquiterpènes ont non seulement un effet préventif efficace pour la toxicité aiguë d'alcool mais peuvent également aider des patients à éviter l'abus d'alcool (**Yoshikawa et al., 2000**).

9.7. Effet curatif de blessures :

L'effet curatif de blessures de l'huile de feuille de *Laurus nobilis* a été examiné par **Khalil et ses collaborateurs (2007)**. Une blessure en pleine épaisseur a été faite dans le secteur dorsal des souris *Mus musculus*. Les blessures ont été traitées quatre fois avec la préparation d'huile pendant deux jours successifs. Cette opération est répétée pendant plusieurs jours avec 12 h d'intervalle. Après 16 jours, les blessures ont été visuellement observées, photographiquement documenté et le secteur de blessure a été mesuré. Après le 16ième jour, les animaux ont été sacrifiés et l'histologie du secteur de blessure est examinée. L'huile de *Laurus nobilis* a montrée une bonne activité curative de blessures.

9.8. Effet inhibiteur d'enzymes :

Ferreira et ses collaborateurs (2006) ont étudié l'effet de l'huile essentielle, l'extrait éthanol et la décoction des feuilles de *Laurus nobilis* sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine donnant la choline et l'acétyle. La fraction éthanol a montré une valeur élevée d'inhibition d'AChE de 64% (1g/ml), donc la plante *Laurus nobilis* peut aider à traité ou soulager des patients souffrant de la maladie d'Alzheimer, puisque les drogues approuvées pour la thérapie de cette maladie agissent en contrecarrant le déficit d'acétylcholine.

9.9. Effet antimicrobien :

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des extraits, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaires (**Kokate et Varma , 1970**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des extraits sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron, la coagulation du contenu protéique des cellules, et l'inhibition de la décarboxylation des acides aminés. Les extraits peuvent inhiber aussi la synthèse d'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. Le mode d'action des extraits dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs (**Bakkali et al ., 2014**).

Chapitre II : Revue bibliographique sur *Staphylococcus aureus*.

Chapitre II : Revue bibliographique sur *Staphylococcus aureus*

1. Définition :

Staphylococcus aureus est le plus connu et est fréquemment impliqué dans l'étiologie d'infections et de toxi-infection variées chez l'homme. D'autres espèces de Staphylocoques peuvent cependant causer des infections opportunistes. Ces infections, souvent nosocomiales, engagent parfois le pronostic vital et requièrent un traitement adapté.

2. Historique :

Ennemi intime et permanent depuis la nuit des temps, le Staphylocoque fut démasqué à la fin du XIX^{ème} siècle, l'observation au microscope faisant apparaître des « amas de grains » dans le pus de furoncles. D'abord observé par Robert Koch en 1878, il fut reconnu par Louis Pasteur deux ans plus tard (Fasquelle, 1974 ; karthik, 2007). En 1881, Alexander Ogston isola la bactérie à partir d'abcès post-opératoires et reproduisit l'infection chez l'animal. ces amas furent à l'origine du nom qu'il lui donna, staphyle désignant la grappe de raisin en grec ; Ogston différencie ainsi *staphylococcus* de *streptococcus* (Spicer, 2003 ; Breche, 1988 ; Stephen et Haxkey, 2006). Et ce fut en 1884 qu'Anton rosenbach cultiva le staphylocoque in vitro et en décrivit la première espèce connue : *staphylococcus aureus*, ou bien staphylocoque doré, ainsi nommé en raison de la couleur des colonies obtenues en culture (Figure 3) (Avril et al., 1992 ; karthik, 2007).



Figure 3 . Coques de *Staphylococcus aureus* disposées en grappes de raisins micrographie électronique à balayage (Gx100) (Willey et al., 2010).

3. Positions taxonomiques et classification :

Le genre *Staphylococcus* appartenait à la famille des Micrococaceae qui comprenait trois autres genres : Micrococcus, Planococcus et *Stromatococcus*.

Ils partageaient un certain nombre de caractères généraux à titre d'exemple (coque à Gram positif, non sporulés...). Mais une étude a démontré que la composition chimique de la paroi et le pourcentage en guanine et cytosine (G + C %) du génome entre ces quatre genres sont très éloignés, donc leur regroupement dans une même famille n'est plus justifié. Cependant, la composition des séquences d'ARNr 16S a confirmé la nécessité d'un profond remaniement de cette famille (Federighi, 2005). Selon la classification de (Garrity et al., 2007), le phylum firmicutes est constitué de quatre classes : Clostridia, Mollicutes, Bacilli, Togobacteria. La classe des Bacilli est constitué de deux ordres : Bacillales et Lactobacillales, dont chacun est divisé en quatre familles ; *Staphylococcaceae* constitue la 4eme famille des Bacillales, celles-ci

comprend un seul genre : *Staphylococcus* (GC % 30-39 %). Cinquante espèces et sous espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus* (**Le Loir et Gautier, 2010**).

Ce genre est séparé (divisé) en deux groupes sur la base de la présence d'une coagulase, on distingue :

Les *Staphylocoques* à coagulase positive (**SCP**) dont le chef file est *Staphylococcus aureus*, mais qui comprend d'autre espèce comme *S.hyicus* ou *S.intermedius*.

Les *Staphylocoques* à coagulase négative (**SCN**) qui regroupent une vingtaine d'espèces.

Toutefois, certaines espèces classées dans le groupe des SCN peuvent produire une coagulase. C'est le cas de *S .delphini*, *S. schleiferi* et *S. lutrae* (**Hama, 2006**).

4. Classification phylogénique :

Il existe plusieurs types de classification de *S. aureus* dont la plus utiliser est la Classification de BERGEY :

Domaine : Bacteria ou Eubacteria.

Phylum XIII : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Familles : Staphylococcaceae.

Genre : *Staphylococcus*

Espèces : *Staphylococcus aureus* (**Camille, 2007**).

Staphylococcus aureus agent pathogène le plus répandu chez l'Homme, appartenant au groupe des cocci Gram positif pousse en amas et c'est l'une des bactéries non productrices de spores.

5. Habitat :

5.1. Réservoirs des *S. aureus* chez les humains et animaux :

S. aureus appartient à la flore commensale normale des animaux à sang chaud, principalement les mammifères (terrestres et marins), mais aussi les oiseaux. A la différence des autres espèces de Staphylocoques qui ont un hôte préférentiel, *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères. *S. aureus* colonise la surface et les glandes de la peau, ainsi que les muqueuses de ses hôtes. Chez l'homme, il est principalement présent au niveau du tractus respiratoire supérieur, en particulier dans les fosses nasales (**Kloos et al, 1976**), mais aussi au niveau du cuir chevelu et les mains (**Harvey et Gilmour 2000 ; Watson et al., 2006**). Dans la bouche, il coloniserait préférentiellement la surface des dents (**Smith et al., 2001**). Chez les vaches, il serait localisé principalement au niveau du mufle et de la peau des trayons (**Roberson et al., 1994**).

5.2. Dispersion et survie dans des environnements variés :

5.2.1. Environnement hospitalier :

S. aureus est l'un des principaux microorganismes responsables d'infections nosocomiales, en particulier celles consécutives à l'implantation de prothèses. La contamination est principalement d'origine humaine et les voies de transmissions identifiées sont liées au contact entre individus, aux aérosols, et au contact avec les surfaces contaminées. Des souches de *S. aureus* commensales de la peau ou de fosses nasales ou associées à une affection des voies respiratoires et excrétées par la toux ou les éternuements par le personnel

hospitalier où les patients peuvent contaminer l'air et le matériel chirurgical. La survie de souches cliniques de *S. aureus* à la dessiccation peut varier de trois à six mois en fonction des souches et des conditions environnementales (Farrington et al., 1992).

5.2.2. Aliments et leur environnement de production :

S. aureus peut être responsable de Toxi-infections alimentaires (TIA) liées à sa capacité à produire des enterotoxines. Il est notamment le principal germe incriminé dans les toxiinfections associées aux fromages au lait cru. La contamination des aliments peut être d'origine humaine, liée à la matière première (carcasses animales, lait cru) ou survenir au cours du procès, en raison de défauts d'hygiène du matériel de production (contamination croisée). (Farrington et al., 1992).

5.2.3. Environnement hydrique :

S. aureus serait capable de survivre dans l'eau pendant plusieurs mois, pourvu qu'il dispose d'un minimum de nutriments pouvant être apportés par des cellules sénescents (croissance cryptique). *S. aureus* a été détecté dans les effluents domestiques à l'entrée des stations d'épurations à des niveaux faibles de l'ordre de 150UFC/100g, mais à l'issue du processus d'épuration, il n'a pas été détecté dans les boues ni dans les aérosols produits lors de leur épandage en champ (Rusin et al., 2003). Lors de test de survie au niveau de la rhizosphère de blé en culture hydroponique, *S. aureus* a montré une faible capacité d'adhésion aux racines et n'a pas survécu au-delà de 7 jours (Morales et al., 1996).

6. Identification de l'espèce au sein du genre :

6.1. Caractères morphologiques :

Les Staphylocoques sont des coques immobiles, Gram positif et non sporulés,

isolés ou groupés en diplocoques ou, le plus souvent, en amas plan de plusieurs éléments (du grec staphylo, grappe de raisin), diamètre moyen 0,8 à 1 µm. On y trouve chez peu de souches la présence de capsule visible en microscope optique en présence d'encre de chine. Mais les souches peuvent perdre leur capsule après culture. En revanche, la majorité des souches isolées dans les infections humaines et animales produisent des polyosides capsulaires qui forment des microcapsules non visibles en microscope optique **(Figure 4 et Tableau 4) (Gaillard et al., 1995 ; Federighi, 2005).**

6.2. Caractères culturels :

S. aureus se cultive facilement sur des milieux ordinaires, en aérobiose comme en anaérobiose ; sur milieu solide, il forme des colonies lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3 mm, bombées, opaque et parfois élabore un pigment caroténoïde qui donne aux colonies une coloration jaune ou orange (d'où Staphylocoque doré) d'intensité variable selon les souches. En milieu liquide, il donne un trouble homogène. Sur le plan nutritif, il est peu exigeant (acide nicotinique et vitamine B1 indispensables) et tolère de grandes variations de conditions de croissance **(Bourgeois et al., 1996 ; Guiraud et Rosec, 2004).** Considéré comme étant un germe mésophile, il se cultive dans des températures de 7°C à 48°C avec un optimal de 30°C à 37°C et un pH de 4,2 à 9,3 avec un optimal de 7 à 7,5 **(Le Loir et al., 2003).**

S. aureus est un germe Halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentration élevée de chlorure de sodium (NaCl) jusqu'à 20 %. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hyper salé de Chapman pour isoler le Staphylocoque d'un prélèvement poly microbien. Il tolère une activité de l'eau (aw) exceptionnellement basse pour une bactérie, puisque sa croissance

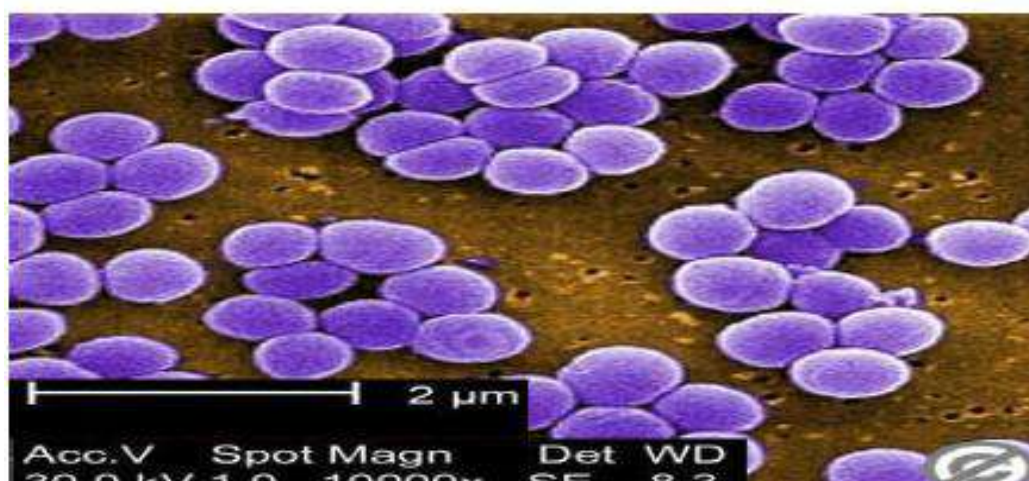


Figure 4. Aspect morphologique de la souche de *Staphylococcus aureus* observée au microscope électronique (Leyral et Vierling, 2007).

