

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn-Badis

Mostaganem

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس

مستغانم

كلية العلوم الطبيعية و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par :

Mme. HENNI Karima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : Microbiologie Fondamentale.

Thème

Effets antibactériens de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L, chez *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Déposé le 13/10/2022

Devant le jury :

Président	Pr. MEKHALDI. A	Professeur	U. MOSTAGANEM
Encadreur	Dr. AIT SAADA. D	MCA	U. MOSTAGANEM
Examinatrice	Dr. BAHLOUL. H. A	MCB	U. MOSTAGANEM
Invitée	Mlle. FEKNOUS. I	Doctorante	U. MOSTAGANEM

Etude réalisée au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition-Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2021-2022

Résume :

L'étude est portée sur l'effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L récolté dans la région de Tizi Ouzou exactement à Tizi Ghennif sur les deux germes pathogènes de référence *E. coli* (ATCC 25922) et *P. aeruginosa* (ATCC 27853) responsables de maladies infectieuses et d'intoxications alimentaires. L'extrait de la plante a été obtenu après macération d'une prise de végétale, suivi d'une filtration et évaporation sous vide de la solution filtrée. L'extrait a été, ensuite, dilué à des concentrations de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. Les mesures et les contrôles réalisées en triples essais ont concerné : le test de croissance, test de diffusion sur gélose, concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB).

L'extrait pur de laurier a montré un fort pouvoir inhibiteur de type bactéricide vis-à-vis de la croissance des deux germes étudiés. La croissance d'*E. Coli* a été inhibée à 40% d'extrait de laurier ; alors que *P. aeruginosa* a été inhibé à partir de 20% d'extrait de la plante.

Comparativement à la gentamicine, cet extrait a accusé une efficacité antimicrobienne de l'ordre de 64.2% chez *Pseudomonas aeruginosa* et d'environ 71.3% chez *Escherichia coli*.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) chez *Pseudomonas aeruginosa* ont été enregistrées à 20% d'extrait de laurier et à 40% d'extrait chez *Escherichia coli*.

Mots clés : *Laurus nobilis* L., laurier, antimicrobien, extrait, hydroéthanolique, germes, composés, phénoliques.

Abstract :

The study focused on the antimicrobial effect of the hydroethanolic extract of *laurus nobilis L* harvested in the region of Tizi Ouzou exactly in Tizi Ghennif on two references pathogenics germs "E. coli (ATCC 25922), P. aeruginosa (ATCC 27853)" responsible for food poisoning.

The measurements and the controls carried out in triple tests concerned: the growth test, diffusion test on agar, the method for determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and the method for determining the minimum bactericidal concentration (MBC).

The pure extract of laurel showed a strong inhibitory power of bactericidal type on the growth of the germs studied were obtained 40% in E. coli and 20% in P. aeruginosa

Compared to the broad-spectrum gentamicin antibiotic (largest zone of inhibition) but for the plant extract recorded interesting inhibition rates.

Keywords: laurus nobilis L; antimicrobial effect; hydroethanolic extract; pathogenic germs; food poisoning

الملخص :

ركزت الدراسة على التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص نبات اللوروسنوبيليس L الذي تم حصاده في منطقة تيزي وزو بالضبط في تيزي غنيف على بعض الجراثيم المسببة للأمراض المرجعية "E. coli (ATCC 25922)، P. aeruginosa (ATCC 27853)" المسؤولة عن تسمم غذائي.

القياسات والضوابط التي أجريت في الاختبارات الثلاثية المعنية: اختبار النمو واختبار الانتشار على أجار وطريقة تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) وطريقة تحديد الحد الأدنى لتركيز مبيد للجراثيم (MBC).

أظهر مستخلص الغار النقي قدرة مثبطة قوية لنوع مبيد الجراثيم على نمو الجراثيم المدروسة وقد تم الحصول على 40% في E. coli و 20% في P. aeruginosa.

مقارنة بالمضاد الحيوي الجنتاميسين واسع الطيف (أكبر منطقة تثبيط) ولكن بالنسبة للمستخلص النباتي سجلت معدلات تثبيط مثيرة للاهتمام

الكلمات المفتاحية:لوروسنوبيليس لام ، تأثير مضاد للميكروبات ، مستخلص مائي إيثانولي ، الجراثيم المسببة للأمراض تسمم غذائي.

Remerciement

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout Puissant et le tout miséricordieux, pour nous avoir donné la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à exprimer nos sincère remerciement, à Monsieur AIT SAADA Djamel maître de conférences classe A à la faculté des sciences de la nature et de la vie de 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.

Je remercie, Madame AITCHABANE Ouiza maître de conférences classe B à l'Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem, ces explications, et ses encouragements afin de réaliser ce modeste mémoire.

En fin, je remercie l'ensemble du personnel du département et du laboratoire, pour leur aide, leurs encouragements et l'esprit de travail qui nous a été accordé ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Liste des Tableaux :

Tableau 1 Classification botanique de <i>Laurus nobilis L.</i>	6
Tableau 2 Classification d' <i>Escherichia coli</i>	9
Tableau 3. Caractères biochimiques d' <i>E. coli</i>	11
Tableau4. Les pathovars d' <i>E. Coli</i> responsables de syndromes diarrhéiques chez l'Homme.	13
Tableau5. Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
Tableau 6. principaux facteurs de virulence sécrétée.....	19
Tableau 7. Matériel du laboratoire utilisé.....	22
Tableau 8. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis L</i> sur la croissance (UFC/ml) d' <i>E. coli</i> et de <i>P. aeruginosa</i>	36
Tableau 9. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis L</i> sur les diamètres (mm) et les taux d'inhibitions (%) chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
Tableau10. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis L</i> sur les diamètres (mm) et les taux d'inhibitions (%) chez <i>Escherichia coli</i>	39
Tableau 11. Evaluation des CMI de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> vis-à-vis de la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et d' <i>Escherichia coli</i>	40
Tableau 12. Types d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique de <i>laurus nobilis L</i> chez <i>E. Coli</i> et <i>P.aeruginosa</i>	42

Listes des figures :

Figure 1. Répartition géographique des Lauracées à travers le monde.....	4
Figure 2. Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i>	5
Figure 3. Principaux facteurs de virulence chez <i>P. aeruginosa</i> et leur interaction avec l'hôte	18
Figure 4. Principales étapes de l'attaque d'un hôte par <i>P. aeruginosa</i>	21
Figure 5. Région de prélèvement de <i>Laurus nobilis</i> L	Erreur ! Signet non défini.
Figure 6. Etape de macération et de filtration de l'extrait.....	25
Figure 7. Etape d'évaporation sous-vide et de récupération de l'extrait pur hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	25
Figure 8. Différentes étapes d'extractions des composés bioactifs de <i>laurus nobilis</i> L.....	26
Figure 9. Préparation des différentes solutions expérimentales.....	27
Figure 10. Méthode d'activation des souches.....	28
Figure 11. Méthode de contact direct.....	29
Figure 12. Méthode des disques par diffusion sur gélose MH.....	31
Figure 13. Méthode de la détermination de la CMB.....	32
Figure 14. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	34
Figure 15. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i>	35
Figure 16. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Figure 17. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur les variations des diamètres d'inhibitions au cours de la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
Figure 18. Effet de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> sur les variations des diamètres d'inhibitions au cours de la croissance d' <i>Escherichia coli</i>	39
Figure 19. Concentration minimale bactéricide de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Escherichia coli</i>	41
Figure 20. Concentration minimale bactéricide de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41

LISTE DES ABREVIATIONS :

ExPEC : E. coli pathogènes extra-intestinaux

LP : la peroxydation de lipide

IPEC : E. coli pathogènes intestinaux

EHEC : E. Coli entérohémorragiques

EIEC : E. Coli entéroinvasifs

ETEC : E. coli entérotoxinogènes

EPEC : E. coli entérotoxinogènes

IAS : infections associées aux soins

LPS : Lipopolysaccharides

ATCC : l'American Type Culture Collection

UV : ultra-violet

BN : bouillon nutritive

MH : Miller Hinton

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.

EHEL : Extrait hydroéthanolique de Laurie

Table des matières

Résumé

Remerciements

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

Introduction:..... 1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le *Laurus nobilis* L

I. La plante de <i>Laurus nobilis</i> L	3
1. Historique	3
2. Généralités.....	3
3. Origine et distribution géographique.....	3
4. Ethnobotanique et utilisations des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	4
5. Caractérisation botanique de la plante.....	5
6. Place dans la systématique	5
7. Composition chimique	6
A. Composition chimique des huiles essentielles.....	6
B. Composition chimique des feuilles.....	6
8. Activités biologiques de <i>Laurus nobilis</i> L.....	7
a. Effet antioxydants	7
b. Effet inhibiteur d'absorption d'alcool	7
c. Effet gastro protecteur.....	7

d. Autres effets.....	8
-----------------------	---

Chapitre II : Généralités sur les germes E. Coli et P.aeruginosa

1. <i>Escherichia coli</i>	9
1.1. Historique	9
1.2. L'espèce <i>Escherichia coli</i>	9
1.3. Classification d' <i>E. Coli</i>	9
1.4. Habitat	10
1.5. Identification de l'espace <i>E. coli</i>	10
a). Caractères morphologiques.....	10
b) Caractères culturels	10
c) Caractères biochimiques	10
1.6. Propriétés antigéniques	11
➤ Antigènes somatiques O	11
➤ Antigènes flagellaires H	12
➤ Antigènes de surface ou d'enveloppe K	12
1.7. Prévalence <i>Escherichia coli</i> pathogène dans les toxi-infections alimentaires.....	12
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
2.1. Généralité	14
2.2. Classification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
2.3. Habitat	15
2.4. Identification de l'espace <i>P.aeruginosa</i> :	15
a) Caractères morphologiques.....	16
b) Caractères culturels	16
c) Caractères biochimiques	16
d) Caractères antigéniques	16
2.5. Facteurs de virulence.....	17
A. Facteurs de virulence membranaires	18
B. Facteurs de virulence sécrétés	19
2.6. Infection de <i>P. aeruginosa</i>	20
A. Les infections aiguës	20
B. Les infections chroniques.....	21

Partie 02 : Méthodologie d'expérimentale

1.	Objectifs.....	22
2.	Matériel.....	22
2.1.	Matériel végétal et région de prélèvement.....	22
2.2.	Matériel de laboratoire utilisé	23
2.3.	Matériel microbien	24
3.	Méthode.....	24
3.1.	Préparation de la poudre végétale.....	24
3.2.	Méthode d'extraction.....	24
3.3.	Préparation des différentes solutions expérimentales.....	24
4.	Etude des effets antimicrobiens de laurus nobilis L.....	27
4.1.	Activation des inocula microbiens.....	27
4.2.	Méthode de contact direct.....	28
4.3.	Méthode des disques par diffusion sur gélose.....	30
4.4.	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	30
4.5.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	33
5.	Traitement statistique.....	34

Partie 03 : Résultats et discussion

1.	Résultats	35
1.1.	Méthode de contact direct.....	35
1.2.	Méthode des disques.....	37
1.3.	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	40
1.4.	Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	41
1.4.1.	Type d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique de laurier.....	42
2.	Discussion	43

Conclusion	47
-------------------------	----

Références

Annexes

Introduction :

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis longtemps pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine. Elles renferment une part importante de composés bioactifs dont huiles essentielles, composés phénoliques, terpène et bien d'autres constituants **(Selles, 2012)**.

Ces composés secondaires extraits de différentes manières (hydrodistillation, décoction, macération et infusion) sur une ou plusieurs parties de la plante (racine, feuille, fleur) **(Dutertre, 2011)** sont de nos jours très exploités dans différents domaines d'intérêts tels : médecine, pharmacie, cosmétique, agroalimentaire et protection des végétaux.

Le *Laurus nobilis* L. compte parmi les nombreuses plantes médicinales largement utilisée à travers le monde et en Algérie soit dans les diverses préparations culinaires ou en médecine traditionnelles pour lutter contre certaines maladies : infections virales, toux, rhumatismes, troubles de la digestion et diarrhées **(Sharma et Singh, 2012)**. Source intéressante de composés phénoliques **(Ivanović et al., 2009)** cette plante présente plusieurs autres propriétés thérapeutiques (antioxydante, anti-inflammatoire et antiviral...etc.) **(Chaumun et al., 2020)**.

L'objectif de ce travail vise à mettre en évidence les activités biologiques dont les travaux de recherche sont très limités comme le pouvoir antimicrobien des composés phénoliques contenu dans de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de la plante (*Laurus nobilis* L.) récoltée dans la région de Tizi Ghennif à Tizi Ouzou-Algérie vis-à-vis de deux germes pathogènes de référence à savoir *E. Coli* et *P. aeruginosa* responsables de toxi-infections alimentaires et de certaines maladies infectieuses.

Le manuscrit comporte trois parties :

- Une première partie bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier a été consacré à des généralités sur le *Laurus nobilis* L. et le second donne l'essentiel des informations sur les germes *E. Coli* et *P.aeruginosa*.
- Une deuxième partie a été orientée à la méthodologie expérimentale décrivant le matériel biologique, la méthode d'extraction des composés phénoliques de la plante objet de l'étude et les mesures et contrôles utilisées.
- Enfin, une troisième partie relate la critique et la discussion des résultats, achevée par une conclusion et les perspectives de recherche développement à entreprendre dans un futur proche.

Partie 01 :

Synthèse bibliographique

Chapitre I: La plante de *Laurus nobilis* L.



Chapitre I : Le *Laurus nobilis* L

1. Historique :

Dans les temps anciens, la plante nommée « Daphné » a été définie comme *L. nobilis* par Goodyear en 1655. La Plante naturelle sempervirente à croissance lente de la région méditerranéenne largement cultivée en Europe, en Asie, en Afrique du Nord et aux États-Unis en tant que plante ornementale. (Nehir et al., Sedef 2014 ; Alejo-Armijo et al., 2017). Il est cultivé commercialement pour ses feuilles aromatiques en Turquie, Algérie, Maroc, Portugal, Espagne, Italie, France et Mexique. Les principaux pays producteurs sont la Turquie, qui produit deux tiers du commerce mondial, l'Albanie, le Maroc ainsi que la Grèce et l'Italie (Geerts et al., 2002). L'arbuste de laurier pousse à l'état sauvage dans la région du Tel. Il est cultivé localement sous le nom de « rend » (Bendjarsia et al., 2016 ; Maatallah et al., 2016).