Tableau 4. Principaux caractères des Staphylocoques (Camille, 2007).

Morphologie.	Cocci sphérique de 0,5 à 1 μ m de diamètre : -en amas (grappes de raisin) : <i>S. aureus</i> ; -en paires, amas irréguliers : autre espèces
Coloration de Gram	Gram+.
Mobilité	Immobilés (mouvements browniens).
Type respiratoire	Anaérobies facultatifs en général.
Oxydase	Positive.
Catalase	Positive.
Conditions de culture	-Température optimale à 37°C ; croissance à 10°C et à 45°C selon les espèces. -pH optimal de 7,2 à 7,4.
Caractères spécifiques	Halotolérants : 6,5 % de NaCl.
Milieux de culture d'usage Courant	Gélose nutritive, gélose trypticase soja ...
Milieux d'isolement sélectifs	Gélose de Baird-Parker ; Milieu de Chapman ...
Milieu d'enrichissements Sélectifs	Bouillon de Giolitti-Cantoni.

est inhibée à partir de valeur comprises entre 0,95 et 0,91 et qu'il est capable de survivre sans se multiplier à des valeurs proches de 0,85 (**Federighi,2005**).

Sa croissance peut être inhibée par la présence d'une flore de compétition car il supporte mal la concurrence avec les lactobacilles acidifiants, les streptocoques et les entérobactéries. La pasteurisation, réduit cette dernière et favorise donc sa multiplication (**Arnal, 2003**).

6.3.Caractères biochimiques :

Les Staphylocoques produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ainsi, les souches sont : indole -, acétone +, uréase +, réduisant le tellurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (**Larpen, 2000 ; Federighi, 2005**).

Le critère de base de leur classification est la production d'une thermonucléase (DNase) et d'une coagulase. Il ya trois espèces productrices de coagulase : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, et *Staphylococcus hyicus*, produit ainsi de l'hémolyse bêta (caractéristique utile pour identifier un Staphylocoque). L'espèce *S.aureus* peut produire de nombreuses enzymes : protéases, lipases, coagulases liées ou "Clumping-facteurs", coagulases libres (**Bourgeois et al., 1988**).

Les genres *Micrococcus* et *Staphylococcus* sont facilement différenciables grâce à leur type respiratoire. Ce genre de bactérie fermente sans produire de gaz, de nombreux hydrates de carbone dont le glucose, saccharose, glycérol (**Michael et al., 2007**).

7. Génétique de *S. aureus* :

7.1. Variabilité génomique :

S. aureus est une espèce réputée « plastique » du point de vue génomique. Elle tire d'ailleurs de cette plasticité (ou variabilité) génomique son extraordinaire adaptabilité à divers environnements et surtout ses capacités d'échappement aux défenses de l'hôte et de résistance aux traitements antibiotiques. Toutes les souches séquencées de *S. aureus* contiennent un seul chromosome, dont la taille varie de 2.7 à 2.9 Mb. Une première source de variabilité entre les souches provient de la présence d'éléments extra-chromosomiques, à répllication autonome, les plasmides. Ceux-ci sont très souvent porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques. La deuxième source de variabilité provient de régions chromosomiques entières acquises ou perdues par un ou plusieurs génomes de l'espèce. Chez *S. aureus*, l'alignement multiple de cinq génomes représentatifs de l'espèce (Mu50, MW2, COL, RF122, et MRSA) indique que le squelette représente en moyenne 84% du génome, et au sein de ce squelette les séquences sont à 98% identiques, prises deux à deux. Jusqu'à présent, l'analyse des séquences de *S.aureus* montrait que les souches n'avaient subi aucune grande inversion les unes par rapport aux autres. Une seule étude à cependant démontré, l'existence, d'une telle inversion chromosomique différenciant deux souches de *S.aureus* résistantes a la méticilline et dérivant très probablement un ancêtre commun (**Schukla et al., 2009**).

7.2. Support génétique :

Il excite un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des ilots de pathogénécité (**Le Loir, 2010**) in (**Aouati, 2009**). Ils sont également régulés par des gènes différents, le plus étudié est le gène *agr* (accessory gene regulator). La synthèse des facteurs de virulence est biphasique. Lorsqu'il y'a présence d'une faible densité cellulaire

(faible activité *agr* au début d'une infection), la bactérie produit des facteurs protéiques tels que les MSCRAMMs et d'autres adhésines capables de promouvoir la colonisation. En revanche, à une forte densité cellulaire (forte activité *agr*) la bactérie réprime les gènes codants pour les facteurs de colonisation et initie la sécrétion d'une variété de toxines et la sécrétion d'enzymes, qui sont impliquées dans la destruction du tissu (**Veh, 2014**). Cette activation séquentielle est sous la dépendance du système de régulation de la virulence appelé *agr* (**Bronner et al., 2004**). En effet, une bactérie dont le gène *agr* est inactivé, entraîne une diminution significative de la virulence de la bactérie (**Lowy, 1998**).

8. Pouvoir pathogène :

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* est relié à l'expression des gènes de virulence portés par le chromosome. Des études scientifiques ont prouvé que chez l'espèce de *S. aureus* qui possède des facteurs structuraux responsables de cette activité pathogénique, les facteurs de virulences tels que la capacité de sécréter les toxines, le pouvoir invasif et la capacité d'adhésion et la production d'enzyme hydrolytique sont les facteurs qui déterminent le pouvoir pathogène. (**Becher et al., 2001 ; Khambaty et al., 1994**)

8.1. Enterotoxines :

Les enterotoxines Staphylococciques (SE) appartiennent à la famille des exoprotéines phylogénétiques produites par certaines souches de *S. aureus* et de *Streptococcus pyrogènes*. Cette famille de protéines présente des propriétés biologiques communes : pyrogénicité, activation des lymphocytes T, mais les SE sont avant tout impliquées dans les toxi-infections alimentaires (**Becher et al., 2001 ; Khambaty et al., 1994**).

8.1.1. Caractéristiques principales :

Les SE sont des petites protéines de PM compris entre 27.8 et 34.1KDa, sécrétées dans le milieu et solubles dans l'eau et les solutions salines. Des études sur les SE ont débutées par l'analyse de souches de *S. aureus* impliquées dans des toxi-infections alimentaires. A ce jour, 19 SE différentes ont été identifiées. Elles partagent des similarités en termes de structures et de séquences peptidiques allant de 26% (la plus faible, entre SEC1 et SEI ou SEM) à 68 % (la plus forte entre SEB et SEC1). Les enterotoxines Staphylococciques A, B, C, D et E représentent les SE « classiques », elles sont bien caractérisées et leur implication dans des cas d'intoxication alimentaires a été démontrée (**Johns, et Khan, 1988 ; Bayles et al., 2000**). Le sérotype C est subdivisé en groupes C1, C2, C3, C bovine et C ovine classés sur la base de différences d'activités superantigéniques et en fonction de l'hôte auquel elles sont associées (**Bergdoll et al., 1965 ; Marr et al., 1993**). Elles sont riches en lysine, acides aspartique, acide glutamique et tyrosine. Elles sont très stables, résistantes à la plupart des enzymes protéolytiques telles que la pepsine ou la trypsine et gardent ainsi leur activité après ingestion, dans le tube digestif. Elles résistent aussi à la chymotrypsine, rénine et la papaïne (**Bergdoll, 1983**).

Les enterotoxines de *S.aureus* n'agiraient pas directement sur les cellules de la muqueuse intestinale mais pourraient intervenir sur les terminaisons nerveuses de tube digestif. Si cela est confirmé, ce ne seraient pas des enterotoxines mais des neurotoxines (**Tableau 5**) (**Michel, 2005**).

Tableau 5. Propriétés des enterotoxines A à J de *Staphylococcus aureus* (Michel, 2005).

Caractéristiques	Enterotoxines								
	A	B	C1	D	E	G	H	I	J
Masse moléculaire (kDa)	27,1	28,3	27,5	26,4	26,4	27,0	25,2	24,9	28,6
Point isoélectrique	7,3	8,6	8,6	7,4	7,0	5,7	5,7	8,6	8,6
Nombre d'acides Aminés	233	239	239	228	230	230	218	218	245
Présence d'une boucle cystine	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Réponse émétique chez le singe	+	+	+	+	+	+ faible	+	+ Très faible	ND2
Localisation du Gène	C	C ou P	C	P	C	C	C	C	P

1 : Subdivisée en 3 sous classes, C1, C2, C3 et en variant bovin, ovin et canin ; 2 : Non déterminé ; 3 : C : chromosome, P : plasmide.

8.1.2. Eléments génétiques des enterotoxines :

Les gènes spécifiant les SE ont des supports génétiques divers dont la caractéristique commune est d'appartenir à un élément génétique mobile. Ils peuvent être portés par des plasmides (SEB, SED, SEJ) (Bayles et Landolo ; 1989 Shalita et al., 1977 ; Zhang et al., 1998), par des phages (tempéré pour SEA ou déficient pour SEE) (Betley et Makalanos, 1985 ; Coleman et al., 1989 ; Couch et al., 1988), par des îlots génomiques (seb, sec, seg, seh, sei, sek, sel, sem, sen, seo, sep et seq). Le gène sec peut également se trouver sur un plasmide ou un îlot de pathogénécité selon la provenance de l'isolat (Fitzgerald et al., 2001). La localisation de ces gènes sur des éléments génétiques mobiles peut entraîner un transfert génétique horizontal entre les souches de *S. aureus*.

Par exemple, le gène *seb* est situé sur le chromosome chez certains isolats cliniques (Shafer et Iandolo, 1978) alors qu'il a été localisé sur un plasmide chez d'autres souches de *S. aureus* (Shalita et al., 1977).

a. Effet émétique :

Il impliquerait un processus dont les premières étapes restent inconnues. Les enterotoxines se fixeraient sur des récepteurs abdominaux qui n'ont pas encore été identifiés. Une hypothèse est que les vomissements surviendraient secondairement en réponse à une inflammation induite par l'interaction des enterotoxines avec ces récepteurs. Une stimulation non spécifique de cellules inflammatoires dont les mastocytes par les enterotoxines, a été évoquée. Elle pourrait faire intervenir un neuropeptide. Par contre les étapes finales du processus sont mieux connues : un influx nerveux est transmis par les nerfs vagues et sympathiques active le centre vomitif du cerveau, ce qui déclenche les vomissements violents observés lors d'intoxications alimentaires dues à *S.aureus* (Michel, 2005).

b. Propriété super-antigénique :

S. aureus explique les symptômes observés lors des cas de TSS et impliquant une formation d'enterotoxines *in vivo* mais peut-elle expliquer tout les symptômes (inflammation de la muqueuse intestinale, et diarrhée) observés lors d'intoxication alimentaire ? Cette hypothèse est actuellement remise en cause. En effet, il est probable que les enterotoxines présentes dans un aliment aient une action systémique limitée. Même si elles parviennent à franchir la barrière intestinale et à passer dans la circulation sanguine, elles sont rapidement éliminées par les reins si bien qu'une concentration sanguine suffisante ne peut vraisemblablement pas être atteinte (Le Loir, 2010).

c. Toxines du syndrome du choc toxique (TSST-1) :

Ce sont des protéines de faible poids moléculaire qui résistent à la chaleur ainsi qu'aux enzymes digestives. Cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85 % des sujets adultes. Comme les enterotoxines, elle a un effet pyrogène et est superantigène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs population lymphocytaire, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et béta) responsables de la symptomatologie du choc Staphylococcique (fièvre, desquamation, hypotension ...) (Hirsh et Biberstein, 2004).

8.2. Facteurs de virulence autre que les enterotoxines :

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et douées soit d'une activité toxique, soit d'une activité enzymatique (Figure 5), (Tableau 06), (Le Minor et Veron, 1990).

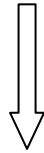
8.2.1. Enzymes :

8.2.1.1. Coagulase libre :

S. aureus fabrique une substance capable de coaguler en quelques heures le plasma humain ou celui du lapin. Cette substance est thermostable fabriquée pendant la phase exponentielle de croissance du germe ; sa synthèse nécessite la présence d'acide glutamique, d'histidine et de lysine. C'est une protéine de PM 5 000 à 40 000, toujours produite par les souches de *S. aureus*, c'est la coagulase. Elle active la prothrombine en thrombine. La thrombine ainsi activée sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. C'est la base du test de la coagulase en tube. C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques, en les protégeant des anticorps opsonisants et de la phagocytose. Elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (Le Loir et Gautier, 2010).

Protéines de surface

(Phase exponentielle)



Protéines sécrétées

(Phase stationnaire)

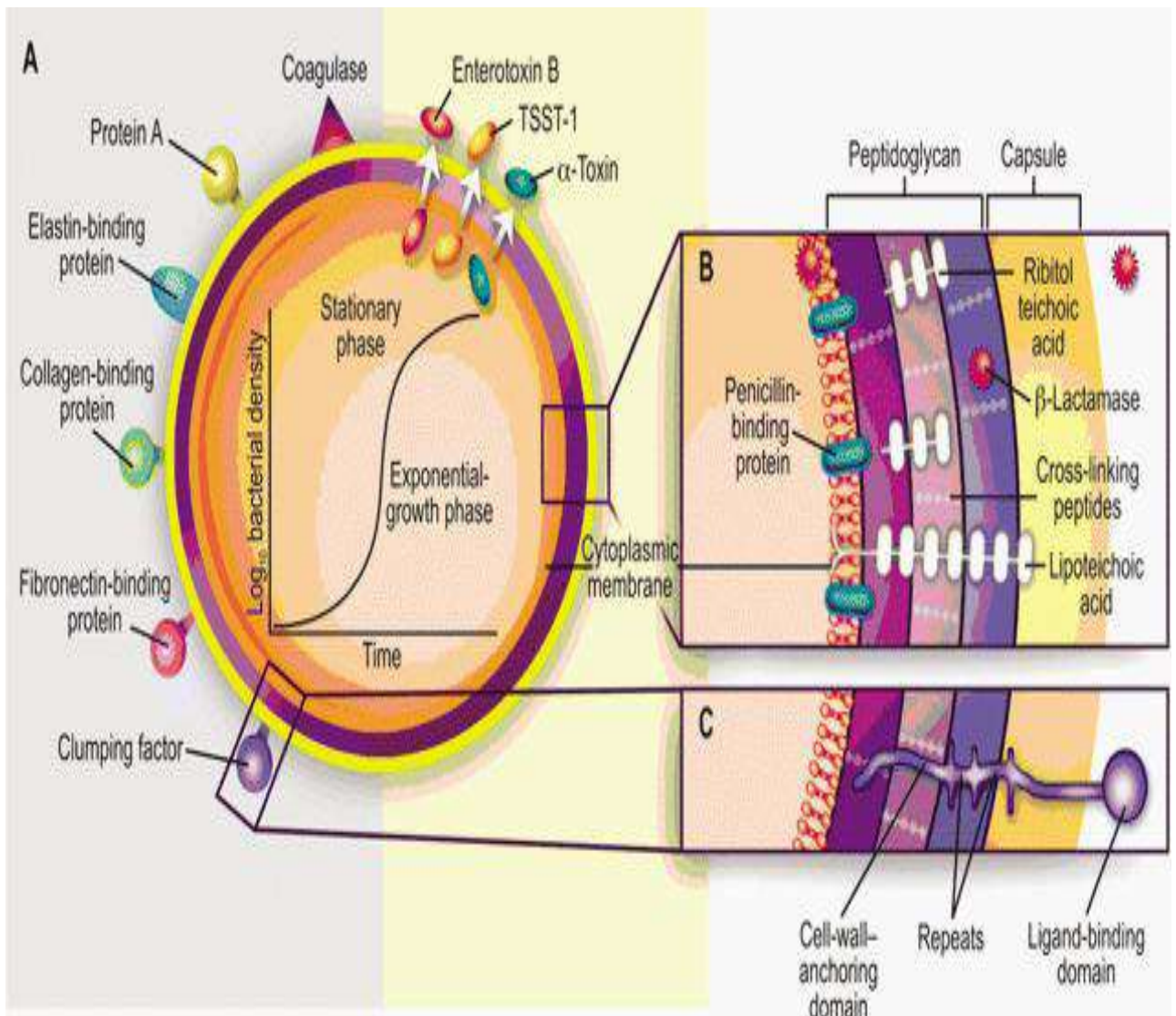
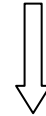


Figure 5. Facteurs de virulence de *S.aureus* (Gordon et Lowy, 2008).

Tableau 06. Facteurs de pathogénicité (virulence). (Noël, 2006).

Coagulase	Coagule le plasma et favorise donc l'isolement de l'infection dans un cocon protecteur.
Hyaluronidase	Hydrolyse l'acide hyaluronique des tissus conjonctifs
Phosphatase	Hydrolyse les différentes molécules phosphatées cellulaires
Gélatinase	Hydrolyse les collagènes tissulaires.
Hémolysine α	Détruit les cellules probablement en "perçant" par un mécanisme inconnu la membrane (DL50 40 μ g par kg de souris).
Leucocidine	Tue les granulocytes et les macrophages par fixation sur la membrane (souches) provoquant des furoncles ou des pneumonies).
« Entérotoxines » (immunotoxines)	Responsable des empoisonnements alimentaires probablement par un mécanisme de "super-antigènes" Elles sont thermorésistantes (à 100°C).
TSST1	Toxine de choc <i>staphylococcique</i> de même nature que les entérotoxines et pouvant provoquer un grave choc superantigénique
Exfoliatine	Dissocie la couche granulaire de l'épithélium. Elle est responsable de lésions bulleuses. Le mécanisme d'action est superantigénique d'une part, et activateur probable d'une protéase clivant les desmosomes reliant les cellules granuleuses de l'épiderme
Protéine A	Provoque la fixation des IgG par le fragment Fc et isole donc les <i>Staphylocoques</i> de l'action du site anticorps, est cytotoxique, et déclenche la réaction inflammatoire.
Récepteur au fibrinogène (Coagulase liée ou "clumping factor")	Favorise la fixation des bactéries sur les caillots ou sur les tissus recouverts de fibrinogène.

8.2.1.1. Coagulase liée ou « Clumping factor »:

IL s'agit d'une substance fixée à la surface de la cellule, diffusible dans le milieu après autolyse, qui réagit directement avec le fibrinogène ou des monomères solubles de fibrine. Cette réaction entraîne l'agglutination des *Staphylocoques* en raison du caractère dimérique du fibrinogène natif (Le Minor et Veron, 1990).

8.2.1.3. Nucléases :

Il existe des désoxyribonucléases et des ribonucléases ; leur action s'exerce à pH alcalin en présence de calcium. Dans les différentes espèces du genre *Staphylococcus*, la production de désoxyribonucléase thermolabile est très répandue ; par contre, seul *S.aureus* produit une enzyme thermostable (**Léon Le Minor et Michel Véron, 1982**).

8.2.1.4. Désoxyribonucléase thermostable :

C'est une endonucléase, résistante aux températures élevées (15 mn à 100°C). Facteurs de destruction des noyaux cellulaires, la DNase thermostable est spécifique de *S.aureus*. Ces nucléases interviennent aussi dans la formation des lésions (**Guiraud et Rosec, 2004 ; Le Loir et Gautier, 2010**).

8.2.1.5. La catalase :

C'est une enzyme associée à la paroi bactérienne qui protège la bactérie des effets létaux du peroxyde d'hydrogène, produit par les phagocytes, qui convertit ce dernier accumulé dans la cellule de la phagocytose en molécules d'eau et d'oxygène (**Berche et al., 1988**).

8.2.1.6. Protéolysines :

De nombreuses enzymes protéolytiques ont été isolées et purifiées chez *S. aureus* : élastase, gélatinase, protéase (**Léon le Minor et Véron, 1982**).

8.2.1.7. Protéases :

Elles hydrolysent certaines protéines, telle que la Staphylokinase et contribue à la destruction du caillot et à la formation de micro embolus bactériens, responsable de métastase septiques (**El Kouri, 1998**).

8.2.1.8. Lipases :

L'une des façons dans laquelle les cellules hôtes répondent à une infection est la production des acides gras et des lipides, qui renferment des petits trous dans la membrane bactérienne, alors que *S.aureus* produit des enzymes appelées lipases qui détruisent ces acides gras avant de causer des dommages au niveau de la membrane bactérienne ainsi elle favorise sa survie (Tally, 1999) in (Rebiahi, 2012).

8.2.1.9. Hyaluronidase :

C'est une enzyme thermolabile (80 kDa), agissant à pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif dont elle diminue la viscosité, ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des Staphylocoques dans les tissus (Fiquet, 2009).

8.2.1.10. Beta-lactamase :

C'est une enzyme située dans la membrane cytoplasmique responsable de l'inactivation des β -lactamines et joue le rôle dans la résistance des souches à ces antibiotiques (Collomb, 2011).

8.2.1.11. Lysozyme :

S.aureus produit un lysozyme capable de lyser la paroi de cellules bactérienne ; sa production serait un trait caractéristique de l'espèce (Collomb, 2011).

8.3. Toxines Hémolysines :

Les souches de *S.aureus* ont un pouvoir hémolytique qui est lié à la production de toxines protéiques, au nombre de quatre (α , β , γ , δ). Elles sont exprimées surtout vers la fin de la phase exponentielle de croissance in vitro, considérée comme la phase de dissémination et de destruction des tissus in vivo. A ce stade de croissance, l'hémolysine permet de rendre disponible certains nutriments (fer,

acides aminés et autres) pour les bactéries. Les souches productrices d'hémolysine sont discernables par la formation d'une zone de lyse claire sur milieu sang (**Fredeghiri, 2005**).

α -hémolysine : toxine α , c'est une exotoxine protéique de PM de 33 kDa, thermostable, antigénique. Elle est la plus fréquente chez les souches d'origine humaines (90%) que chez les souches animales (50 à 60%). Elle peut détruire les neutrophiles ou bien diminuer leur capacité à attaquer la bactérie. Cette toxine possède des propriétés hémolytiques, dermonécrotiques et létales pour les plaquettes sanguines, les monocytes et les cellules épithéliales. Elle forme des pores dans la membrane cellulaire des cellules humaines permettant un passage d'ions à travers celle-ci, et provoquant donc une altération de l'équilibre des ions chez l'hôte, provoquant la lyse de la cellule en favorisant la dissémination des bactéries à distance. En causant ainsi des dommages à la cellule, elle déclenche la production de cytokines et contribue ainsi au choc toxique lors de l'infection (**Bhakdi et Tranum, 1991**).

β -hémolysine : la toxine bêta, elle est très fréquente chez les souches de *S. aureus* d'origine animale (de 75 à 100%) que chez les souches humaines (10 à 50 %). Il s'agit d'une phospholipase de type C, et donne une hémolysine accrue en présence de souches de *Staphylococcus agalactiae* (**Avril et al., 2003**). Elle agit sur un grand nombre de cellules incluant les globules rouges, les globules blancs et les fibroblastes. Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition, car elle est de type « chaud –froid » : les érythrocytes soumises à son action à 37°C ne sont pas lysées sauf si on les refroidit à 4°C. Le rôle pathogène de cette toxine n'est pas précis, car elle est instable à l'état purifié et ses effets cytopathiques sont mal connus (**EL Kouri, 1998**).

δ- hémolysine : toxine δ , c'est une protéine de PM de 103 KDa, composée de sous unités, elle est thermostable, faiblement antigénique, elle cause des dommages sur la membrane d'un certain nombre de cellules des mammifères. Elle a une activité hémolytique, mais bien qu'elle a de nombreux effets cytotoxiques, son importance dans l'étiologie des maladies liées à *S. aureus* reste assez peu claire (**Le Minor et Veron, 1990 ; Avril et al., 2003**). Elle agit comme un détergeant sur les membranes biologiques, sans spécificité mais avec une certaine rapidité, active notamment sur les érythrocytes de lapins, de chevaux, de l'homme et de cobayes, les macrophages et les granulocytes . Elle inhibe aussi la respiration mitochondriales et la phosphorylation, mais sa toxicité in vivo parait douteuse car elle est complètement inhibée par le sérum sanguin, le fibrinogène, les globulines sériques et les phospholipides (**Bhakdi et Tarnum, 1991**).

γ-hémolysine : la toxine gamma, antigénique chez l'homme qui est formée de deux constituants agissant en synergie dont le cholestérol inhibe leur action. Elle stimule la dégranulation des phagocytes, ce qui augmente les dommages tissulaires liés à la réponse inflammatoire (**Labrecque, 2007**).