2. Généralités:

Laurus nobilis L appartient à la famille des lauriers (Lauracées) qui comprend 32 genres et une gamme de 24,00 à 25,00 espèces (Saima, 2019). *Laurus* du nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante (Pariente, 2001).

Laurus nobilis est l'une des espèces végétales médicinales et aromatiques, qui connaît actuellement un intérêt renouvelé pour son utilisation dans la médecine traditionnelle, en industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques. (Chaaben et al., 2015). Il est plus utilisé comme source globale d'épices et d'extraits aux propriétés médicales intéressantes. (Yakhlef et al., 2011).

3. Origine et distribution géographique

Originaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (Iserin, 2001). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels qu'en Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (Demir et al., 2004; Barla et al., 2007). (Figure 1)

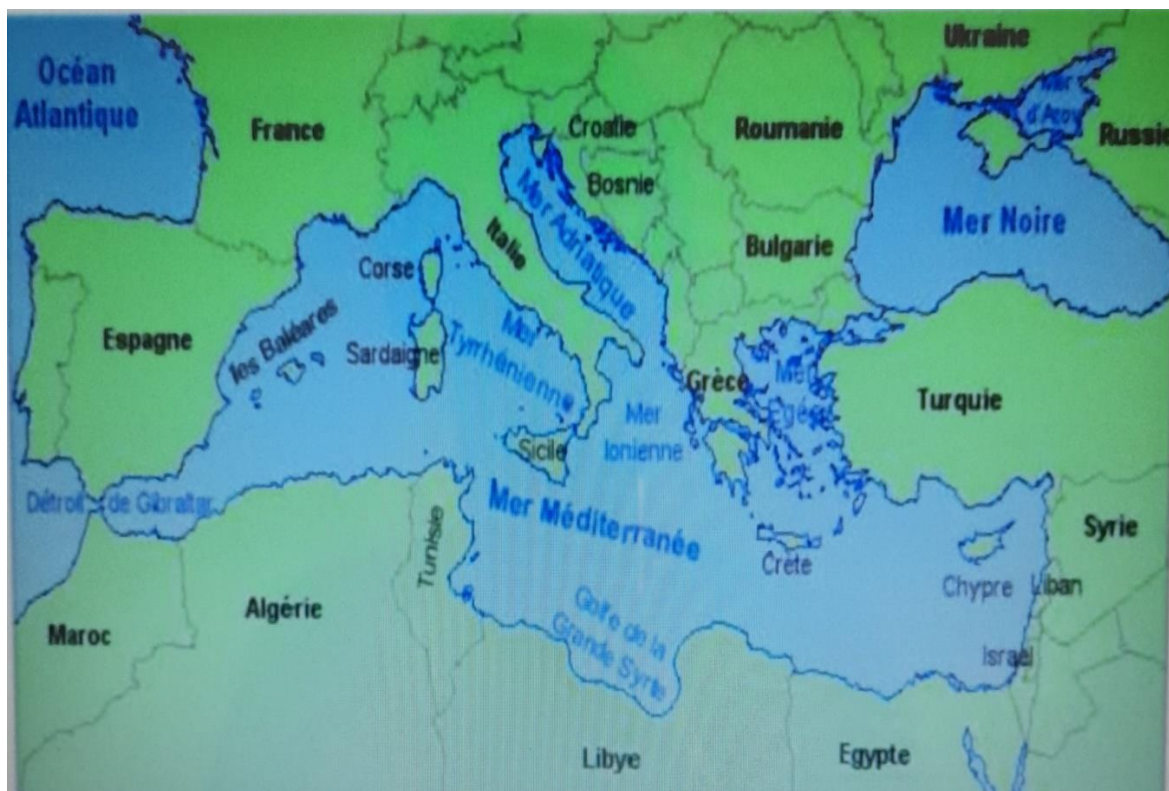


Figure 1. Répartition géographique des Lauracées à travers le monde (Aouchiche et Boumghar ,2015).

4. Ethnobotanique et utilisations 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 (Simic 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'anti-hémorroïdal, 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).

5. Caractérisation botanique de la plante

Laurus nobilis, Arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de haut à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut. Ses feuilles sont alternés, coriaces, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large, persistantes vert foncé et glacés sur leur face supérieure et plus pale en dessous. Les fleurs sont dioïques (petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles. Le fruit est une petite baieovoïde de 2cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité (Iserin, 2001 ; Demir et al., 2004 ; Beloued 2005).



Figure 2. Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued (2005)).

6. Place dans la systématique

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Quezel et santa, 1962). (Tableau 1).

Tableau 1. Classification botanique de *Laurus nobilis* L. (Quezel et santa, 1962).

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

7. 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.

A. Composition chimique des huiles essentielles

Elles représentent 1 à 3 % du poids sec dont: 30 à 70 % de cinéol, 3% d'eugénol, ainsi que plusieurs d'autres composés terpéniques (linalol, géraniol, pinène, terpinène) (Iserin 2001 ; Sayyah et al.,2002 ; Demir et al., 2004).

B. Composition chimique des feuilles : Les feuilles sont riches en plusieurs composés bioactifs dont :

Alcaloïdes aporphiniques : comme la cryptodorine ou l'actinodaphnine.

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

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

8. Activités biologiques de *Laurus nobilis* L

a. Effet antioxydants

L'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques (bruts et dégraissés) des feuilles, d'écorce et des fruits de *Laurus nobilis* a été étudiée au niveau de la peroxydation des lipides (LP) dans les liposomes, induite par le système Fe⁺²/ascorbate et mesurée spectrophotométriquement à 533 nm. Les résultats ont montré que tous les extraits de recherche possédaient une activité anti-oxydante. (Simi et al., 2003).

Ferreira et al. (2006) ont étudié l'activité anti-oxydante 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 anti-oxydante 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 α - tocophérol, dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenues dans la fraction apolaire par extraction à l'hexane. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité anti-oxydante de l'extrait hexane des feuilles.

b. 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'avait moins active que l'umbelliferone 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).

c. Effet antibactérienne :

Les Huile essentielle de feuilles de *L. nobilis* inhibent un large spectre de micro-organismes. Cette activité antibactérienne semble être liée à la quantité de 1,8-cinéol et les

terpènes, qui sont les principaux composants de l'HE des feuilles de laurier (**Alejo-Armijo et al., 2017**). Ils ont montré également des propriétés antibactériennes significatives et une plus grande efficacité contre certains microorganismes résistant aux antibiotiques tel que la « tétracyclines » (**Fidan et al., 2019**).

d. Autres effets

L'activité fumigène de certains composés qui se produisent naturellement dans les huiles essentielles des plantes aromatiques dont cinéol, eugénol et linalol, composés principaux de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, a été évaluée contre 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 (**Rozman et al., 2007**). L'activité hypoglycémiant des extraits de feuille de Laurier a été également rapportée (**Papachristos et Stamopoulos, 2002**). L'administration des doses de 200 et 600 mg/kg de l'extrait éthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* a produit une diminution significative des niveaux de glucose sanguin chez des lapins diabétiques (**Khan et al., 1990**).



Chapitre 2 : Généralités sur les germes pathogènes étudiés

Chapitre II : Généralités sur les germes *E. Coli* et *P.aeruginosa*

1. *Escherichia coli*

1.1.Historique

En 1884, Theodore *Escherich* a identifié un homologue commun du tube digestif, isolé des matières fécales des nouveau-nés et des nourrissons, qu'il a nommé la bactérie *E. coli*. Initialement classée comme *Bacillus coli* en 1895, cette bactérie a été renommée *Escherichia coli* après sa découverte originale en 1919, après quoi la nomenclature révisée a été officiellement reconnue en 1958, établissant ainsi *Escherichia* comme genre, avec *E. coli* comme première espèce (**Henry, 2015**). Depuis sa découverte, *Escherichia coli* a été l'un des micro-organismes les plus étudiés et les mieux caractérisés, servant de l'un des principaux systèmes modèles en microbiologie.

1.2. Espèce *Escherichia coli*

E. coli est un bacille à gram négatif (**Berche et al., 1988**), de forme non sporulée, de type aéro-anaérobies facultatifs, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5µm (**Steven et al., 2004**). Cette dernière constitue la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires. (**Berche et al., 1988**).

1.3.Classification d'*E. Coli* : *E coli* est classé comme suit

Tableau 1. Classification d'*Escherichia coli* (**Pillet et al, 1986**).

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>

1.4.Habitat

E. coli, hôte normal de l'intestin humain et animal souvent trouvé dans les urines saines, est une bactérie distribuée à grande échelle dans l'environnement extérieur. Elle ne semble cependant pas pouvoir y mener une vie saprophyte authentique: sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente. (Nguyen et al., 2005)

1.5.Identification de l'espace *E. coli*

a) .Caractères morphologiques

La définition de ces Entérobactéries dont 70 p. 100 environ des souches sont mobiles, le plus souvent, à Gram -. (Oulymata, 2007)

b) Caractères culturels

Aéro-anaérobies facultatifs, à culture facile sur milieux ordinaires sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Elle peut croître sur certains milieux pour les entérobactéries de type Mac Conkey. (Oulymata, 2007)

c) Caractères biochimiques

E. coli possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces galeries permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. Ces caractères sont regroupés dans le (Tableau 3) (Oulymata, 2007).

La plupart des souches fermentent le sorbitol en dehors du serotype O157 : H7. Ces caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des souches *d'E. coli* en dehors de certains mutants qui sont dépourvus de l'enzyme Glucuronidase. Ces caractéristiques distinctes permettent de rechercher et d'isoler les souches *d'E. coli* dans l'environnement et l'alimentation. (Baliere, 2016).

Tableau 3. Caractères biochimiques d'*E. coli*

Tests	Résultats
Glucose	+
Voges-Proskauer	-
Uréase	-
Indole	+
Lactose	+
Hydrogène Sulfuré	-
Citrate De Simmons	-
Orthonitrophenyl- β -D-Galactopyranoside	+
Citrate De Christensen	+
Arginine dihydrolase	+/-
Gélatinase	-
Malonate	-
Phényl-Alanine Désaminase	-

1.6. Propriétés antigéniques

➤ Antigènes somatiques O (lipopolysaccharide)

L'antigène somatique O détermine le sérotype. Les antigènes somatiques sont composés de lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne. Certaines molécules de LPS permettent à la bactérie de se protéger contre l'action lytique du complément, la fixation des anticorps et la phagocytose. (Payros, 2012)

➤ **Antigènes flagellaires H : (protéine)**

L'antigène flagellaire H est de nature protéique et entre en jeu dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline et il en existe plus de 56. **(Payros, 2012)**

➤ **Antigènes de surface K : (polysaccharide)**

Encore appelés antigènes capsulaires, ce sont des polysides acides qui ont été initialement subdivisés en trois types à savoir : les antigènes A, B, et L. Ils masquent l'Ag O, empêchant ainsi le sérotypage lorsqu'ils sont présents. **(Diallo, 2013)**. Les souches les plus pathogènes possèdent l'antigène K1. **(Kone, 2017)**. La biologie moléculaire montre l'existence de plus de 174 sérogroupes Ag O, 80 sérogroupes Ag K et 56 sérogroupes Ag H différents avec plus de 9 000 combinaisons possibles. **(Karmali et al., 2010)**. Malgré la diversité des génomes de la bactérie *E. coli* et les nombreuses variations dues aux phénomènes d'acquisition et de délétion de gènes, plusieurs approches moléculaires ont permis d'élaborer une signature génétique permettant de classer l'espèce *E. coli* indépendamment des notions d'*E. coli* commensal **(Nataro et al., 1998)** et pathogène. **(Guinée et al., 1981)**

1.7. Prévalence *Escherichia coli* pathogène dans les toxi-infections alimentaires

E. coli est un commensal dans le tractus gastro-intestinal des vertébrés, cependant, diverses souches ont acquis des facteurs de virulence leur permettant de devenir pathogènes aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

E. coli est la principale bactérie à Gram négatif responsable d'infections communautaires et nosocomiales à tous les âges de la vie. Les infections à *E. coli* peuvent être classées en deux groupes : les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) ou intestinaux (IPEC), en fonction du site d'infection **(Kaper et al., 2004; Russo et Johnson, 2006)**. Chaque catégorie est divisée en plusieurs pathovars, définis comme des groupes de souches d'une même espèce avec un même profil de virulence sur la base des signes cliniques associés et des facteurs de virulence impliqués.

✓ Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux - ExPEC

Les ExPEC sont généralement des souches commensales du tractus gastro-intestinal capables d'engendrer une pathologie lorsqu'elles se retrouvent dans d'autres organes chez l'Homme (Sarowska et al., 2019).

Les infections extra intestinales constituent une cause primaire d'infection des voies urinaires retrouvées dans environ 80% des cas d'infections communautaires et 35% des cas d'infections nosocomiales.

E. coli est également responsable d'infections néonatales, de prostatite, de salpingite et de suppurations diverses, notamment à partir du tube digestif (infections des voies biliaires, péritonites, infections post-opératoires). (Sarowska et al., 2019).

✓ Les *E. coli* pathogènes intestinaux - IPEC

Un signe clinique commun à l'ensemble des IPEC est l'apparition de diarrhées, c'est pourquoi ces bactéries sont également retrouvées sous le terme de pathogènes intestinaux «diarrhogènes». *E. coli* responsables de diarrhées sont classées en pathovars dont les quatre principaux sont : Les *E. entérohémorragiques* (EHEC), *entéroinvasifs* (EIEC), *entérotoxinogènes* (ETEC), *entérotoxinogènes* (EPEC).