9. Résistance aux antibiotiques des *S. aureus* :

La résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle, il ne cesse d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. Ce problème de santé publique touche à la fois la santé animale et la santé humaine. L'histoire des résistances bactériennes commence avec l'utilisation des sulfamides dans les années 30 (**Chaalal , 2013**).

Au début, il s'agissait surtout d'infections à *staphylocoques* qui répondaient à la pénicilline. Peu après, les *staphylocoques* résistants à la méticilline apparurent et

leur fréquence augmenta de 2% en 1957 à 14% en 1987 et à plus de 40% en 1999. En 1997 apparut un *S. aureus* une résistance intermédiaire à la vancomycine et le-- Centre for Disease control -- pense que l'arrivée d'infections à *S. aureus* résistant au glycopeptides est inévitable. A la fin des années 1950 et au début des années 1960, *Staphylococcus aureus* devient un organisme pathogène nosocomial (acquis à l'hôpital) entraînant une morbidité et une mortalité considérable. Depuis lors, des pénicillines semi-synthétiques, résistantes à la pénicilline, se sont avérées être des agents antimicrobiens efficaces dans le traitement d'infections *Staphylococciques*. Malheureusement, des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA) sont apparues dernièrement créant un problème nosocomial majeur. Un moyen par lequel les *Staphylocoques* deviennent résistants est l'acquisition d'un gène chromosomique (*mecA*) qui encode une cible protéique alternative qui n'est pas inactivée par la méthicilline. La plupart des souches sont résistantes à plusieurs des agents antimicrobiens à noyau β -lactame, y compris la dernière génération de céfalosporine. Des infections graves par des souches résistantes à la méthicilline ont été le plus souvent traitées avec succès à l'aide d'un antibiotique plus ancien, potentiellement toxique ; la vancomycine. Cependant, des souches d'*Enterococcus* et de *Staphylococcus* sont devenues récemment résistantes à la vancomycine (**Prescott et al., 2007**).

Partie 2 : Méthodologie

1. Objectifs:

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antimicrobienne des extraits des plantes ayant des vertus thérapeutiques dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifique d'aromathérapie. Ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques. Ces effets antibactériens nous ont conduits à poser la question suivante :

Est-ce que l'utilisation des extraits de certaines plantes médicinales autochtones récoltées dans certaines régions du pays peut avoir un effet antimicrobien à l'égard de certains germes responsables des intoxications alimentaires.

Pour cela, nous sommes proposés d'essayer de connaître le comportement in vitro d'une souche bactérienne de référence dont *S. aureus* responsable des intoxications alimentaires vis-à-vis des inhibiteurs de croissance tels les polyphénols, et bien d'autres composés bioactifs contenues dans une plante médicinale autochtone poussant à l'état sauvage dans certaines régions du pays et très largement utilisée en médecine traditionnelle par la population à savoir le *Laurus nobilis L.*

D'une façon générale les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale s'articule autour de 2 points essentiels :

1. Procéder à une extraction par macération des principaux composés bioactifs de la plante par usage d'un solvant polaire à savoir le méthanol.
2. Suivre les effets antimicrobiens de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis L.* sur le germe de référence *S.aureus*.

2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de feuilles d'une espèce médicinale, en l'occurrence le *Laurus nobilis* L. Cette espèce a été choisie, surtout, à cause de leur disponibilité et leur utilisation courante en médecine traditionnelle et dans le domaine agro-alimentaire.

3. Matériel de laboratoire utilisé

- **Verrerie** : béchers, tubes à essais, pipette pasteur, fioles, erlenmeyers, flacons, entonnoir, verre de montres.
- **Autres matériels** : papier filtre stérile, écouvillons, anse à platine, disques en papier stériles (6mm), bec benzène, boîtes Petri.
- **Milieux de culture**: milieu Chapman, gélose Muller Hinton, bouillon nutritif, bouillon Muller Hinton.
- **Appareils**: balance, rota vapeur, autoclave, étuve, plaque chauffante, bain marie, spectrophotomètre.
- **Micro-organisme** : la bactérie ayant servi dans l'étude est *Staphylococcus aureus*, qui est une souche de référence (ATCC 33862) prévenant de l'institut pasteur Alger-Algérie.

4. Région de prélèvement :

Les feuilles constituant la partie aérienne de laurier de (*Laurus nobilis*) objet de l'étude ont été prélevées dans la région de Mostaganem au mois d'avril 2021.

La wilaya de Mostaganem est située sur le littoral Ouest du pays. Elle dispose d'une façade maritime de 124 km. Le Chef lieu de la wilaya est située à 365 km à l'Ouest de la capitale d'Alger (**Figure 6**).

La wilaya de Mostaganem est limitée:

- A l'Est par les Wilayas de Chlef et Relizane ;
- Au Sud par les Wilayas de Mascara et Relizane ;
- A l'Ouest par les Wilayas d'Oran et Mascara ;
- Au Nord par la Mer Méditerranée (**Andi, 2013**).



Figure 6. Région de de prélèvement de *Laurus nobilis* L.





Le climat de Mostaganem se caractérise par un climat semi aride en hiver et tempéré en été ; avec une pluviométrie qui varie entre 350 mm sur le plateau et jusqu'à 400 mm sur les piémonts du Dahra (**Toudert ; 2000**).

5. Traitements préliminaire du matériel végétal :

Le matériel végétal objet de l'étude le *laurier noble* (*Laurus nobilis*) a été récolté le mois d'avril 2021 dans la wilaya de Mostaganem. Seule la partie aérienne constituée de (feuilles) a été collectée (en début de matinée afin que le matériel végétal soit le plus frais possible), et transportées immédiatement au laboratoire.

L'identification de la plante est basée sur l'aspect morphologique des feuilles (forme) et de la tige,.....etc; en comparaison avec des ouvrages de **Bruneton (2001) et Stursa (2001) (Tableau 7)**.

Tableau 7. Récoltes et préparation de *laurier noble* (*Laurus nobilis* L.).

Nom vernaculaire	<i>Laurier Noble</i>
Nom scientifique	<i>Laures Nobilis</i>
Lieu et date de récolte	-Wilaya de Mostaganem -4 avril 2021
Stations de prélèvement	
Etat frais	
Etat sec	
Etat poudre	

Les feuilles de laurier noble (*Laurus nobilis*) ramenées au laboratoire ont été tout d'abord soumises à séchage pendant trois semaines à l'air ambiant.

La matière séchée de laurier noble (*Laurus nobilis*) a été ensuite broyées et tamisées dans un tamis afin d'obtenir une poudre très fine de même calibre. La poudre a été conservée jusqu'au moment de l'utilisation dans des bocaux hermétiques conservés à sec et à l'abri de la lumière.

6. Extraction des composés bioactifs :

Selon **Almas et Al-Bagieh (1999)** et **Almas (2001)**, les extraits à l'eau de *Salvadora persica* arrivent à agir en général sur la croissance de certaines bactéries appartenant au genre *Staphylococcus aureus* à des taux d'extractions de 10g de matière végétale. Dans 100ml d'eau.

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans la plante testée on a opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par **(Sultana et al., 2009)**. Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage de méthanol comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur des prises d'échantillons de 10 g en triples répétitions de matière végétale broyée. Chaque échantillon de broyat de matière végétale de laurier a été mélangé avec 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant / eau, v / v), **(Figure 7, 8 et 9)**.



Figure7. Prise d' Echantillons de 10 g. Figure 8. Macération des échantillons Figure 9. Filtration de l'extrait

L'extraction par macération de chaque mélange a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction favorisera 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.

L'extrait méthanolique obtenu à été filtrée en utilisant un papier filtre Whatman N°3 ayant une porosité de $0,3\mu\text{m}$ et débarrassé du solvant par évaporation sous vide à $45\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La solution obtenue à été donc évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rota vapeur (Figure .10) qui permet d'éliminer le solvant sous vide.

Le principe du rota vapeur est basé sur la distillation du macérât sous vide. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant (**Rihane et Benlahreche, 2013**) :

- 1-Placer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation ;
- 2- Mettre ensuite le ballon d'évaporation sous rotation ;
- 3- Ouvrir le robinet d'eau froide reliait au réfrigérant ;

- 4- Fermer ensuite la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et faire le vide à l'intérieur de l'appareillage à l'aide d'une trompe à eau .
- 5- Si l'évaporation n'est pas assez rapide, plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât à évaporer dans le bain marie d'eau chaude ;
- 6- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant ;
- 7- Ouvrir la vanne de fermeture pour remettre la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif ;
- 8- Enfin, couper l'eau du réfrigérant et de la trompe à eau. **(Figure 11,12)**



Figure 11. Evaporateur rotatif.



Figure 12. Solution de travail stockagée à 4 °C.

L' extrait pur aqueux riche en composé bioactifs récupéré à été enfin dilué à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement **(Figure 10)**.

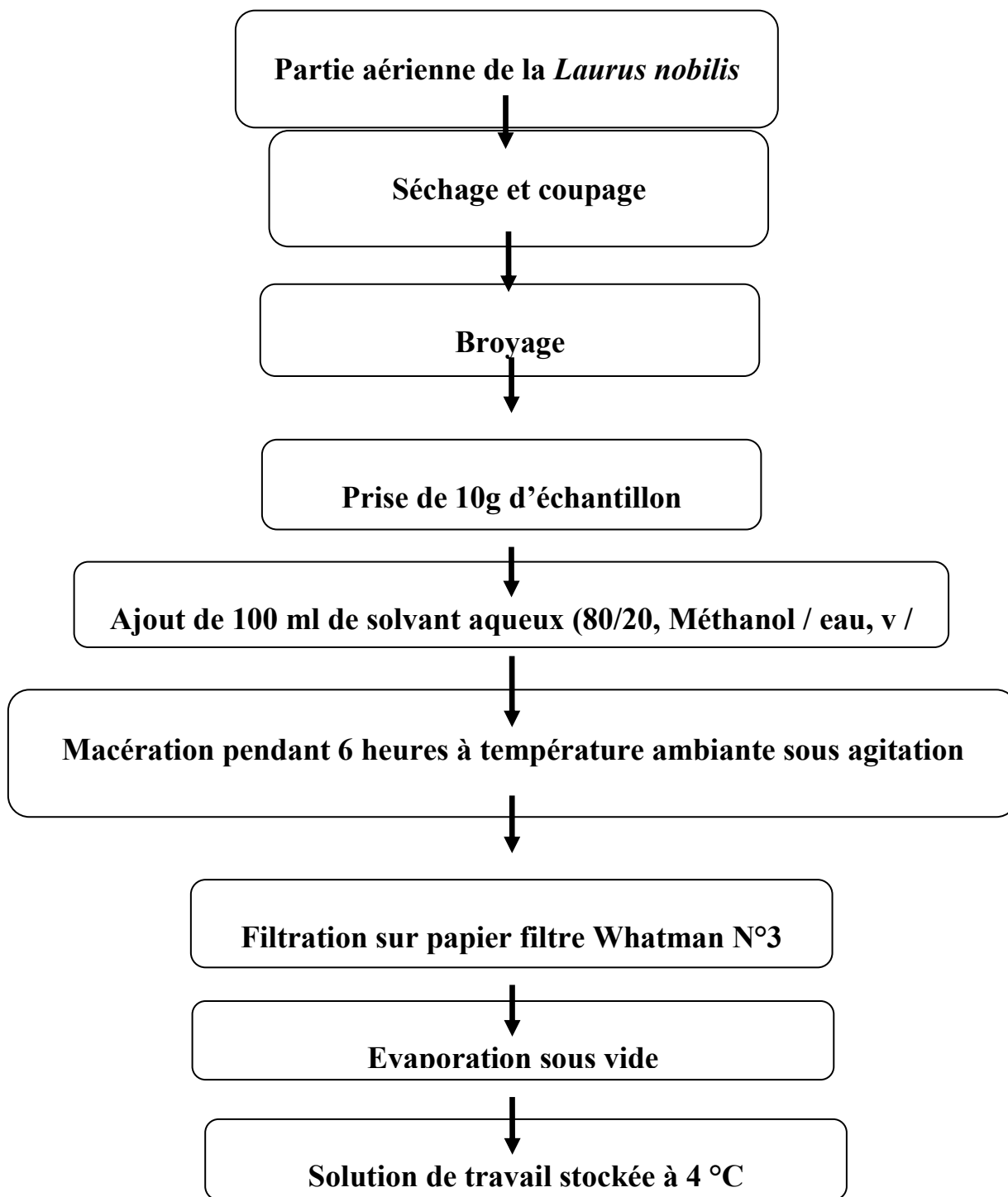


Figure 10. Diagramme d'extraction des principes composés phénoliques de *Laurus nobilis* (Sultana et al., 2009).

7. Etude des effets antimicrobiens des extraits de *Laurus nobilis* :

7.1. Activation des inocula microbiens :

L'étude a concerné la souche pure de *Staphylococcus aureus* connue comme étant l'espèce microbienne la plus impliquée dans les intoxications alimentaires et responsables des nombreuses infections nosocomiales dans les hôpitaux.

L'espèce bactérienne a été tout d'abord activée. Une prise de 0.25 g de la souche lyophilisée conservée au froid à 4 °C, est au tout d'abordensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 03 heures. (Figure 13)

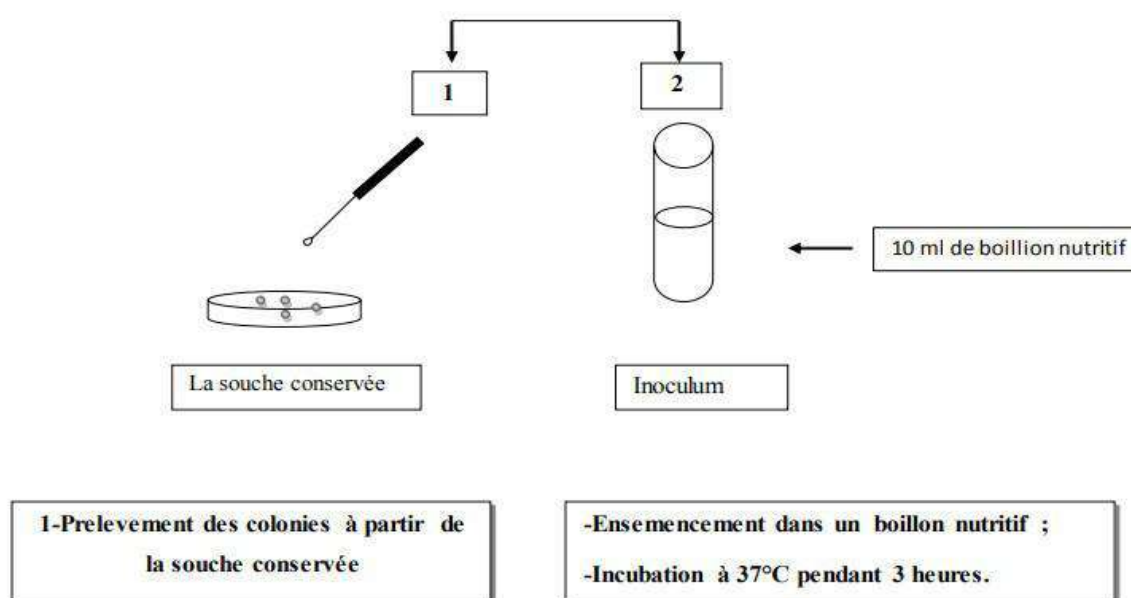


Figure 13. Méthode d'Activation de la souche bactérienne étudiée

7.2. Méthode de contact direct :

Une colonie issue d'une culture jeune de l'espèce microbienne a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile. Elle a été 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, des dilutions décimales isotopiques croissantes dans l'eau physiologique allant à 10^{-4} ont été effectuées.

Des prélèvements de 01 ml de la dernière dilution décimale ont été ensuite individuellement ajoutés à 09 ml de chaque solution d'extrait de la plante testée diluée à l'eau distillée, respectivement, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%.

Le mélange des solutions ont été enfinensemencés en triple essais (03 boîtes de Pétri) chacune en surface à raison de 0.2 ml sur le milieu Chapman spécifique de croissance de l'espèce microbienne testée. La lecture du nombre de colonies développées a été effectuée après incubation du milieu ensemencé à 37°C pendant 24 à 48 heures (Bourgeois et Leveau, 1980) (Figure 14).

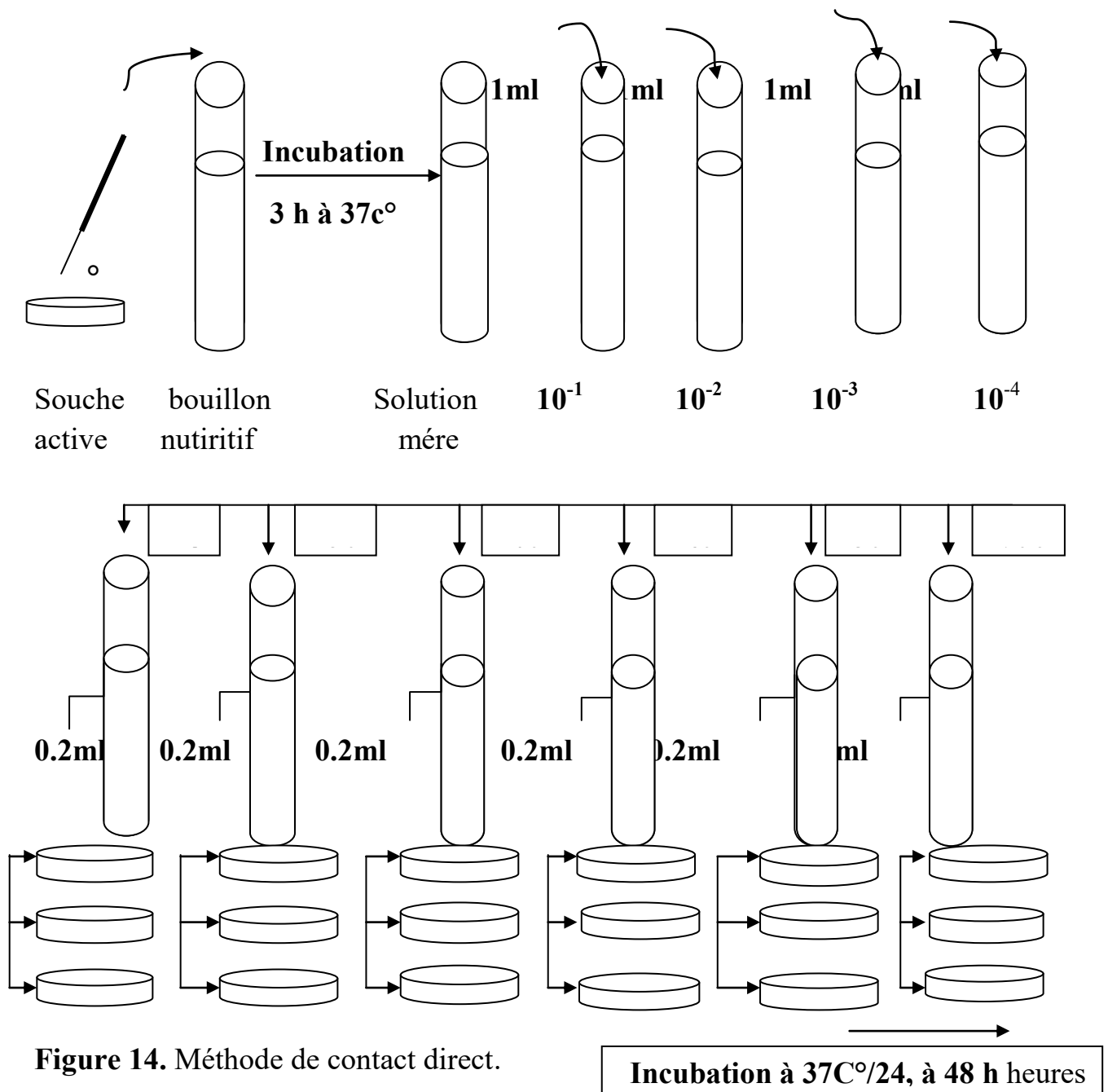


Figure 14. Méthode de contact direct.

Incubation à 37°C/24, à 48 h heures

7.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose :

Les disques ont été confectionnés à partir de papier filtre (Whatman 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.

Après activation de l'espèce bactérienne, Une colonie à été ensemencée dans 10 ml de bouillon nutritif. Des prises de volume de 1ml de cette dernière solution ont été étalées séparément en surface de plusieurs boites de Petri contenant le milieu Muller Hinton. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque concentration d'extrait obtenu selon le solvant utilisé, ainsi que dans une solution contenant un puissant antibiotique dont la Gentamicine, ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boite de Petri contenant le milieu gélosé Muller Hinton (Prescott et al., 2003).

La lecture des diamètres d'inhibition à été effectuée à l'aide d'un pied à colis après incubation des boites de Petri à 37°C pendant 24 heures (Guignar, 1998), (Figure 15).

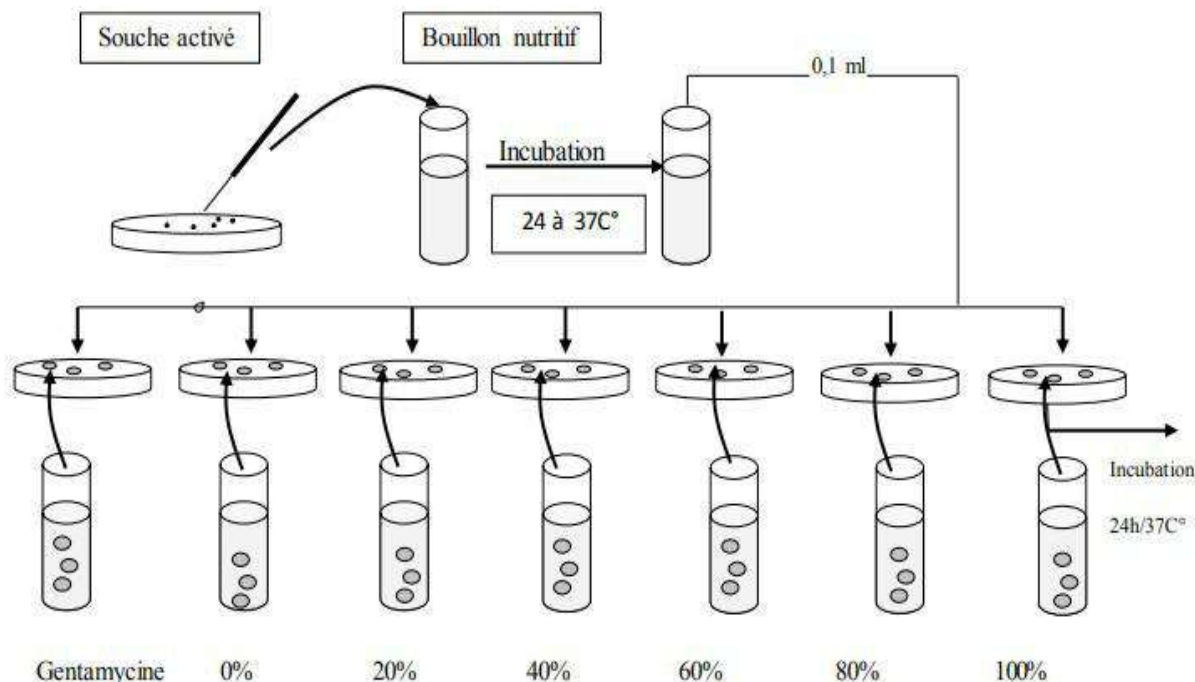


Figure 15. Méthode des disques par diffusion sur milieu de Muller Hinton

7.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice : CMI

La concentration minimale 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 notre étude, c'est les principes actifs des extraits de *Laurus nobilis* par extraction a solvant hydrométhanolique qui a utilisé pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez *Staphylococcus aureus*.

Une colonie jeune de l'espèce *Staphylococcus aureus*, a été prélevée à l'aide d'une anse à platine et activé dans 10 ml de bouillon nutritif pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir les inocula.

Des prises de 0,1 ml ont été introduites respectivement dans 2 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon nutritif.

Les mélanges des tubes contenant séparément chaque extrait préparé à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum de bactérie ont été ensuite incubés à 37 °C pendant 18 à 24 heures (Moroh et al., 2008).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI à été effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance de *Staphylococcus aureus*.

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 à été égale à df (Figure 16 et 17).

Le taux de survie du microorganisme à été mesuré au spectrophotomètre réglé à 560 nm comme suit :

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

- S : Taux de survie du microorganisme en %.
- df-di : différence de densité optique dans la solution phénolique ensemencée avant et après incubation à 37°C durant 18 heures.
- Df-Di : différence de densité optique sans extrait de *Laurus nobilis* avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (Kra et al., 2001 ; Zrihiet al., 2007).