Tableau4. Les pathovars d'*E. Coli* responsables de syndromes diarrhéiques chez l'Homme. (Croxen et al., 2013)

Pathovars	Signes cliniques
<i>E. coli</i> entérotoxinogènes (EPEC)	Diarrhée aqueuse
<i>E. coli</i> entéroinvasifs (EIEC)	Diarrhée dysentérique
<i>E. coli</i> entérotoxinogènes (ETEC)	Diarrhée aqueuse
<i>E. coli</i> entérohémorragiques (EHEC)	Diarrhée aqueuse Diarrhée hémorragique SHU/PTT

A. Les *E. coli* entérotoxinogènes (EPEC) : Les ECEP produisent un facteur d'adhésion (l'intimine) qui induit un remaniement du cytosquelette de l'entérocyte 3 avec disparition des microvillosités et formation d'un « piédestal » sur lequel se fixe la bactérie. La symptomatologie est proche de celle des ECET (diarrhée liquide, peu ou

pas fébrile, spontanément résolutive). La transmission est interhumaine ou liée à l'eau contaminée et aux aliments souillés. (Marion 2019)

B. Les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC) : sont la cause de diarrhées sanglantes pouvant évoluer vers des syndromes dysentériques (émission fréquente de selles en faibles quantités, sanglantes et riches en mucus)

Les EIEC diffèrent des autres pathovars d'*E. coli* car ce sont des pathogènes intracellulaires qui ne possèdent ni flagelle, ni facteurs d'adhésion. Leur virulence est principalement liée à un plasmide codant un T3SS. (Marion G, 2019)

C. Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) : sont la cause la plus fréquente des diarrhées infectieuses du voyageur (« tourista ») et peuvent être létaux chez les enfants de moins de 5 ans. La colonisation par les ETEC a lieu au niveau de l'intestin grêle où ils adhèrent à la muqueuse intestinale grâce à l'expression d'adhésines fimbriales appelées CFA (colonization factor antigen). Suite à la colonisation de la surface mucosale, les ETEC synthétisent deux types d'entérotoxines : les thermolabiles (LT) et les thermostables (ST). Ces deux entérotoxines peuvent agir seules ou en combinaison et sont la cause du syndrome diarrhéique observé. (Marion G, 2019)

D. Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) : sont responsables de troubles variés chez l'Homme, allant d'une diarrhée aqueuse bénigne à une diarrhée hémorragique pouvant évoluer vers des complications potentiellement létales, telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU), une complication rénale observée principalement chez les jeunes enfants, ou le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), une atteinte cérébrale qui touche notamment les personnes âgées. . (Marion 2019)

2. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1. Généralité

P.aeruginosa a été isolé pour la première fois en 1882 par Gessard. Etymologiquement, le mot issu du grec pseudo (=simili ou imitation) et monas (=unité) désignait les germes du début de la microbiologie. Le mot *aeruginosa*, qui signifie, en latin, vert de gris, fait référence au pigment produit par la bactérie et qui donne à la colonie sa couleur caractéristique (salacha, 2010)

P.aeruginosa est un bacille à gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure

de 1 à 5 μm de long et de 0.5 à 1 μm large. Ce pathogène, est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. (El ouadnassi, 2009)

Cette bactérie non fermentaire est aérobie stricte et non exigeante, pouvant se développer à des températures variant de 30 °C à plus de 40°C. (Cottalorda, 2020)

2.2. Classification de *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est l'espèce type du genre *Pseudomonas*. (Tableau 5)

Tableau5. Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (Elmeskini, 2011)

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

2.3. Habitat

P. aeruginosa est une bactérie ubiquitaire de l'environnement, pouvant se développer chez l'homme, les animaux, les végétaux ainsi que dans divers environnements, notamment aquatiques. L'hôpital constitue une niche favorable à son développement où différents réservoirs ont été identifiés, tels que les réseaux d'eaux et les siphons des éviers. Il peut être à l'origine d'infections associées aux soins. (IAS). (Cottalorda, 2020)

2.4. Identification de l'espace *P.aeruginosa*:

a) Caractères morphologiques

P. aeruginosa c'est une bactérie Gram-, bacille sous forme bâtonnet de 1à 5 μm de longueur et 0.5à 1 μm de largeur, mobile grâce à un flagelle polaire, dépourvu de spores et de capsules (Hafiane et Ravaoarinoro, 2008).

b) Caractères cultureux

C'est une bactérie aérobie stricte mais capable d'utiliser les nitrates en condition anaérobies, elle pousse facilement à 37°C pendant 24 heures sur milieux synthétiques simples et elle supporte de moindres variations de pH (6.5 à 7.5) (**Barir et Ghilani, 2011**)

c) Caractères biochimiques

P. aeruginosa est caractérisée par un métabolisme oxydatif des sucres complexes (polysaccharides, l'amidon...) et non fermentative contrairement aux Entérobactéries. Il possède aussi une réduction des nitrates pouvant aller jusqu'au stade de N gazeux), une lécithinase (que ne peut être révélée qu'en milieu liquide), une arginine –dihydrolase. Ces bactéries ont la capacité de produire de pigments en deux types (fluorescent ou non) :

- **Pyoverdine** : pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme
 - **Pyocyanine** : pigment bleu non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme
- (**Palleroni, 1984**)

c) Caractères antigéniques

Plusieurs caractères antigéniques ont été décrits chez *P.aeruginosa* :

- **Antigène somatique O thermostable :**

La spécificité de cet antigène O est supportée par plusieurs polysaccharides correspondant aux chaînes latérales du lipopolysaccharides (LPS), dont la longueur et la composition sont variantes. (**Cady, 2006**)

- **Le sérotypage des souches :**

Grâce à des antisérums dirigés contre cet antigène, permet de distinguer 16 sérotypes différents selon la classification de l'IATS (International Antigenic Typing System). Habituellement, 90 à 95% des souches peuvent être typées avec ce système. (**Cady, 2006**)

- **Les antigènes O:1 à O:11 :**

Sont les plus fréquents ; le sérotype O:12 présente la particularité d'être le plus résistant aux antibiotiques et est le plus souvent incriminé dans les infections nosocomiales. (**Oulymata, 2007**) Les souches M, en particulier celles qui proviennent de patients atteints de mucoviscidose, peuvent être difficiles à typer du fait d'un déficit plus ou moins prononcé en chaînes latérales du LPS de ces souches.

2.5. Factures de virulence

Ils existent de nombreux facteurs de virulence structuraux expliquant la virulence de *P.aeruginosa*.

Les facteurs de virulence associés à la bactérie sont impliqués dans les processus moteurs de la virulence bactérienne (mobilité, adhérence, formation du biofilm) ; alors que les facteurs de la virulence sécrétés sont plus associés aux dommages faits à l'hôte et à la réponse immune. (Van Delden et Iglewski 1998).

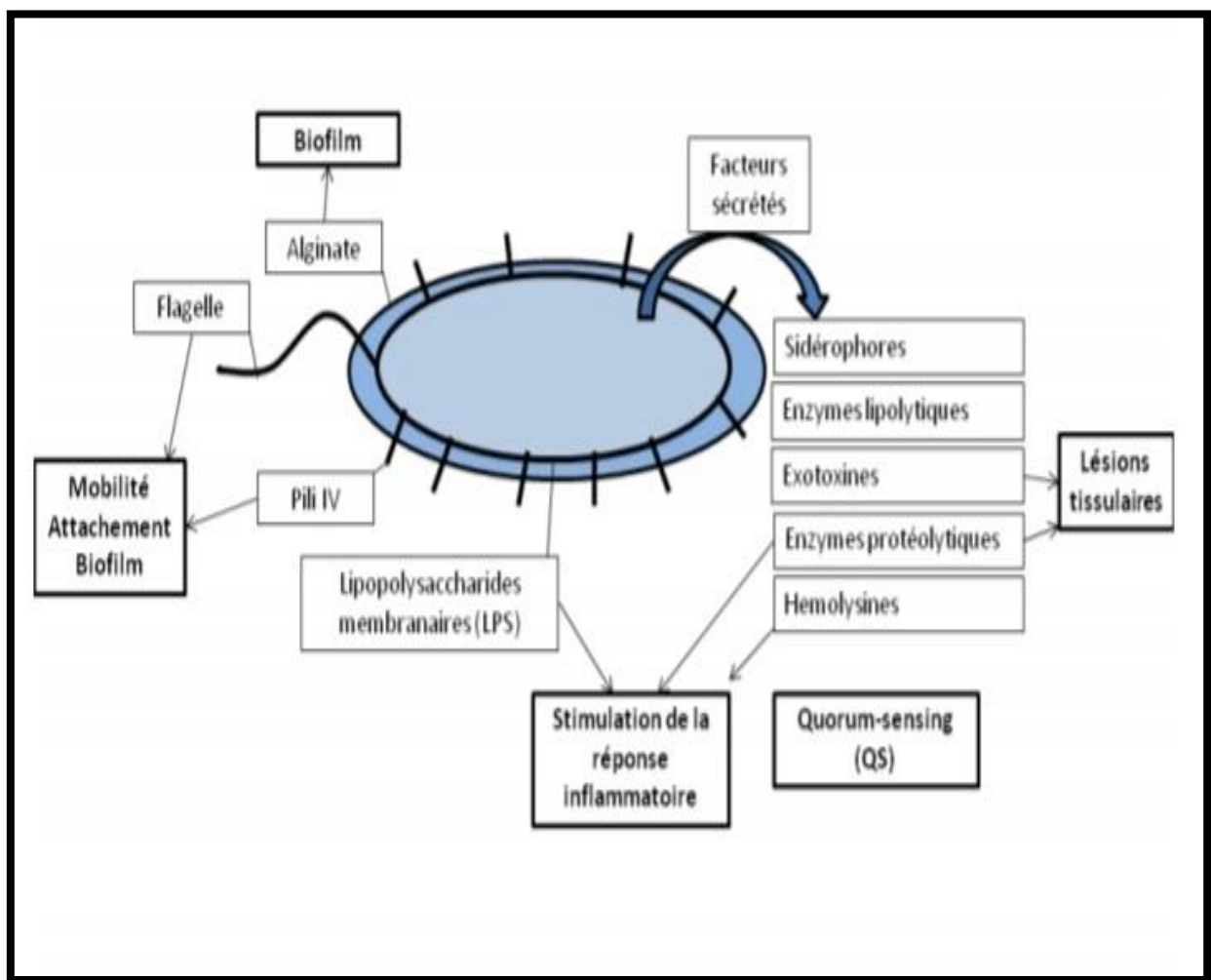


Figure 3. Principaux facteurs de de virulence chez *P. aeruginosa* et leur interaction avec l'hôte. (Van Delden et Iglewski 1998).

a. Facteurs de virulence membranaires

- ✓ **Le flagelle :** *P. aeruginosa* possède un seul flagelle monotriche polaire lui conférant la mobilité et implique dans la pathogénie de la bactérie. Il est également nécessaire pour la formation du biofilm et participe à la reconnaissance de la bactérie par l'hôte en induisant la réponse inflammatoire. **(Chaker, 2012)**

- ✓ **Les pili**

Sont des organes filamenteux longs, présentes sur la surface de nombreuses bactéries pathogènes tel que *P. aeruginosa* et permettent l'adhérence de la bactérie aux surfaces épithéliales de l'hôte. Les pili sont aussi impliqués dans la mobilité et pour la formation du biofilm. **(Asikyan, 2008) (Mattick, 2002)**

- ✓ **Lipopolysaccharides (LPS)**

Le LPS localisé dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif pour son rôle protecteur contre la lyse et pour son activité endotoxique. **(Ben haj et al., 2011)** La molécule de LPS peut être divisée en trois parties :

- **Le lipide A :**

Aussi appelé endotoxine, est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort **(Adamo et al., 2004)**.

- **Le cœur oligosaccharidique :**

La partie extrême hydrophile constitué de chaînes polysaccharidiques. Il se subdivise en un cœur interne et un autre externe, Cette dernière représente le récepteur pour la fixation de la bactérie aux cellules épithéliales **(Chaker, 2012)**

- **L'antigène O :**

Une partie polysaccharidique variable débordant de la membrane externe, sur laquelle sont basés le sérotype et l'identification antigénique de *P. aeruginosa* **(Racchetta et al., 1999)**

- **Alginate**

P. aeruginosa produit l'alginate pour s'adapter dans certaines situations environnementales inappropriées au développement bactérien. C'est le composé principal impliqué dans les infections pulmonaires chroniques des patients atteints de mucoviscidose **(Carpentier et al., 2003)**

b. Facteurs de virulence sécrétés

Les facteurs de virulence sécrétés sont représentés dans le (Tableau 6)

Tableau6. Principaux facteurs de virulence sécrétés (Chaker, 2012)

Facteurs de virulence	Mécanisme de virulence	Effet pathogène induit
Exotoxine A	Inhibition des synthèses protéiques des cellules cibles	Mort cellulaire : nécrose tissulaire Rôle important dans la virulence
Exo enzyme S	Effet Prolifération des LT cytotoxique	Nécrose tissulaire. Entraîne des lésions du glycopeptide, de la vimentine et des IgG et IgA
Exo enzyme U	Rôle antiphagocytaire	Lésions des cellules épithéliales Responsable de bactériémie voire de choc septique
Rhamnolipide	Effet détergent	Hydrolyse du surfactant
Elastases (Las A+Las B)	Dégradation de l'élastine, de la fibrine, de l'interféron, du complément et du collagène	Destruction des tissus contenant de l'élastine. Rôle important dans la virulence
Protéase alcaline	Protéolyse Rôle dans les	infections cornéennes
Pyocyanine +Pyoverdine	Action bactéricide sur les autres bactéries Augmentation de la libération d'élastase Inhibition des battements des cils Captage du fer Induisent la synthèse de radicaux libres	Favorise l'émergence du bacille pyocyanique. Diminution de la clairance des bacilles. Rôle dans la survenue de vascularite d'artères pulmonaires.
Lectines solubles	Inhibition des battements ciliaires des cellules pulmonaires	Pathogénicité respiratoire. Rôle dans l'infection chronique.
Phospholipase C	Effet cytolytique local	Lyse des cellules cibles (atélectasie pulmonaire). Rôle dans l'infection aiguë et chronique.