Figure 16. Spectrophotomètre.

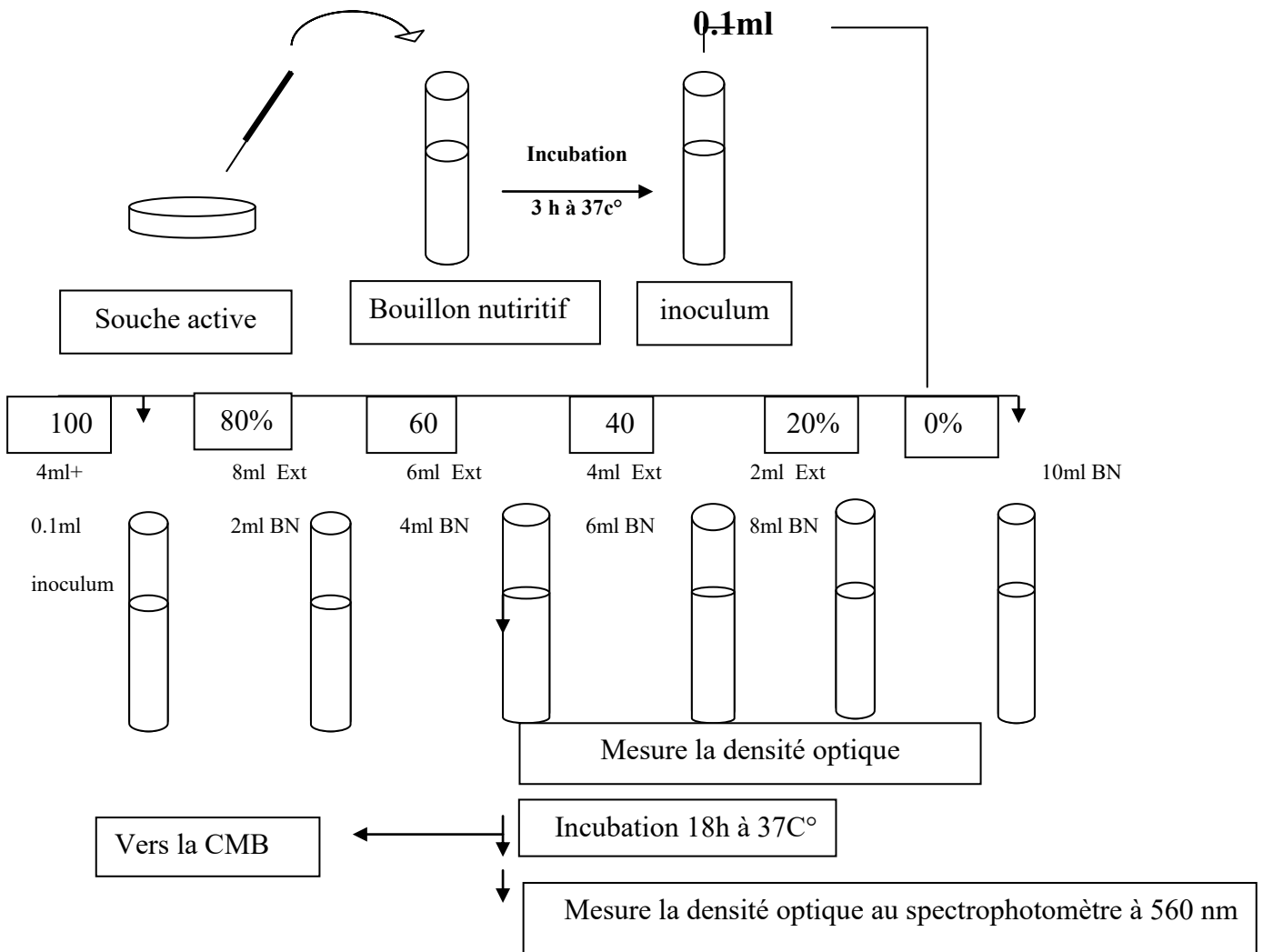


Figure 17. Concentration Minimale Inhibitrice(CMI).

7.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide: CMB

La concentration minimale bactéricide d'une espèce 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 de *Staphylococcus aureus*) à 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} est comparé à celui de chaque tube expérimental contenant l'inoculum, également ensemencé sur le même milieu de culture 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 18).

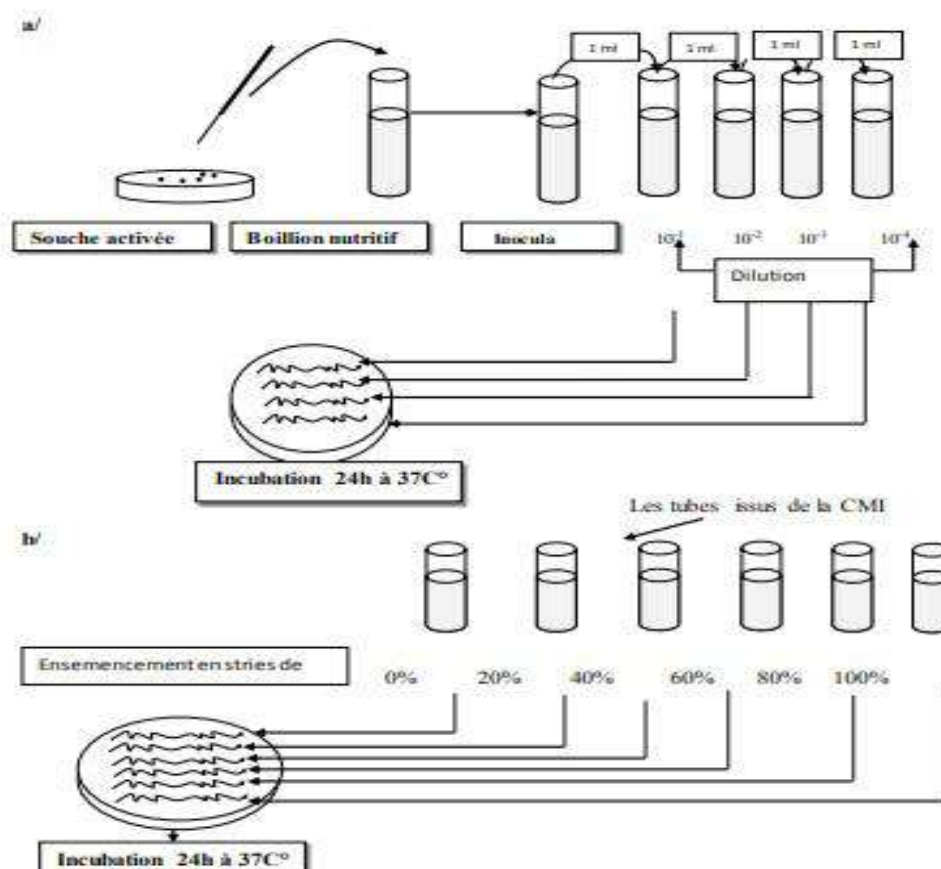


Figure 18. Principales étapes de la détermination de la CMB

7.6. Traitement statistique :

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyses de variance mono factorielle en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le teste de NEWMAN KEULS. Le logiciel de traitement des données utilisé est le STAT BOX 6.4. L'effet du facteur a été démontré aux deux seuils de probabilités : à $p < 0.05$ et à $p < 0.01$, respectivement.

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats :

1.1. Méthode de contact direct :

Le test de croissance des *Staphylococcus aureus* sur milieu spécifique chapman à montré une prolifération importante des germes en absence d'extrait de *Laurus nobilis* ($100 \cdot 10^5$ UFC/ml) et en présence d'extrait à une faible concentration préparé à 20% ($126 \cdot 10^4$ UFC/ml).

En revanche aucune croissance de *Staphylococcus aureus* n'a été observée en présence d'extrait de la plante étudié préparé à de fortes concentrations de 40, 60, 80 et 100%). (**Tableau8**)(**figure19**)

Tableau8. Effet antimicrobien de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* chez *S.aureus* déterminés par la méthode de contact direct.

Solutions expérimentales	Concentrations de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> (%)						Effet des concentrations de l'extrait de <i>Laurus nobilis</i>
	0	20	40	60	80	100	
Test de croissance (UFC/ml)	$100 \cdot 10^5$ ^a	$126 \cdot 10^4$ ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	P<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions égale à 3 (n=03) ; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations de l'extrait de *Laurus nobilis*) ; UFC :unité formant colonie ; a, b,c...etc : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls

2. Diamètres d'inhibitions :

Les effets inhibiteurs des extraits hydrométhanolique de *laurus nobilis* sur la prolifération de *staphylococcus aureus* déterminés par la méthode des disque sont illustrés dans la (**figure 20**) et le (**Tableau 9**).

Le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu chez *Staphylococcus aureus* avec l'extrait de *Laurus nobilis* préparé à 100%; (25 mm) en moyenne. Au contraire, les plus faibles résultats sont réalisés en présence des solutions d'extrait diluées à 20, 40, 60 et 80 % ; soit des valeurs de l'ordre de 12,33 ;

Résultats et discussion

15,66 ; 17,66 ; 18,33mm en moyenne respectivement. Par ailleurs, l'antibiotique enregistre le meilleur diamètre d'inhibition (40,33 mm en moyenne) par comparaison aux différentes solutions d'extrait hydrométhanolique des feuilles de laurier.

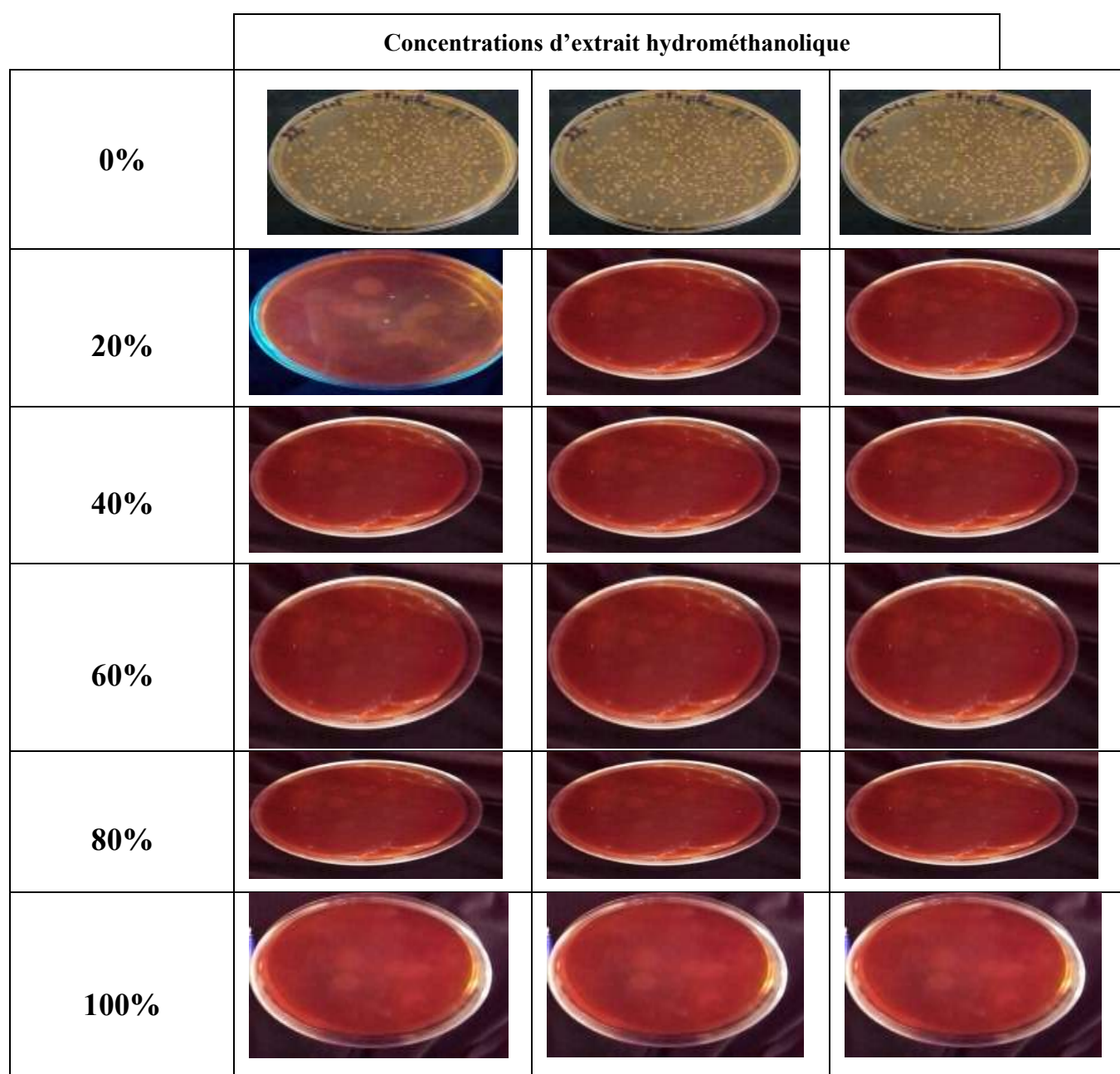


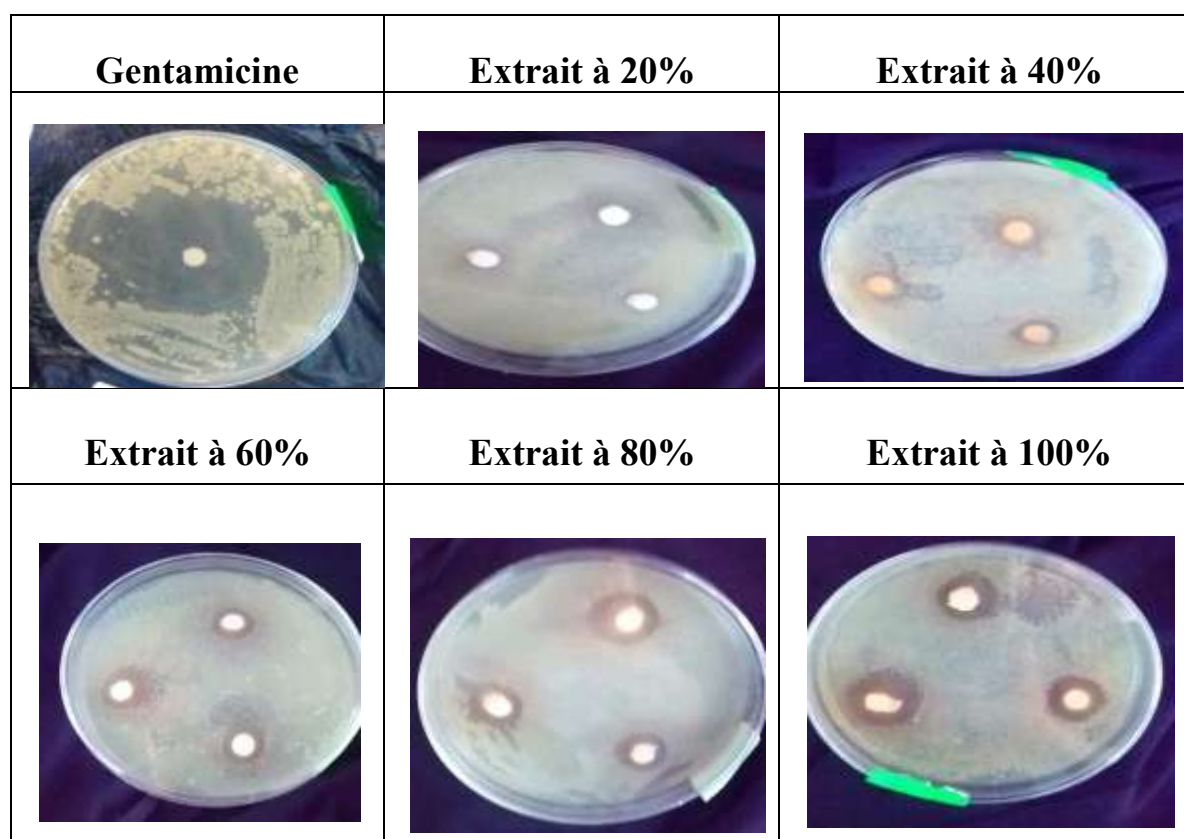
Figure 19. Effets de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Tableau9. Effets inhibiteurs de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* chez *Staphylococcus aureus* déterminés par la méthode des disques.

Solutions experimentales	Antibiotique (Gentamicine)	Concentrations de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> (%)					Analyse de variance
		20	40	60	80	100	
Diametres d'inhibitions (mm)	40,33 ^a ± 01,53	12,33 ^c ± 00,58	15,66 ^{bc} ± 00,88	17,66 ^{bc} ± 02,52	18,33 ^{bc} ± 02,32	25,00 ^b ± 05,00	P<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes et écarts types correspondants, avec un nombre de répétitions égale à 3 (n=03) ; p<0.01 : Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations de l'extrait de *Laurus nobilis*) ; a, b,c...etc : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

Figure 20. Effets inhibiteurs de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*



L'analyse de la variance a montré l'effet majeur des différentes concentrations d'extrait de *Laurus nobilis* sur la variation des diamètres

d'inhibition de *Staphylococcus aureus* après culture 24 heures sur milieu chapman à 37°C.

1.3. Taux d'inhibition :

Les taux d'inhibition de *Staphylococcus aureus* les plus faibles sont réalisés avec l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* préparé à des concentrations de 20 et 40% ; 30.58 vs 38.84 %, en moyenne

Par ailleurs, les solutions d'extrait de laurier préparées à 60, 80 et 100 % ont induit des résultats d'inhibitions plus ou moins importants comparativement au reste des solutions expérimentales ($p < 0.01$) ; 43.80, 45.48 et 61.98% en moyenne, successivement.

Cependant, la gentamicine a enregistré le taux d'inhibition significativement ($p < 0.01$) le plus élevé par rapport aux différentes solutions expérimentales d'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* (**Tableau 10**)

Tableau 10. Variations des taux d'inhibitions par rapport à la gentamicine en fonction des différentes concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis*.

Solutions expérimentales	Antibiotique (Gentamicine)	Concentrations de l'extrait hydrométhanolique de <i>Laurus nobilis</i> (%)					Effet de la concentration d'extrait de <i>Laurus nobilis</i>
		20	40	60	80	100	
Taux d'inhibition (%)	100 ^a	30,6 ^c	38,8 ^c	43,8 ^c	45,5 ^c	61,9 ^b	P<0.01

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, avec un nombre de répétitions égale à 3 (n=03) ; $p < 0.01$: Effet hautement significatif du facteur étudié (concentrations de l'extrait de *Laurus nobilis*) ; a, b,c...etc : groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

1.4. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

L'extrait de *Laurus nobilis* préparé à 20% laisse un taux de survie de *Staphylococcus aureus* d'environ 34% ; alors qu'à des taux d'extrait de *Laurus nobilis* supérieurs, ce microorganisme s'avère incapable de survivre après 24 heures d'incubation à 37°C.

C'est à partir d'extrait préparé à 40% que la croissance de *Staphylococcus aureus* s'annule de manière absolue ; cette concentration est retenue comme étant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Tableau 11**).

Tableau 11. Evaluation de la concentration minimale inhibitrice de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Mesures	Concentrations de l'extrait hydrométhanolique de <i>Lurus nobilis</i> (%)					
	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Df	01.4	01.883	01.882	00.514	01.44	01.852
Di	00.820	01.686	02.03	02.024	02.017	02.052
DF-DI	00.58	00.197	0	0	0	0
S :Taux de survies(%)	100	34	0	0	0	0

Di : Densité optique avant incubation ; Df : Densité optique après incubation

1.5. Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :

A travers la (figure 21) il apparait que l'extrait préparé à 20% n'a pas inhibé totalement la croissance de *Staphylococcus aureus*. Cependant, l'extrait à 40% engendre un pourcentage de survi proche de 0.01% de l'espèce microbienne expérimentale ; cette solution à base d'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* constitue donc la concentration minimale bactéricide (CMB) (Tableau 12)

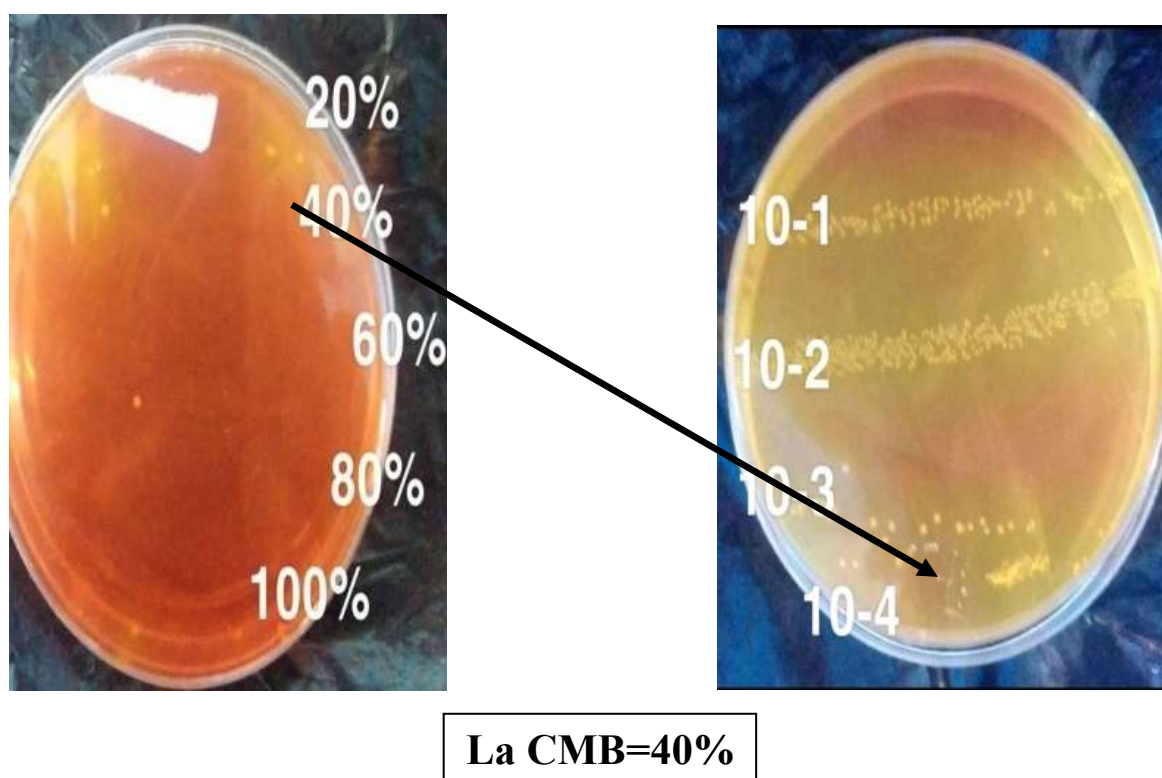


Figure 21. Concentration minimale bactericide de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis*.

1.6. Type d'inhibition de l'extrait de laurier :

Daprès le rapport CMB/CMi égale à 1 l'extrait de *Laures nibilis* L s'avère exercer une inhibition de type bactériostatique vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (Tableau12).

Tableau12. Action inhibitrice de l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Paramètres	CMB	CMI	CMB/CMI	Type d'inhibition des extraits hydrométhanolique
<i>S.aureus</i>	40	40	1	Bactéricide
Normes	<p>Daprés (Olivier ,2007) :</p> <p>CMB/CMI<2 Effet Bactéricide</p> <p>CMB/CMI>2 Effet Bactériostatique</p> <p>Daprés (Marmonier,1990) :</p> <p>CMB/CMI<4 Effet Bactéricide</p> <p>CMB/CMI>4 Effet Bactériostatique</p>			

CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

2. Discussion :

L'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* a montré des effets antimicrobiens intéressants vis-à-vis du germe *Staphylococcus aureus* impliqué souvent dans nombreuses intoxication alimentaires et contaminations nosocoïales. A ce propos aucune croissance de ce germe n'a été enregistrée au contact de l'extrait concentré à 40%. Son efficacité vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* à été proche à 61.9% de la gentamicine, considéré comme étant un antibiotique à large spectre.

Il est bien établi que le laurier (*Laurus nobilis*) est une plante médicinale utilisée en raison de ses propriétés pharmacologiques et ses avantages potentiels pour la santé liés à plusieurs composés présents dans la plante dont huiles essentielles (**Bruneton 1999, Demir et al., 2004**) comme le cinéol, le pinène, le sabinène, le linalol, l'eugénol, le terpinéol, et bien d'autres esters et terpenoïdes (**Iserin 2001 ; Sayyah et al.,2002 ; Demir et al., 2004**) ; les flavonoïdes et les alcaloïdes (**Kivçak et Mert, 2002 ; Simi et al., 2003**).