2.6. Infection à *P. aeruginosa*

P. aeruginosa profite de défaillance de l'hôte pour le coloniser et l'infecter (**Figure 4**). La défaillance peut être due à une rupture de l'intégrité des barrières physiques, notamment de la peau : blessure, brûlure, opération chirurgicale, intubation... mais aussi à des défenses immunitaires faibles, par exemple chez les personnes immunodéprimées lors de traitements de cancers, les patients atteints du VIH, ... Cette première colonisation opportuniste peut conduire à des infections aiguës ou chroniques. (**Strateva et al. 2011**)

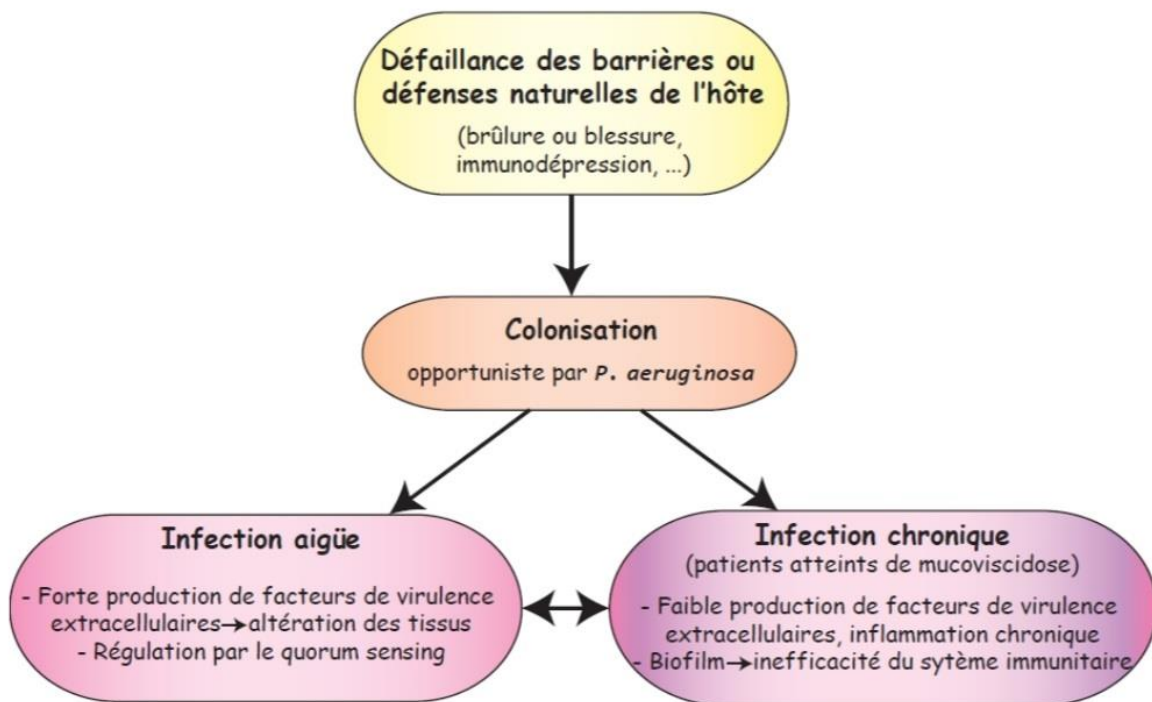


Figure 4. Principales étapes de l'attaque d'un hôte par *P. aeruginosa* (**Strateva et al. 2011**)

2.6.1. Infections aiguës

Sous sa forme planctonique, la bactérie est mobile et isolée et est capable de provoquer des infections aiguës. Les bactéries sont invasives et cytotoxiques, elles produisent de nombreux facteurs de virulence qui conduisent à un endommagement des tissus infectés. Les infections aiguës ont donc une progression rapide ; elles durent peu de temps et sont généralement brutales et agressives avec des symptômes sévères. Par exemple, *P. aeruginosa* peut causer des infections pulmonaires, urinaires, ou du système digestif, mais aussi des bactériémies chez les personnes gravement brûlées car ce pathogène opportuniste ubiquitaire profite de la perte de l'intégrité de la barrière de la peau pour infecter ces personnes. Elle

provoque également fréquemment des kératites ulcératives aiguës chez les personnes portant des lentilles de contact, puisque les bactéries pénètrent dans les yeux via des micro blessures et y sont maintenues par les lentilles. **(Lyczak et al., 2000).**

1.6.1. Les infections chroniques

Le développement de *P. aeruginosa* sous forme sessile dans un biofilm est lié à des infections chroniques. Ce mode de vie permet aux bactéries de vivre en communauté, fixées à un support, ce qui leur confère une plus grande protection. Elles ne sont pas invasives ni cytotoxiques et conduisent à des symptômes discrets. Cependant, les antibiotiques et les traitements habituels pour lutter contre l'infection sont inefficaces : les médicaments pénètrent mal la couche de bactéries et ciblent souvent leur croissance alors qu'elle est déjà plus faible dans les biofilms **(Costerton, 2001 ; Filloux, 2003)**. De plus, même si ces infections chroniques sont peu agressives, elles sont persistantes car les bacilles colonisent durablement les patients et l'inflammation s'installe. Ce type d'infection est très fréquent au niveau des poumons des personnes souffrant de bronchiectasie, c'est-à-dire d'un endommagement des bronches, de maladie chronique obstructive pulmonaire, mais surtout chez les patients souffrant de la mucoviscidose. **(Lyczak et al., 2000 ; Valderrey et al., 2010)**

Partie 02 :

Méthodologie Expérimentale

Partie 02 : Méthodologie d'expérimentale

1. Objectifs :

Ce travail expérimental consiste à suivre l'effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis L* vis-à-vis des germes pathogènes *E. coli* et *P.aeruginosa* responsable de la dépréciation de la qualité de la viande au cours de sa conservation et de toxi-infections alimentaires chez les consommateurs.

2. Matériel

2.1. Matériel végétal et région de prélèvement :

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 sa disponibilité et son utilisation courante en médecine traditionnelle et dans le domaine agro-alimentaire.

Les feuilles de laurier prélevés dans une ferme agricole a été récolée le 18 décembre 2021 dans la région de Tizi Ouzou exactement à Tizi Ghennif située au sud-est de la ville d'Algérie, sur une ligne de 36 degrés et 44 minutes au nord avec la ligne de longueur de 4 degrés et 4 minutes à l'est, et à environ 120 km de la ville d'Alger. (Figure 5)



Figure 5. Région de de prélèvement de *Laurus nobilis L*

2.2. Matériel de laboratoire utilisé

Le matériel utilisé dans cette étude est présenté dans le **(Tableau 7)**

Tableau 7. Matériel du laboratoire utilisé

Appareil	Autoclave. -Balance. -Etuve. -Bain marie. -Rota-vapeur. -Plaque chauffante, -Spectrophotomètre.
Verrerie	-Bécher. -Boites Pétri. -Entonnoir. -Erlenmeyer. -Flacons. -Fioles. -Tubes à essais. -Verre de montre Agitateur.
Milieux de Cultures	-Gélose Muller Hinton. -Gélose nutritif. -Bouillon nutritif. -Eau physiologie. -Eau distillée stérile. -Ethanol -Bouillon Muller Hinton.
Autres matériels	-Aluminium, Anse à platine -Bec bunsen. -Disque en papiers stérile (6 mm) -Papier wattman n°3. -Papier filtre stérile.

2.3. Matériel microbien

Les souches bactériennes utilisées sont des bactéries de référence obtenue de l'American Type Culture Collection (ATCC) ; il s'agit d'*Escherichia coli* (ATCC 25922) et de *P.aeruginosa* (ATCC 27853)

3. Méthode

3.1. Préparation de la poudre végétale

Au laboratoire, les feuilles de laurier mais sur papier journal ont été séchées à l'air ambiant durant 2 semaines. Une fois séchées les feuilles de la plante récupérées ont été broyées dans un broyeur à lame et stérilisées par les rayons UV pendant 20 minutes et conservée à sec et à l'abri de la lumière à la température ambiante.

3.2. Méthode d'extraction

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans les feuilles de *Laurus nobilis L* il a été utilisée 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 est réalisée par usage d'un solvant à savoir «l'éthanol », Elle a été effectuée sur une prise d'échantillon de 60 g de matière végétale broyée. Le broyat est mélangé avec 600 ml de solvant aqueux (480/120, solvant / eau, v / v). L'extraction par macération à froid du mélange a été laissée se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation, puis filtrée sur papier filtre Whatman ayant une porosité de 0,2µm, l'extrait pur récupéré après filtration a été enfin évaporé sous vide à 40 °C au rota vapeur(BÜCHI). (Figure 6, 7,8)

3.3. Préparation des différentes solutions expérimentales :

A partir de l'extrait pur des feuilles de laurier récupéré riche en composés bioactifs plusieurs solutions diluées à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20, 40, 60,80 et 100%, respectivement ont été préparées (Figure 9)



Figure 6. Etape de macération et de filtration de l'extract



Figure 7. Etape d'évaporation sous-vide et de récupération de l'extract pur hydroéthanolique de *Laurus nobilis L*

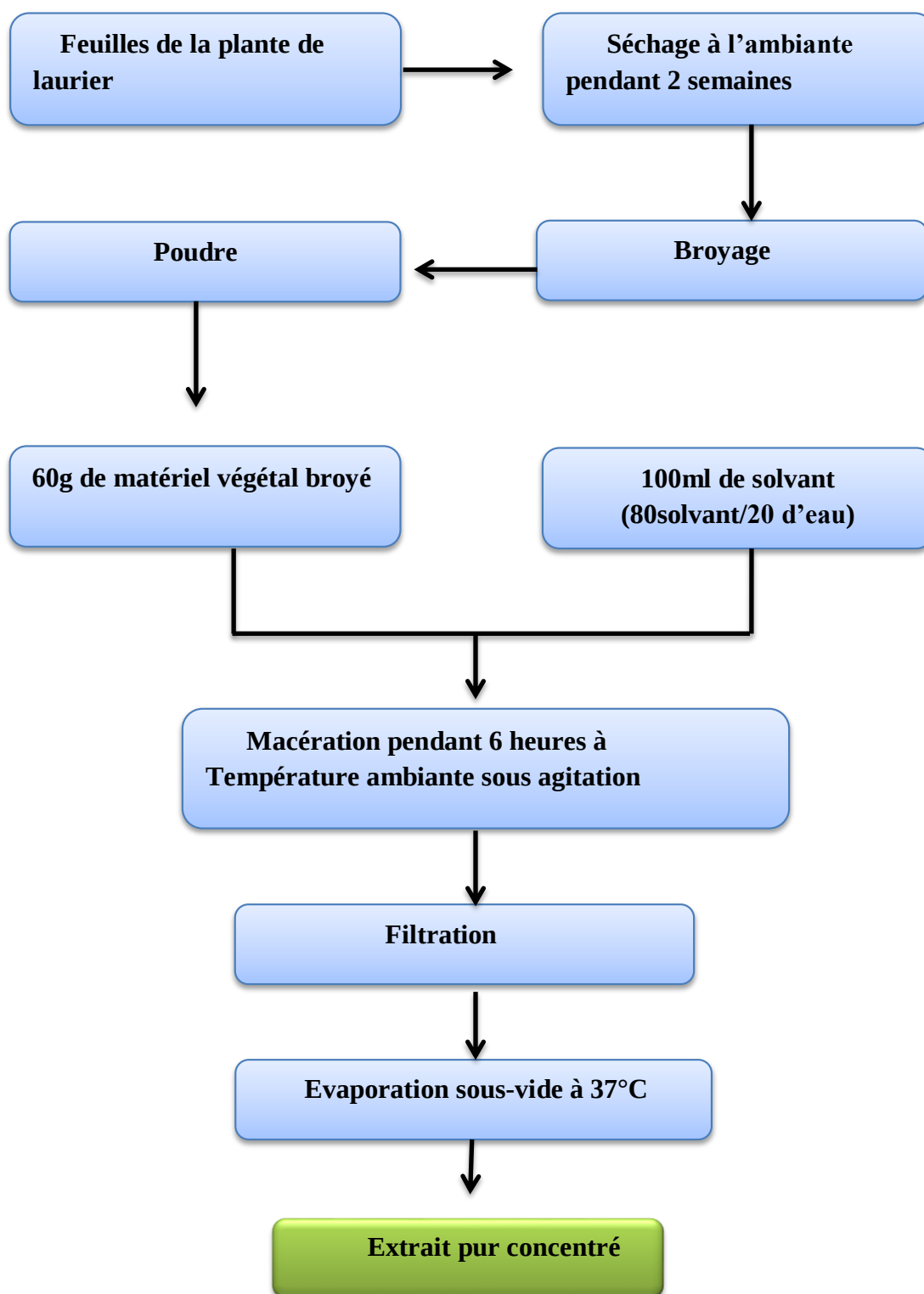


Figure 8. Différentes étapes d'extractions des composés bioactifs de *Laurus nobilis* L (Sultana et al. 2009)

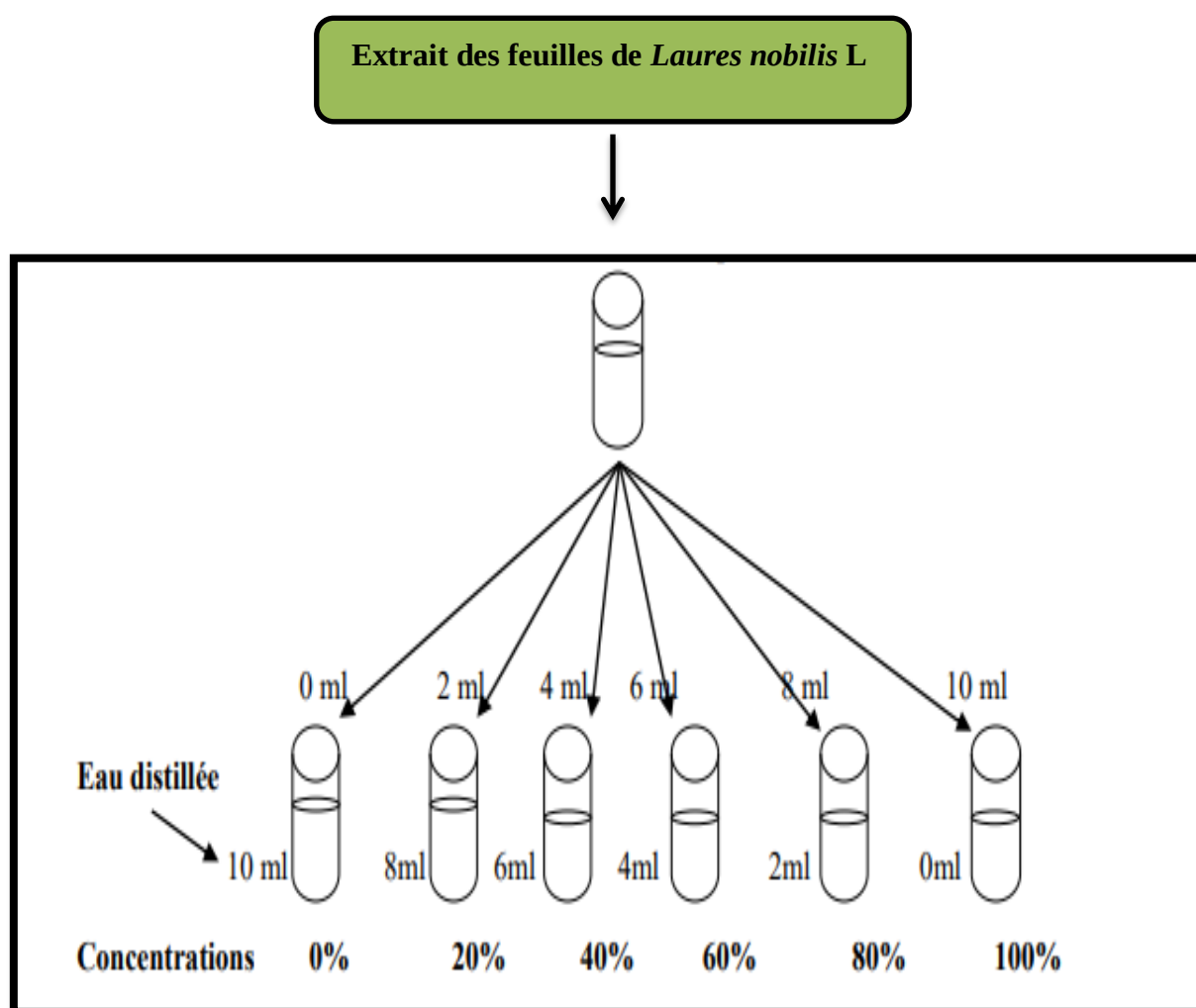


Figure 9. Préparation des différentes solutions expérimentales

4. Etude des effets antimicrobiens de *laurus nobilis* L

4.1.Activation des inocula microbiens

L'étude a concerné la souche pure de référence pathogène *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli* achetés de l'institut pasteur-Algérie. Elles ont été activés avant leur utilisation. Une prise d'échantillon par une anse de platine stérile a étéensemencée dans 10ml de bouillon nutritif, suivie d'une incubation à 37°C pendant 03 heures jusqu'à atteindre une densité optique de 0.08 à 0.1 au spectrophotomètre réglé à 560nm. 0.1ml de cette dernière solution a étéensemencée en surface d'une boîte de Pétri contenant le milieu gélose Muller Hinton (MH) et enfin le milieuensemencé en surface a été incubé à 37°C durant 24 heures (**Figure 10**)

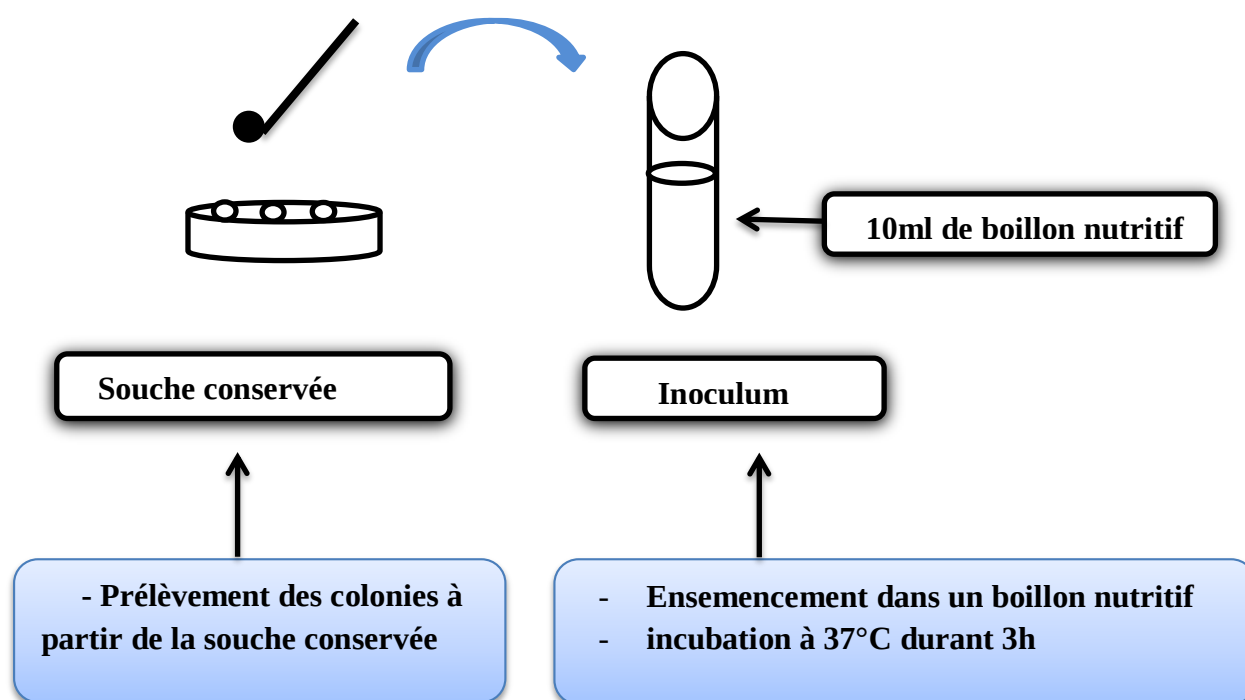


Figure 10. Méthode d'activation des souches

4.2.Méthode de contact direct

Une colonie issue d'une culture jeune de chaque espèce microbienne activée comme préalablement sur milieu solide gélosé MH a été prélevée à l'aide d'une anse à platine stérile, chacune a été ensuite ensemencée dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif (BN), suivi d'une incubation à 37°C pendant 3 heures. A partir de la dernière solution constituant l'inoculum microbien, préparé pour chaque bactérie différentes dilutions décimales isotopiques dans l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} pour les deux espèces (*E. coli*, *P.aeruginosa*) ont été établies. Des prélèvements de 1ml de la dernière dilution décimale ont été ensuite ajoutés à 9ml de chaque extrait de laurier dilué à l'eau distillée stérile, à raison de 0, 20, 40, 60, 80 et 100%. Enfin, chaque mélanges des solutions ont été ensemencés en surface dans 3 boîte de Pétri contenant le milieu gélose MH. La lecture du nombre de colonies a été réalisée après incubation des boîtes à 37°C pendant 24 heures. **(Bourgeois et Leveau, 1980) (Figure 11).**

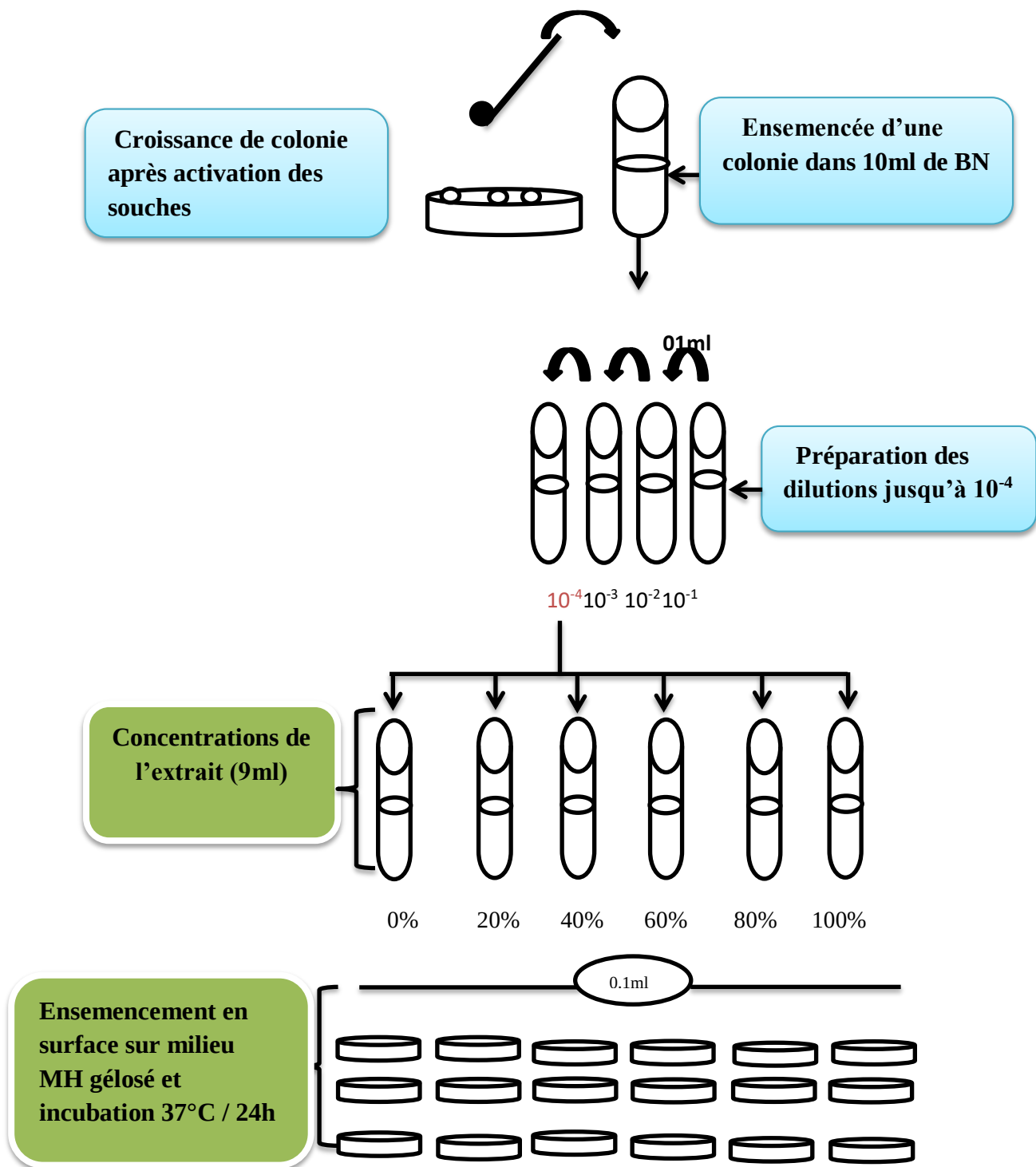


Figure 11. Méthode de contact direct (Bourgeois et Leveau, 1980)

4.3.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 contaminations aux germes exogènes au cours de l'expérimentation les disques ont été stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

Une colonie de chaque espèce microbienne étudiée prélevée du milieu gélosé MH de culture après activation ont étéensemencée dans 10ml de bouillon nutritif incubée durant 03heures jusqu'à obtenir une densité optique de 0.08 à 0.1 ; ce mélange constitué la solution mère. Des prises de volume de 0.2 ml de cette solution ont été étalées en surface de plusieurs boites de pétri contenant le milieu gélosé MH. Trois disques imbibés pendant 5 minutes dans chaque concentration d'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis L*, ainsi que dans antibiotique la gentamicine ont été ensuite déposés successivement à la surface de chaque boite de Pétri contenant le milieu MH ensemencé à un germes test donné (*E. coli* et *P. aeruginosa*). (Prescott et al., 2003). La lecture des diamètres d'inhibitions a été observé après incubation des boite de Pétri à 37°C durant 24 heures. (Guignar, 1998). (Figure 12)

4.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide d'une espèce de germe étudié représente la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivant de l'inoculum initial après incubation (Moroh et al., 2008).

Pour sa détermination, le tube témoin (inoculum) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10^{-4} . Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme. Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 38°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 38 °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 13)

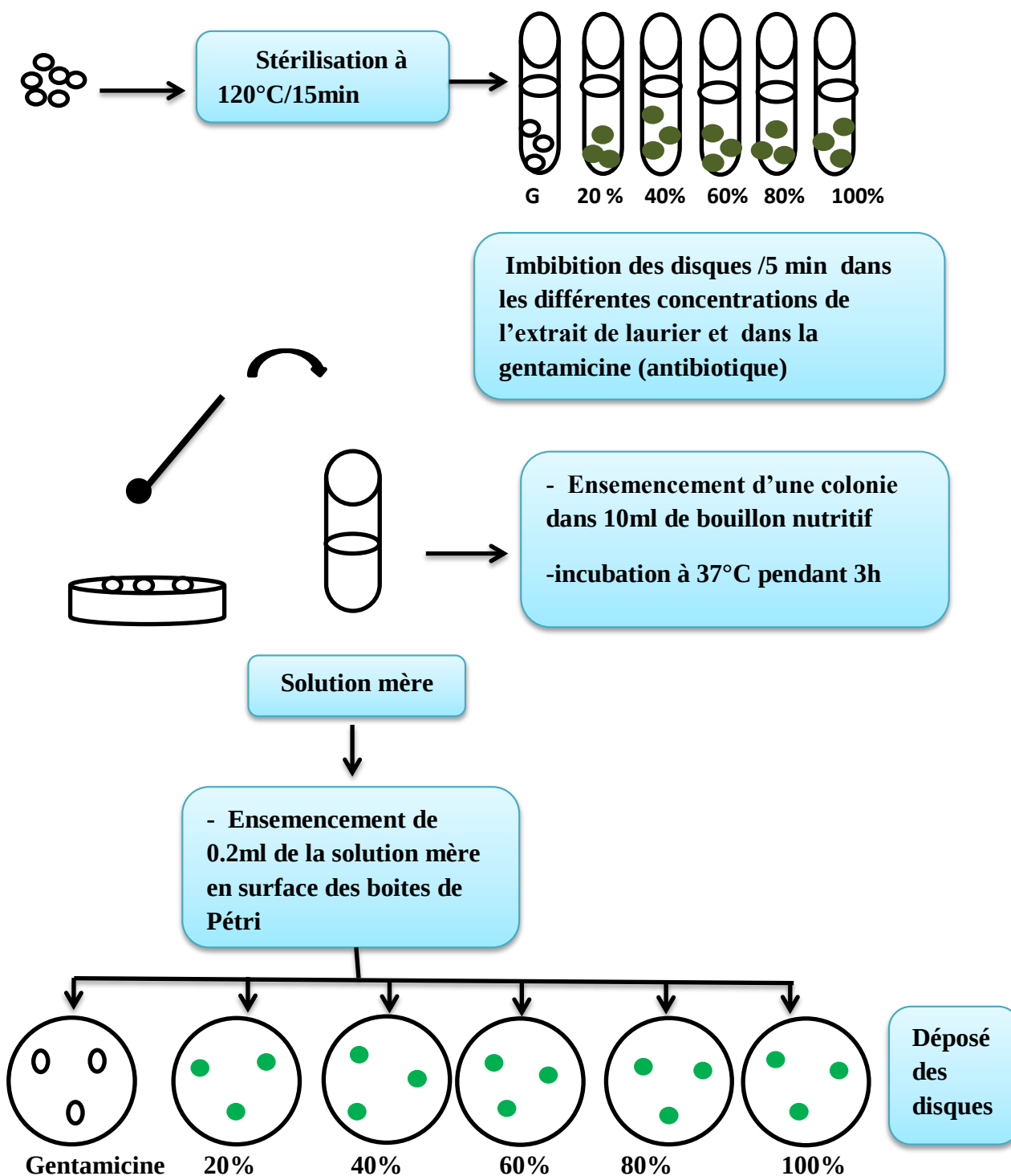


Figure 12. Méthode des disques par diffusion sur gélose MH (Prescott et al, 2003)