Selon une recherche faite par (**Beloued, 2003**) les feuilles de *Laurus nobilis* L. contiennent du tanin, un principe composé 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 pinéne , d'eugénol, de géraniol, de linacol d'éthers des acides acétique isobutrique et valérianiques .

Ces composés bioactifs dont phénoliques ont démontré également des effets antimicrobiens avérés contre de nombreux microorganismes pathogènes tels salmonelles, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*...etc (**Bouchaale et Zouaoui, 2015 ; Ould Yeroi, 2015**).

D'après (**Beloued, 2003**) les feuilles et les fruits du laurier noble sont stimulantes, carminatifs, stomachiques emménagogues, pédiculaires et la décoction de feuilles à la dose de 20g par litre d'eau sanère très utile contre les bronchites chroniques, l'hydropisie, les fermentations intestinales, l'insomnie.

Apparemment, la concentration minimale inhibitrice et la concentration minimale bactéricide vis-à-vis de la prolifération du germe étudié *Staphylococcus aureus* sont obtenu avec l'extrait hydrométhanolique de *Laurus nobilis* L., concentré à 40%. Cet extrait semble, par ailleurs exercer un effet de type bactéricide contre cette espèce bactérienne.

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants de l'extrait de la plante, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaires (**Kokate et Varma, 1970**). De façon générale, il a été observé une

diversité d'actions toxiques des extraits sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron, la coagulation du contenu protéique des cellules, et l'inhibition de la décarboxylation des acides aminés. Les extraits peuvent inhiber aussi la synthèse d'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. Le mode d'action des extraits dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs (**Bakkali et al., 2014**).

L'extrait hydrométhanolique de laurier a démontré un effet antimicrobien intéressant vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et peut donc être utilisé comme moyen thérapeutique pour lutter contre ce germe responsable de multiples infections alimentaires et nosocomiales.

Conclusion:

Conclusion :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, il apparaît que l'extrait de *Laurus nobilis* exerce in vitro un effet antibactérien très élevé vis-à-vis de la prolifération de la souche *Staphylococcus aureus* impliquée dans les intoxications alimentaires.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé chez *Staphylococcus aureus* a été obtenu avec la gentamicine. Toutefois, l'extrait pur non dilué de *Laurus nobilis* L a présenté un effet antimicrobien proche à 61.9% de celui de la gentamicine.

Les meilleurs taux d'inhibition de *Staphylococcus aureus* ont été obtenus avec l'extrait de laurier concentré à 40, 60, 80 et 100% ou aucune prolifération du germe étudié n'a été observée.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) chez *Staphylococcus aureus* ont été enregistrés à 40% d'extrait hydrométhanolique de laurier.

Par ailleurs, l'extrait de *Laurus nobilis* a exercé une action de type bactéricide chez *Staphylococcus aureus*.

En perspectives il est suggère d'orienter les efforts à la recherche des nouvelles molécules bioactives naturelles pouvant constituer le laurier ainsi que d'autres plantes aromatiques pays et ceci en vue de répondre aux différents problèmes de santé publique posés en Algérie et dans le monde dont la résistance des germes au antibiotiques.

References bibliographiques :

Références bibliographiques

Aouti H. Isolements des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leurs sensibilités aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de magister. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Départements de biochimie et de microbiologie. Université Mentouri Constantine **2009** ;3 123-125 p.

Anonyme I. Bactériologies-service de bactériologie. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie. Université paris-VI. **2003** ;5 : 332P .

Arnal G. Source et caractère entérotoxigènes des *Staphylocoques* en élevage ovin laitier. Thèse de doctorat, université Paul-Sabatier de Toulouse .**2003**

Avril JL., Dabernat H., Denis F., Monteil H. Bactériologie clinique. 3em édition, Ellipse. Paris. **2003** : 8-28 p .

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**,p93.

Beloued A. Plantes medicinales d'Algerie. Alger : Office des publications Ed OPU ;**2003** :221 p .

BERCHE P., GAILLARD JL., SIMONET M. Bactériologie : les bactéries des infections. Flammarion médecine- science. **1988** :122 p.

Bhakdi S., Trantum J. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. Microbiol Rev ; **1991** :55 :733-51 p.

Bodaghi H., Mosfari S., Jalili T., Ostadi Z., KHakpour M., Sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitic to erythromycin in Tanriz dairy herd in ;**2012**:67-73 p.

Références bibliographiques

Bourgeois CM., Mescle JF., Zucca J. Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, **1996** :94 p .

Bronner S., Monteil H., Prevost G, Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus* complexity and application. FEMS. Microbiol Rev ; **2004** :28:183-200 p .

Butel MJ., Ouzrout R., Boufaïda Asnougne Z., Prévalence des principales bactéries responsable de mammites subcliniques des vaches laitières au nord de l'Algérie ». Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. Ed pathologie infectieuse ; **2012** ;65(1-2) : 5-9 p .

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 p .

Bruneton J.; Pharmacognosie-phytochimie-plante-médicinales 3^{ème} éd Technique et Documentation Lavoisier ;paris ; **1999** :3 418_419 p .

Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., Kingston D.G.I., Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis* L., *Food chemistry* **104** : **2007**,1487-1484 p.

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

Boudjouref., Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L.,**2011.** p 1-9.

Références bibliographiques

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

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

Chaalal W . Occurrence et profil d'antibiorésistante des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de magistère. faculté des sciences. Université d'Oran **2013** :126 p.

Collomb A . Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignées de souris. Thèse de doctorat. Université Paul-Batier de Toulouse. France,**2011**

Camill D .Microbiologie pratique pour la laboratoire d'analyse ou de controle sanitaire Edition lavoisir;2007;156 p.

Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Ddegirmencioglu A., Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*. **2004,88** (3) : 325-335p.

Demo A., Petrakis C., Kefalas P., Bosliou D., Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plans leaves. *Food Research international*. **31 1998**, (5) : 351-354 p .

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

Références bibliographiques

el kouri D , Pottier M.A, Trewick D, LE galloce F, baron d, POTEL G, Infections à Staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. Encyl.Med.Chir.Elsevier, Paris,1998 ;5 321 p.

Kokate et Varma .Antibacterial activity of volatile oil of seven species of mentha indian J Microbial ;1970:10(2);45 p.

Erler F., Ulug I., Yalankaya B. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*. 2006 ;77 : 491-494 p.

Federighi M. Bactériologies alimentaire, compendium d'hygiène des aliments. 2em édition, ECONOMICA, Paris. 2005 ; 25-50 p.

Ferron A. Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine. 12èmes édition, Crouan et Roques, Paris,1984

Fiquet A. Le Staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) : un état des lieux. Cours international francophone de vaccinologie ; Université Victor Segalon Bordeaux 2, 2009

Fredot E. Connaissance des aliments, bases alimentaire et nutritionnelles de la diététique. Tec & Doc. Lavoisier, Paris, New York, London. 2005,pp 13-20.

Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M. The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacology*. 2006,108: 31-37

Hama H. Recherché des bactéries associées aux mammites subcliniques dans le lait de chèvre en Mauritanie et au Togo et détermination de leur antibiorésistante. Thèse de doctorat. Faculté des sciences et technique. Université de Dakar. 2006.

Références bibliographiques

Haveri S., Roslof A., Rantala L., Pyorala S. Virulence genes of bovine *Staphylococcus aureus* and nonpersistent intramammary infection with different clinical characteristics. *Jof Applied Microbiol.* **2007**,103.933-1000 p.

Hirsh DC., Biberstein EL. *Staphylococcus* in veterinary microbiology. 2ème édition Oxford, Blackwell publishing; **2004**,153-158 p.

Iserin P. Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres. 2001 ; : 143 et 225-226 P .

Goudjil M. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques.[These] :Genie des procédés et environnement :Universite Kasdi Merbah Ouargla . **2016** :336-345 p.

Guiraid J.P, ROSEC J.P. Pratique des normes en microbiologie alimentaire.AFNOR, **2004**.P161-177 p.

Kamal R.M., BAYOUMI M and ABD EL AAL S.F.A. MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a minisurvey. *Food control* **2013**,33, 49-53 p.

Khalil E.A., Afifi F.U., Al-Hussaini M., , Evaluation of the Wond healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Musmusculus*). *J. Ethnopharmacology.* **2007** ;109: 104-112 p.

Kivçak B., Mert T. Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* L., leaf extracts. *Fitoterapia*,**2002.** **73**: 242-243 p.

Khenaka, : Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. **2011** ;P 11- 17.

Références bibliographiques

LE Loir Y., Baron F., Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. FUNPEC-RP, Genet.Mol.Res. **2003** ;(2) 1: 63-67 p.

LE Loir Y., Gautier M. *Staphylococcus aureus*. Tec & Doc, EMinter, Lavoisier. France, **2010.124 p.**

LE Minor L., VERON M. Bactériologie médical : *Staphylococcus* et *Micrococcus*. 2em édition. Flammarion médecine-science. Paris, **1990.223 p.**

Lowy FD., *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J.Med, **1998,339(8)** :520-532 p.

Labrecque O. Sensibilité d'isolats de *Staphylococcus aureus* d'origine bovine aux antimicrobiens et présence de gènes de résistance. Mémoire de Maîtrise en science, département de pathologie et microbiologie. Université de Montréal, **2007.**

Larpent JP., Introduction a la nouvelle classification bactérienne et les principaux groupes bactériens. Tec & Doc. Lavoisier. Paris, New York, London, **2000.94 p .**

Mohammedi., Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. **2013 ; P 84.**

Matsuda H., Shimoda H., Uemura T., Yoshikawa M., Preventive effect of sesquiterpenes from Bay leaf on blood ethanol elevation in ethanol-loaded Rat, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **1999, 9:** 212-216.p.

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

Références bibliographiques

(rubiaceae) acetatiquextract (ACE) on in-vitro growth of Escherichia coli strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege. **2008**;77: 44-6 p.

Ouibrahim A., Tlili-Ait Kaki Y., Bennadja S., MansouriR., Ait Kaki S., Khbizi S., Djebbar 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**,3:3 pp 209-216.

OuldYerou K., Meddah B., TirTouil A. Etude de l'effet d'huile essentielle delaurier noble de l'ouest algérien sur salmonella spp. *in vitro* et *in vivo*. European Scientific Journal. **2015**,11:33 pp 311-318.

REBIAHI S.A. Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau de Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. LAMMB, Université de Tlemcen ;**2012**.

Rozman V., Kalinovic I., Korunic K. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects, Journal of Stored products Research ,**2007**,**43**: 349-355 p.

Sayyah M., Valizadeh J., Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole. *Phytomedicine*,**2002**. **9** : 212-216 p.

Smith T.L, pearson m.L, wilcox kr, Cruz C, Lancaster MV. Emergence of vancomycine Resistance in *Staphylococcus aureus*. For glycopeptides-Intermediate *Staphylococcus aureus*. Volume 340 N°7, New Engl. J. Med. **1999**; 340 (7): 493-501 p.

Références bibliographiques

Selles C. Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L, Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse de pharmacie. **2012,214p.**

Veh A.K., Validation des marqueurs de virulence de *Staphylococcus aureus* comme outils de pronostic de persistance intra mammaire. Mémoire de maîtrise des science. Départements de biologie. Université de Sherbrooke. Québec, **2014.226 P .**

Zrihi GN, Kra AKM, Etien DT. Étude botanique et évaluation des activités antifongiques de *Mitracarpus villosus* (MV) (Rubiaceae) et *Spermacoce verticillata* (SV) Rubiaceae) sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*. *Revue Méd. Pharm. Afr.* **2007;20: 9-17 p.**

Annexes

Annexes :

Composition chimique des milieux utilisés :

• Muller Hinton agar

Infusion de viande de boeuf déshydraté.....	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs.....	5g
Agar Agar	13g
Eau distillée.....	1000ml

• Bouillon nutritif :

Macération de viande (eau distillée + extrait de viande q.s.) 1L	
Peptonetrypsique.....	15 g
NaCl ou KC	5 g
pH final	7,2 – 7,4

Stériliser à 115 °C pendant 20 min.

• Chapman :

Peptone :.....	10g
Extrait de bœuf :.....	1g
Chlorure de sodium :.....	75g
D.mannitol :.....	10g
Rouge de phénol :.....	25mg
Agar :.....	15g

Ajuster le pH à 7,4+_{-0,2} à 25C (après autoclavage).