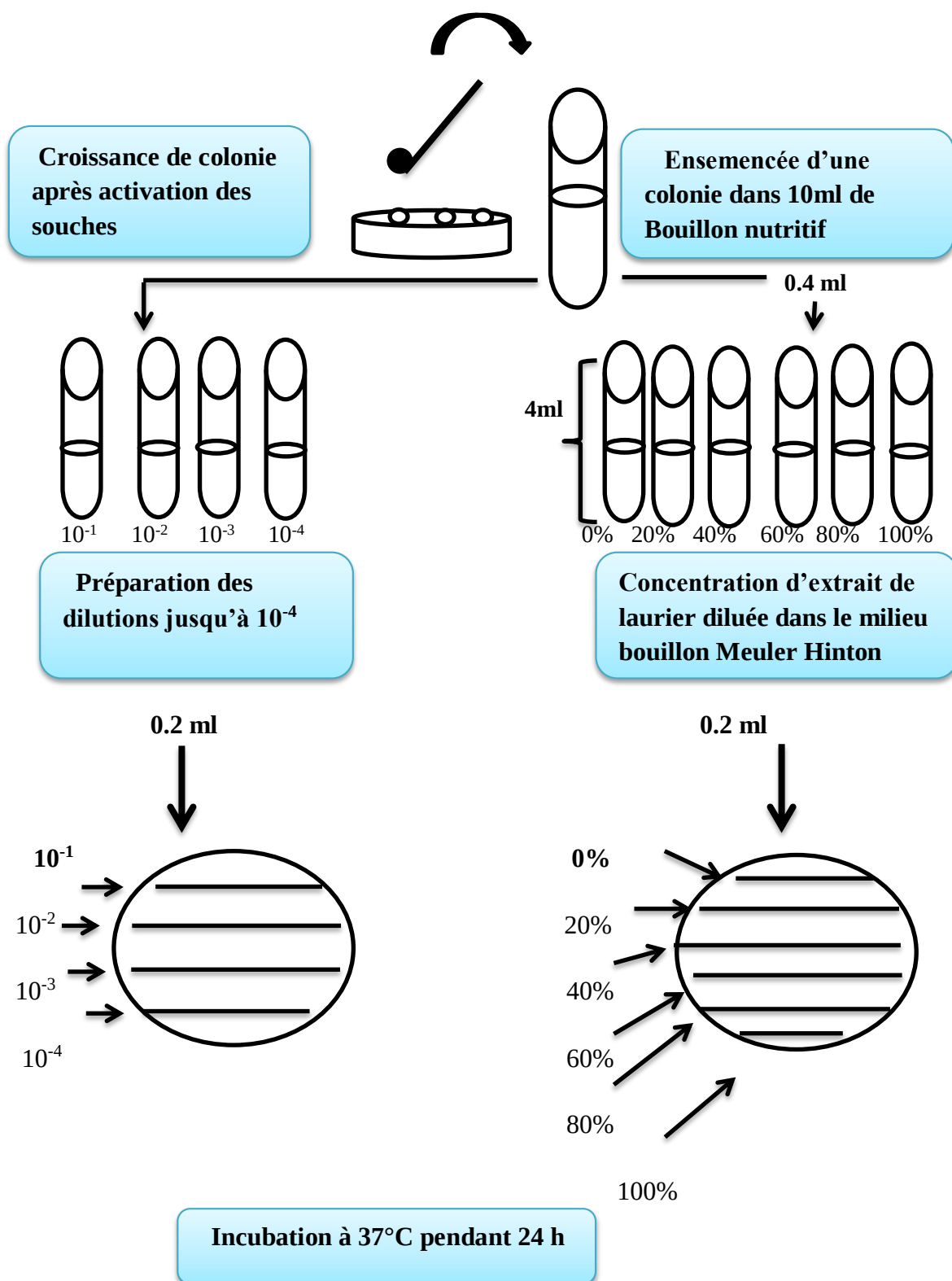


Figure 13. Méthode de la détermination de la CMB (Moroh et al, 2008)

4.5.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne (Denis et al., 2011)

Dans le cas de notre étude, c'est les principes actifs de l'extrait de matière végétale de *Laurus nobilis L* qui sont utilisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice chez les deux espèces (*E. coli*, *P. aeruginosa*).

Ainsi, une colonie jeune est prélevé à l'aide d'une anse à platine dans 10 ml de bouillon nutritif, puis incubée pendant 03 heures à 37°C en vue d'obtenir l'inoculum. Des prises de 0.4 ml de chaque inoculum sont introduites respectivement dans 04 ml de chaque extrait dilué non pas avec de l'eau mais avec le bouillon Mueller Hinton.

Les mélanges des tubes contenant les extraits de laurier préparés à différentes concentrations (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) et l'inoculum bactérienne sont ensuite incubés à 38°C pendant 24 heures (Moroh et al., 2008), (Figure.14)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI est effectuée à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance du microorganisme étudié. La CMI correspond 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 est égale à df (di = df).

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

$$S = 100 \times (df - di / DF - DI)$$

S: Taux de survie du microorganisme en %.

di : Densité optique dans la solution phénoliqueensemencée sans incubation.

df : Densité optique dans la solution phénoliqueensemencée après incubation.

df-di : Différence de densité optique dans la solution phénoliqueensemencée avant et après incubation à 37°C durant 24 heur

Df-Di : Différence de densité optique dans la solutionensemencée au germes et sans extrait de laurier avant et après incubation à 37°C durant 18 heures (Kra et al., 2001 ; Zrihiet al., 2007)

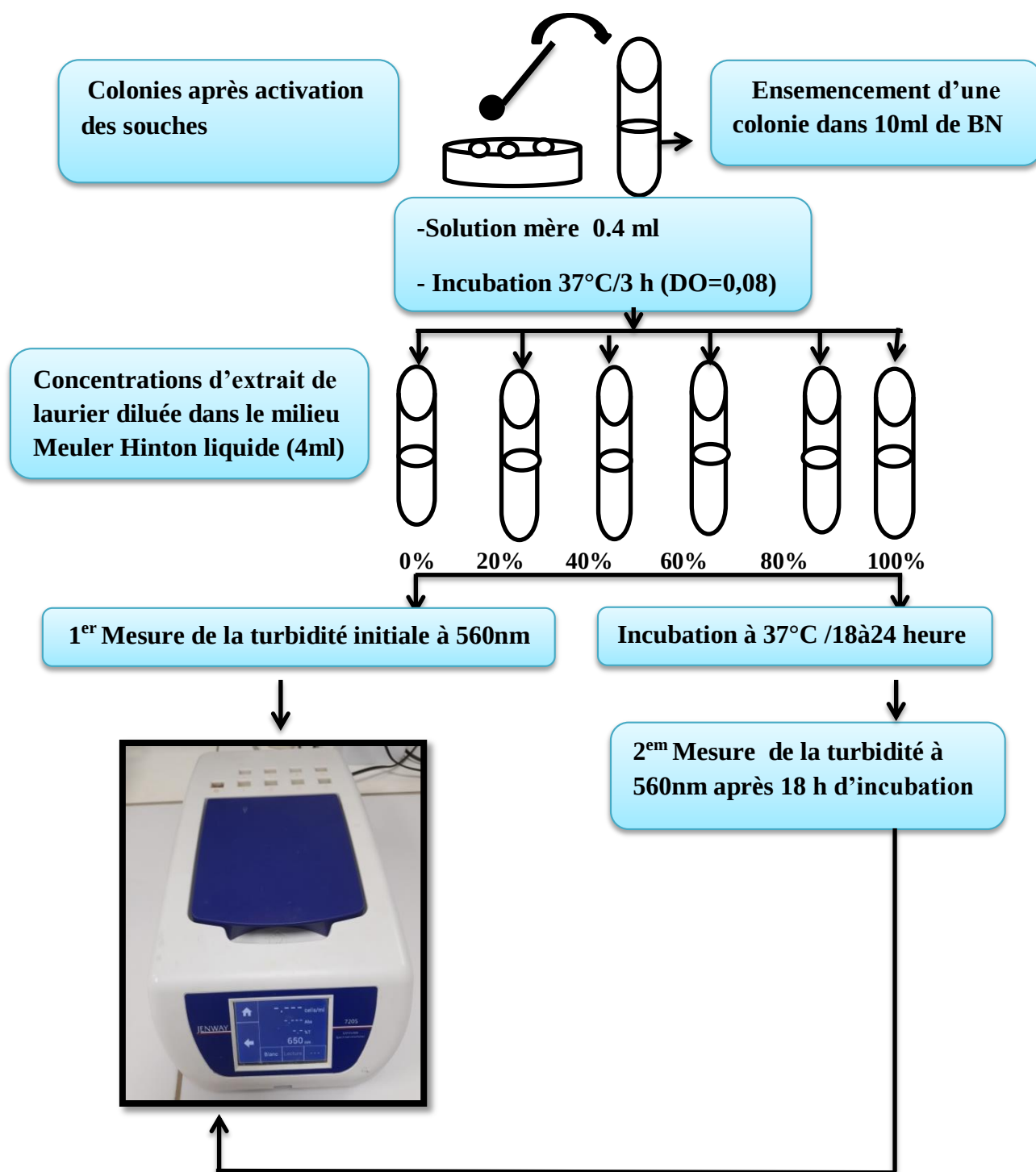


Figure 14. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (Moroh et al, 2008)

5. Traitement statistique :

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyse de variance monofactorielle en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de **NEWMAN et KEULS**. L'effet du traitement a été apprécié aux deux seuils de probabilités de $p < 0,05$ à $p < 0,01$

Partie 03 :

Résultats et discussion

1. Résultats :

1.1. Méthode de contact direct :

Le test de croissance d'*Escherichia coli* sur milieu Mueller-Hinton gélosé par la méthode de contact direct (**Figure 15**) a montré une absence totale de prolifération bactérienne à partir de 40% d'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis L* et seulement un nombre de 2.10^5 UFC/ml a été trouvé à 20% d'extrait. La comparaison entre les résultats trouvés a montré que le témoin a dénombré un nombre de germes le plus élevé ($p < 0.01$) ; 26.10^5 UFC/ml, en moyenne (**Tableau 8**).

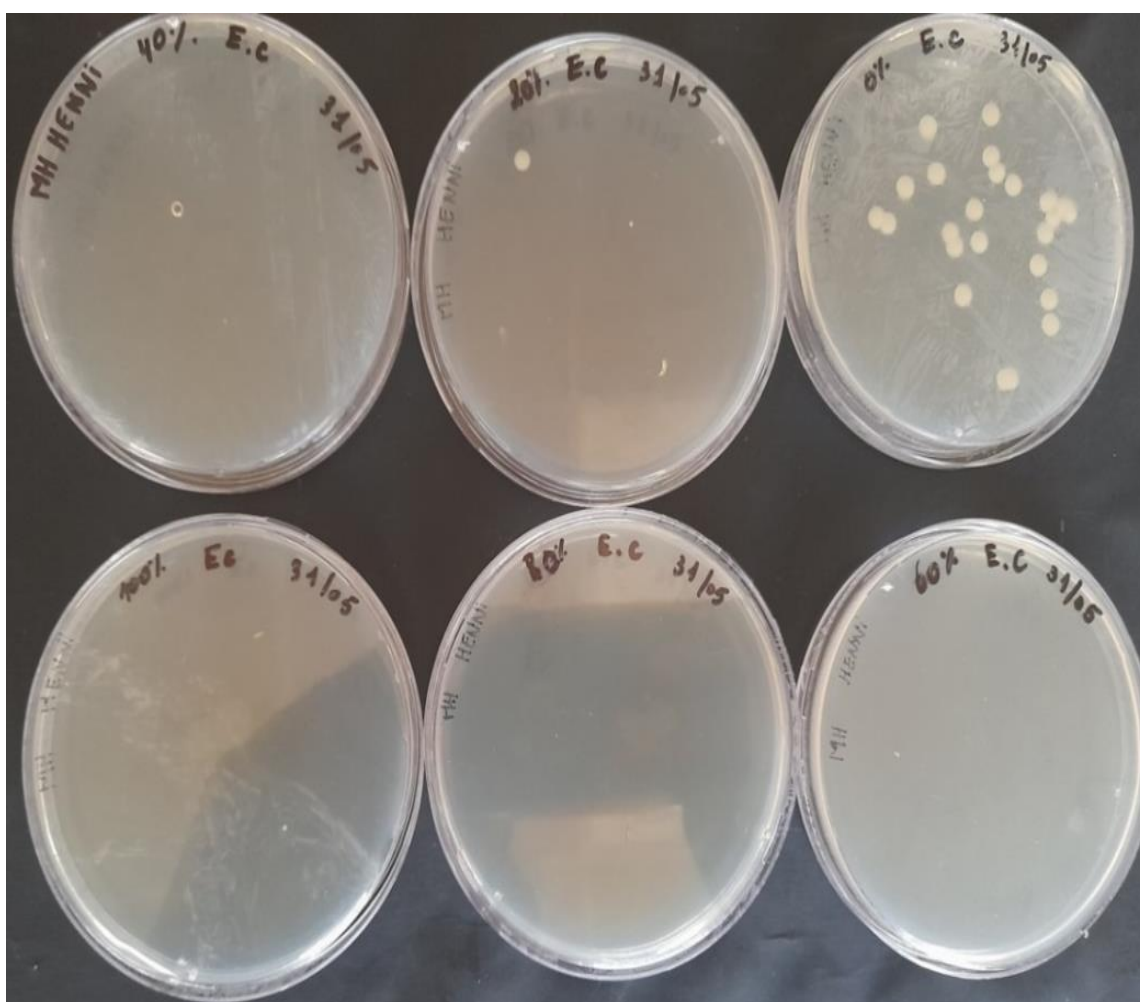


Figure 15. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance d'*Escherichia coli*.

Le test de croissance de *Pseudomonas aeruginosa* par la même méthode (**Figure 16**), a montré quant à lui, une inhibition totale de la croissance du germe dès 20% de concentration d'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis L* contre le témoin qui a accusé une forte prolifération estimée à 226.10^5 UFC/ml, en moyenne (**Tableau 8**).

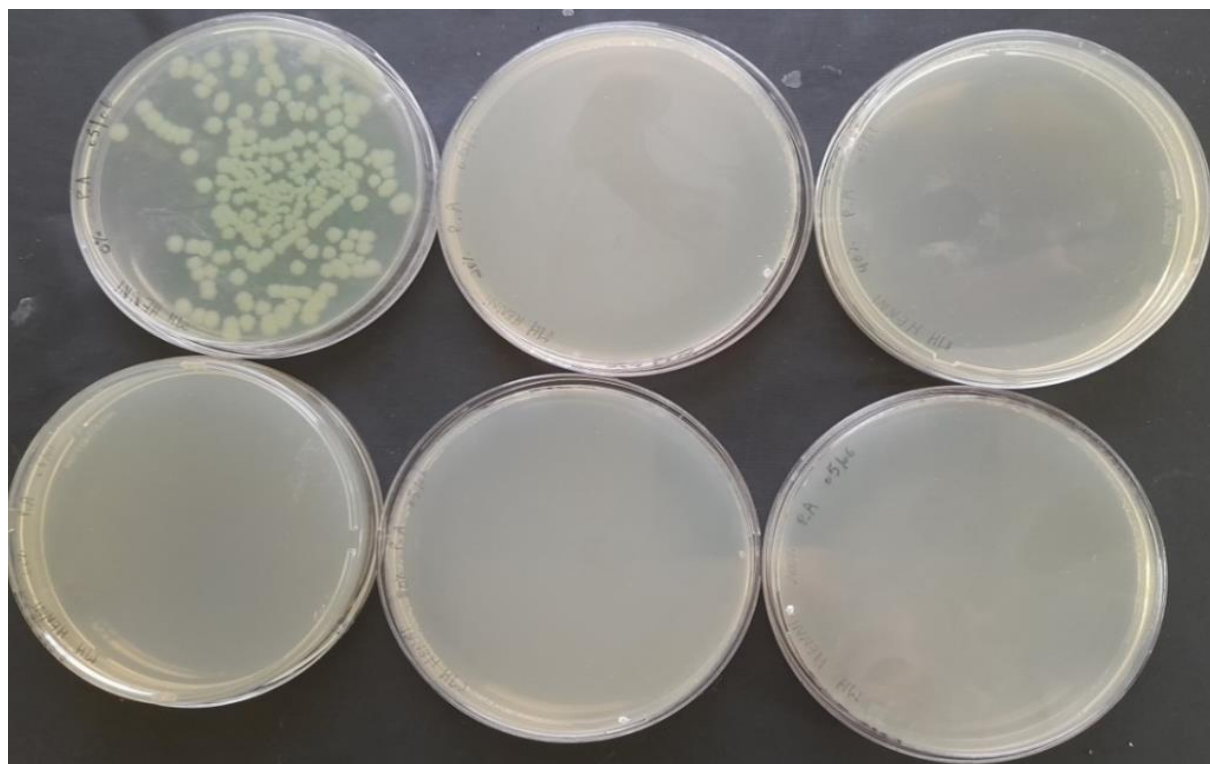


Figure 16. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 8. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L sur la croissance (UFC/ml) d' *E. coli* et de *P. aeruginosa*.

Souches étudiées	Concentrations en extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> (%)						Effet d'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i>
	0%	20%	40%	60%	80%	100%	
<i>E. Coli</i> (UFC/ml)	26.10 ⁵ a	02.10 ⁵ b	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b	P<0.01
Taux de croissance (%)	100	55	0	0	0	0	P<0.01
<i>P. aeruginosa</i> (UFC/ml)	226.10 ⁵ a	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b	00 ^b	P<0.01
Taux de croissance (%)	100	0	0	0	0	0	P<0.01

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

1.2. Méthode des disques:

L'effet inhibiteur de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L par la méthode des disques de diffusion sur gélose sur la prolifération de *Pseudomonas aeruginosa* a dévoilé une plus grande zone d'inhibition ($p < 0.01$) à la concentration de 100% d'extrait avec 24mm de diamètre, suivi d'une zone de 19mm à 80% d'extrait et a de plus faibles concentrations de 20 à 60% d'extrait les zones d'inhibitions sont variables de 6 à 10mm, en moyenne. Cependant, la gentamicine, antibiotique à large spectre utilisé comme témoin positif a présenté une plus grande zone d'inhibition ($p < 0.01$) ; 37.33mm de diamètre (**Tableau 9**)et (**Figure 17**).

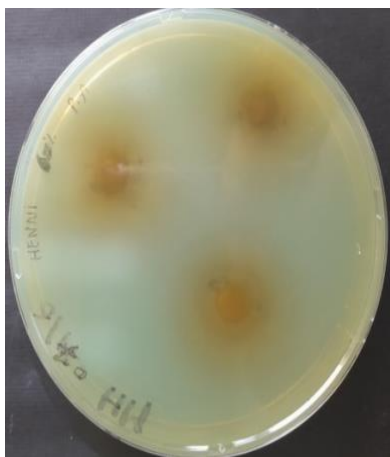
Gentamicine	Extrait à 20%	Extrait à 40%
		
Extrait à 60%	Extrait à 80%	Extrait à 100%
		

Figure 17. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* sur les variations des diamètres d'inhibitions au cours de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 9. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L sur les diamètres (mm) et les taux d'inhibitions (%) chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Mesure	Antibiotique (Gentamicine)	Concentrations de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> %					Effet d'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i>
		20	40	60	80	100	
Diamètre d'inhibition (mm)	37.33 ^a ± 02.10	06 ^e ± 0.01	07 ^e ± 0.01	10 ^d ± 01.00	19 ^c ± 01.00	24 ^b ± 01.00	P<0.01
Taux d'inhibition (%)	100 ^a	16,07 ^e	18,75 ^e	26,78 ^d	50,89 ^c	64,28 ^b	P<0.01

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

Concernant *E. coli*, le diamètre d'inhibition le plus élevé a été également obtenu à 100% d'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L, avec une zone de 19 mm, suivi de 14mm pour l'extrait préparé à 80%. A des concentrations de 20 à 60%, il a été enregistré de faibles diamètres d'inhibitions variables de 7a 9.33 mm, en moyenne. L'antibiotique quant à lui a enregistré le diamètre d'inhibition le plus élevé comparativement aux autres concentrations d'extrait de *Laurus nobilis* L (p<0.01) ; 26.66mm, en moyenne (**Tableau 10**),(Figure 18) .

Partie 03 : Résultats et discussion

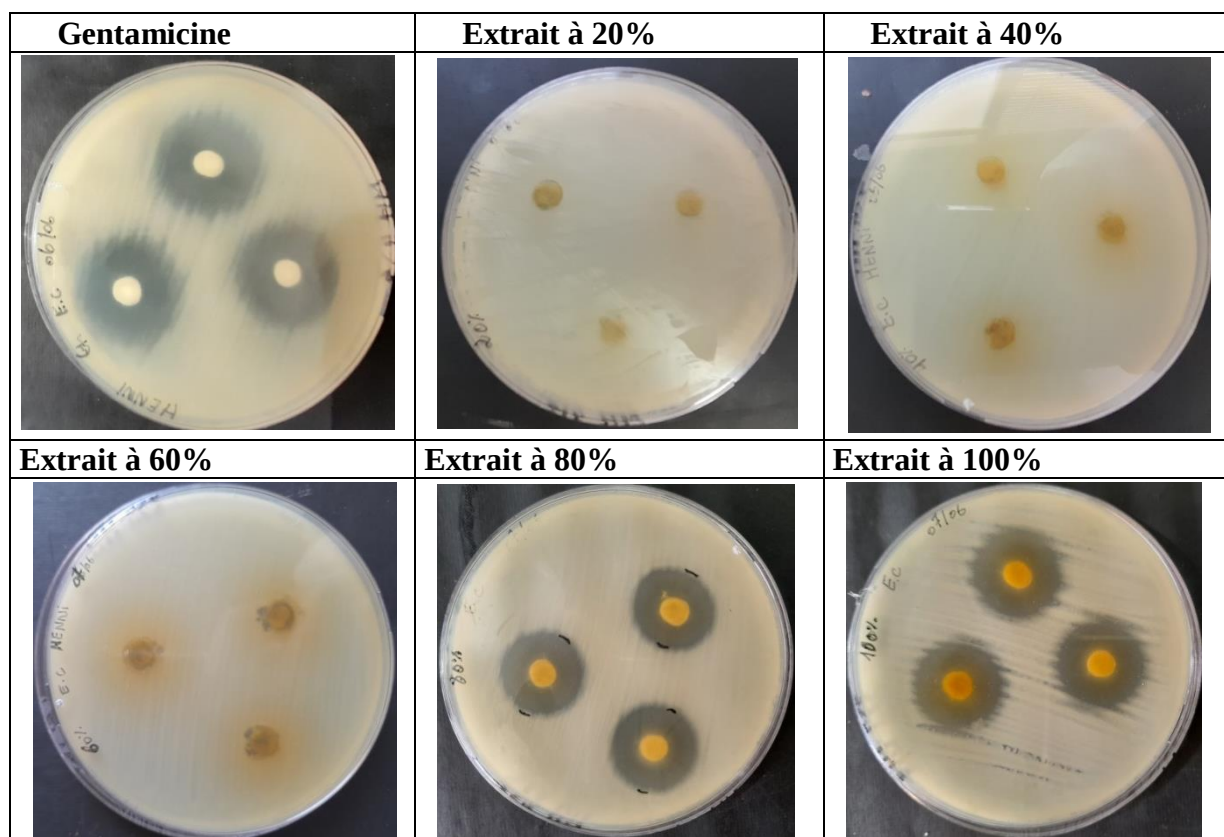


Figure 18. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* sur les variations des diamètres d'inhibitions au cours de la croissance d'*Escherichia coli*

Tableau10. Effet de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L sur les diamètres (mm) et les taux d'inhibitions (%) chez *Escherichia coli*.

Mesures	Antibiotique (Gentamicine)	Concentrations de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> %					Effet d'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i>
		20	40	60	80	100	
Diamètre d'inhibition (mm)	26.66 ^a ± 00.58	07.00 ^e ± 00.01	08.00 ^e ± 00.01	09.33 ^d ± 00.58	14.00 ^c ± 01.00	19.00 ^b ± 01.00	P<0.01
Taux d'inhibition (%)	100 ^a	26,25 ^e	30,01 ^e	35,01 ^d	52,51 ^c	71,32 ^b	P<0.01

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

Partie 03 : Résultats et discussion

1.3. Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

Escherichia coli a la capacité de se développer à la concentration de 20% d'extrait de *Laurus nobilis L.*, avec un taux de survie d'environ 55% ; par contre, a des fortes concentrations d'extrait de 40,60,80 et 100%, la bactérie est incapable de survivre après 24h d'incubation. La concentration de 40% d'extrait peut être donc considérée comme étant la concentration minimale inhibitrice (CMI) chez *E. Coli* (**Tableau 11**).

Par ailleurs, l'extrait de *Laurus nobilis L* préparé à 20% a présenté la capacité d'éliminer complètement la croissance d'*Pseudomonas aeruginosa*. Cette concentration est considérée comme étant la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Tableau 11**).

Tableau 11. Evaluation des CMI de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* vis-à-vis de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Escherichia coli*

Germes	Paramètres	Concentrations de l'extrait hydroéthanolique de <i>Laurus nobilis</i> (%)					
		0 (Témoin)	20	40	60	80	100
<i>E. coli</i>	Di	0.17	0.36 10 ²	0.46 10 ²	0.65 10 ²	0.87 10 ²	1.24 10 ²
	Df	1.769	1.26 10 ²	0.42 10 ²	0.55 10 ²	0.77 10 ²	1.10 10 ²
	DF-DI	1.59	0.89 10 ²	00	00	00	00
	S (%)	100	55	00	00	00	00
CMI d' <i>E. coli</i>		CMI=40%					
<i>P.a</i>	Di	0.04	0.46 10 ²	0.66 10 ²	0.78 10 ²	1.20 10 ²	1.90 10 ²
	Df	1.79	0.19 10 ²	0.36 10 ²	0.49 10 ²	1.19 10 ²	1.67 10 ²
	DF-DI	1.74	00	00	00	00	00
	S	100	00	00	00	00	00
CMI d' <i>P.aeruginosa</i>		CMI= 20%					

Di : Densité optique avant incubation ; Df : Densité optique après incubation ; S : taux de survie ; CMI : concentration minimale inhibitrice.

1.4. Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

L'extrait préparé à 20% n'a inhibé que partiellement la croissance d'*Escherichia coli*. Cependant, l'extrait à 40% donne un pourcentage de survie proche de 0.01%. Cette concentration représente donc, la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) vis-à-vis de la bactérie (Figure 19).

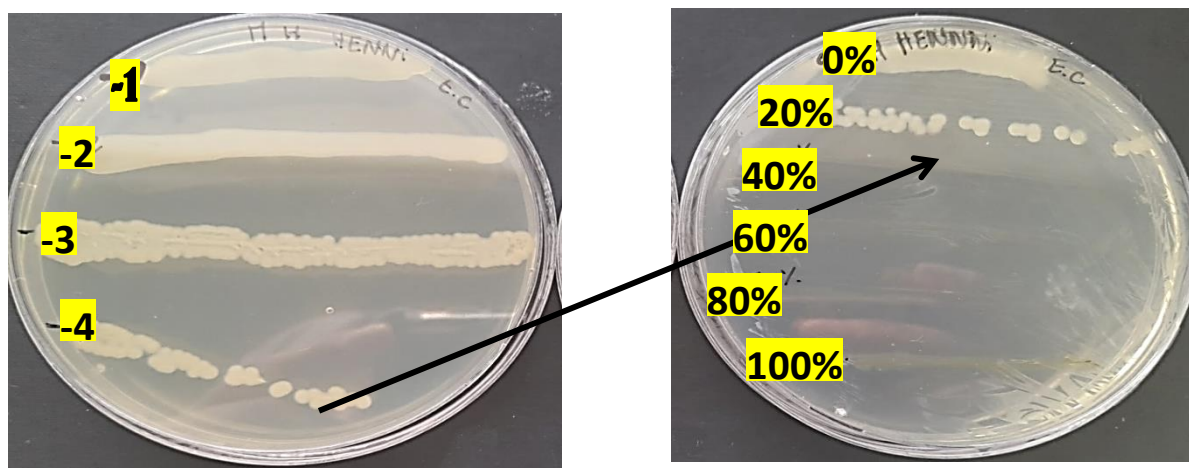


Figure 19. Concentration minimale bactéricide de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* chez *Escherichia coli*.

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, l'extrait préparé à 20% a inhibé totalement la croissance de la souche avec un pourcentage de survie proche de 0.01%. Cette dernière solution constitue donc la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) chez *Pseudomonas aeruginosa* (Figure 20).

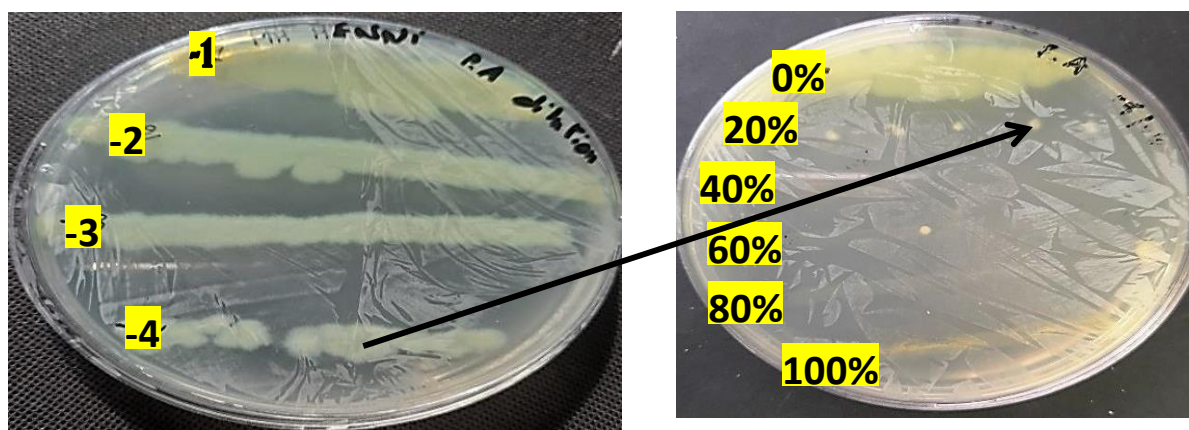


Figure 20. Concentration minimale bactéricide de l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* chez *Pseudomonas aeruginosa*

1.4.1. Type d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique de laurier

D'après le rapport CMB/CMI égale à 1, l'extrait de *Laurus nobilis L* a induit un effet antibactérien inhibiteur de types bactéricide chez *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Tableau 12**).

Tableau 12. Types d'inhibition de l'extrait hydroéthanolique de *laurus nobilis L* chez *E. Coli* et *P.aeruginosa*

Germes	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
<i>E. coli</i>	40%	40%	01	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i>	20%	20%	01	Bactéricide
Normes	- D'après (olivier, 2007) $CMB/CMI \leq 2$ (effet bactéricide) $CMB/CMI \geq 2$ (effet bactériostatique) - D'après (Marmonier, 1990) $CMB/CMI \leq 4$ (Effet bactéricide) $CMB/CMI \geq 4$ (Effet bactériostatique)			

2. Discussion :

Depuis quelques années, le marché connaît de jour en jour une demande sans cesse croissante pour les produits alimentaires enrichis d'ingrédients et de composés secondaires dérivés des denrées animales et végétales (tels les composés phénoliques ; les huiles essentielles....etc.) a effets bénéfiques pour la santé et pouvant être utilisés comme ingrédients naturels en substitutions aux additifs chimiques conventionnels susceptibles d'améliorer la conservation des produits alimentaires transformés.

Le Laurus nobilis L., connu sous le nom de baie, baie douce, laurier, laurier romain ou daphné (Alejo-Armijo et al., 2017) est un arbuste méditerranéen dont les feuilles persistantes et les fruits ont été traditionnellement utilisées dans les cuisines et la médecine populaire en raison de leurs multiples effets thérapeutiques et curatives (Marzouki et al., 2009). Elles ont été utilisées depuis longtemps en médecine populaire surtout pour traiter les infections virales, la toux, les rhumatismes, les troubles de la digestion et les diarrhées (Sharma et Singh, 2012). D'après (Saima, 2019) la feuille de laurier a de nombreuses autres activités biologiques telles cicatrisante, antioxydante, antibactérienne, antivirale, immunostimulante, anticholinergique, antifongique, insectifuge, anticonvulsivante, antimutagène et analgésique et anti-inflammatoire. De nos jour, ces bienfaits de la plante ont été expliquées scientifiquement par les multiples composés bioactifs constitutifs dont composés phénoliques, flavonoïdes, acides phénoliques, tanins (proanthocyanidines) et lignanes (Alejo-Armijo et al., 2017).

Cette étude constitue une modeste contribution sur l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *Laurus nobilis* riches en composés phénoliques vis-à-vis de deux germes impliqués dans certaines infections (nosocomiales et urogénitales) et toxi-infections alimentaires à savoir *E. coli* et *P. aerogénosa*.

Apparemment, l'extrait de la plante préparé à 40% a réduit totalement la prolifération des deux germes étudiés. Son utilisation à l'état pur par comparaison à la gentamicine considérée comme étant un antibiotique à large spectre a engendré une efficacité antimicrobienne d'environ 71.32% à l'égard d'*E. coli* et de 64.29% contre *P. aerogénosa* ; soit des diamètres d'inhibitions de 26.66 vs 19 mm et 37.33 vs 24 mm, respectivement.

D'après **(OuldYeroi, 2015)**, les composés bioactifs de laurier dont notamment phénoliques ont déjà démontré des effets antimicrobiens avérés contre de nombreux microorganismes pathogènes tels *salmonelles*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*...etc.

Cette activité antibactérienne semble être liée à la quantité de 1,8-cinéol et les terpènes, qui sont les principaux composants des feuilles de laurier, mais aussi sans doute à d'autres composés bioactifs dont phénoliques qui n'ont pas été encore recensés dans l'extrait expérimental à ce jour **(Alejo-Armijo et al., 2017)**.

Une étude a confirmé, également, que les feuilles de laurier contiennent une grande quantité de phénols et des activités antimicrobiennes et antioxydantes élevées évaluée par la réduction du fer, l'élimination des radicaux 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle, le peroxyde d'hydrogène, le superoxyde et le piégeage des radicaux d'oxyde nitrique **(Chahal et al., 2017)**.

Par ailleurs, d'après les résultats trouvés, *P. aerogénosa* est moins résistante à l'effet antimicrobien de type bactéricide qu'exerce l'extrait de romarin comparativement à son équivalent *E. coli*. En effet, les CMI et CMB ont été obtenus chez *E. coli* à la concentration de 40% d'extrait hydroéthanolique de laurier; alors que chez *P. aerogénosa* elles ont été remarquées à une concentration inférieure de 20% d'extrait de la plante.

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants de l'extrait de la plante, il est probable que leurs activités antimicrobiennes ne soit pas attribuable à un

mécanisme unique, mais à plusieurs mécanismes impliquant surtout une différence dans la membrane structurale des bactéries à Gram-négatives étudiées (**Kokate et Varma, 1970**).

A ce propos, il est bien établi qu'en plus de la couche de peptidoglycane, la paroi des bactéries gram-négatives a trois structures de polymères externes liées au peptidoglycane: lipoprotéine, membrane externe et lipopolysaccharide attaché à la membrane externe. Ces éléments dont la fraction peut différer d'une bactérie à une autre rendent la paroi cellulaire imperméable aux solutés liposolubles. Quant aux porines au niveau de la membrane externe, elles ne laissent passer que de petites molécules hydrophiles (**Arias et al., 2004**). Les bactéries à Gram négatives présentent également un espace périplasmique où s'effectue différemment la fragmentation des molécules introduites (à travers les porines) par les enzymes bactériennes (**Shan et al., 2007**). Les bactéries à Gram positif sont, ainsi, plus sensibles aux agents antibactériens car elles possèdent uniquement le peptidoglycane qui ne constitue pas une véritable barrière sélective à ces composés (**Arias et al., 2004 ; Tian et al., 2009**).

L' effet antimicrobienne des composés phénoliques de la plante peut être éventuellement expliqué par une dénaturation de la paroi bactérienne, une perturbation de la membrane cytoplasmique, une perturbation de la force motrice de proton, une fuite d'électron, une coagulation du contenu protéique des cellules, et une inhibition de la décarboxylation des acides aminés. Les extraits peuvent inhiber aussi la synthèse d'ADN, d'ARN, des protéines et des polysaccharides (**Bakkali et al., 2014**).

L'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L. récolté à Tizi Ghanif relevant de la wilaya de Tizi-Ouzou dans le cadre de cette étude semble contenir l'essentiel des composés phénoliques à effets antimicrobiens avérés contre *E. Coli* et *P. aeruginosa*. Son utilisation pharmaceutique, médicale et en industrie alimentaire peut constituer un moyen

naturel plus efficace que l'usage des antibiotiques et d'aditifs chimiques pour lutter contre les nombreux germes responsables d'infections alimentaires et nosocomiales.

Conclusion :

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, il apparaît que l'extrait hydroéthanolique de *Laurus nobilis* L., (laurier sauce) riche en composés phénoliques possède un fort potentiel antimicrobien.

Il a exercé in vitro un effet antibactérien très élevé vis-à-vis de la prolifération des deux souches étudiées *E. Coli* et *P.aeruginosa* impliquées dans diverses intoxications alimentaires et maladies infectieuses.

La gentamicine a enregistré les diamètres d'inhibitions les plus élevés chez *Pseudomonas aeruginosa* (37.33 mm) et chez *Escherichia coli* (26.66mm). Comparativement à cet antibiotique à large spectre, l'extrait pur non dilué de *Laurus nobilis* L. a présenté une efficacité antimicrobienne de 64.2% chez *Pseudomonas aeruginosa* et d'environ 71.3% chez *Escherichia coli*.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) chez *Pseudomonas aeruginosa* ont été enregistrées à 20% d'extrait hydroéthanolique de laurier et à 40% d'extrait chez *Escherichia coli*.

Cet extrait de la plante s'avère exercer une action de type bactéricide chez les deux souches étudiées (*E. coli* et *P.aeruginosa*).

En perspectives, il est souhaitable d'entreprendre, à l'avenir, d'autres recherches sur l'effet antimicrobien des extraits des feuilles de *Laurus nobilis* L sur d'autres germes de références responsables de maladies ou de toxi-infections alimentaires et d'explorer les possibilités de son utilisation comme additif naturel dans certains produits alimentaires

transformés en vue d'améliorer leurs qualités diététiques ainsi que leurs aptitudes à la conservation à différentes températures d'entreposages.

Référence bibliographies :

-A-

1. **Adamo R., Sokol S., Soong G., Gomez M. & Prince A., 2004.** Pseudomonas aeruginosa flagella activate airway epithelial cells through asialoGM1 and Toll-like receptor 2 as well as Toll-like receptor 5. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 30: 627-641.
2. **Agnès Cottalorda, 2020.** Diversité phénotypique et moléculaire d'isolats urinaires de Pseudomonas aeruginosa. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université,, Français,182p.
3. **Alejo-Armijo A., Altarejos J., Salido S., 2017.** Phytochemicals and biological activities of laurel tree (*Laurus nobilis*) *Nat. Prod. Commun.*;12:743–757.
4. **Aouchiche R, Boumghar N., 2015.** Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extraits de feuilles de laurier et de sous- produits de l'olivier. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique en biologie : Microbiologie appliquée : Université Mouloud Mammeri de Tizi –Ouzou. P 9.
5. **Aqilikhorasani MS. 1992.** Collection of drugs (Materia media). Enqelab-e-Eslami Publishing and Educational Organization, Tehran, p624–630.
6. **Arias M. E., Gomez J.D., Cudmani N. M., Vattuone M. A et Isla M. I., 2004.**Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. *Life Sciences.* 75 (2):p 191–202.
7. **Asikyan M. L., Kus J. V. & Burrows L., 2008.** Novel proteins that modulate type IV pilus retraction dynamics in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 190: 7022-7034.

-B-

8. **Bakkali et al., 2014.** 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 , ;10 :11 22 p.
9. **Baliere C. 2016.** Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC [Internet]. Université de Bretagne Occidentale.
10. **Barir O et Ghilani M. 2011.** Le Profil de résistance aux B-lactamines des souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine Hospitalière. Mémoire de master : Biochimie et biologie moléculaire, Biskra: Université Mohamed khider-Biskra.

11. **Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., Kingston D.G.I., 2007.** Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis* L., Food chemistry 104 : 1487-1484.
12. **Bekal S., Brousseau R., Masson L., Prefontaine G., Fairbrother J., and Harel J., 2003.** Rapid identification of *Escherichia coli* pathotypes by virulence gene detection with DNA microarrays. J. Clin. Microbiol. **41**(5): 2113–2125.
13. **Beloud A. 2005.** Plantes médicinales d'Algérie .5ème édition. Ben aknoun Alger.P124-125.
14. **Ben haj khalifa A., Moissenet D., Vu thien H., Khedher M., 2011.** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismes et modes de régulations Virulence. Annales de Biologie Clinique. 69 (4) : 393- 403.
15. **Bendjersia F.Z., Tazeroutia F., Belkhelfa-Slimani R., Djerdjourib B et Meklati B.Y., 2016.** Photochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. leaves extracts obtained by solvent- free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. Journal of Essential Oil Research. 28: 202–210p.
16. **berche P., gaillard J.L. et simone T.M., 1988.** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. Ed.Médecine sciences flammariion, Paris, 100-108-274 p.
17. **Bourgeois CM, Leveau JM., 1980.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Le contrôle microbiologique. Technique et documentation. Apria 3 : 331 p.

-C-

18. **Cady A.2006.** Etude génétique de la résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie.Étude Université de Nantes faculté de pharmacie.
19. **Carpentier J.P., Morillon M ., Petrognani R. et Cavallo J.D., 2003.**Infections à bacille pyocyanique. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. 8 : 25-50.
20. **Chaaben H., Motri S., & Ben Selma M. Z., 2015.** Etude des Propriétés Physico-chimiques de l'Huile de Fruit de *Laurus nobilis* et Effet de la Macération par les Fruits et les Feuilles de *Laurus nobilis* sur les Propriétés Physico-Chimiques et la Stabilité Oxydative de l'Huile d'Olive. Journal of new science (8) : 873-880.
21. **Chahal K.K., Kaur M., Bhardwaj U., Singla N et Kaur A., 2017.** A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 6(4): 1153-1161.

22. **Chaker H. 2012.** Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane. Thèse de doctorat : Grenoble: Université de Grenoble : Science agricole.
23. **Costerton, J. W. 2001.** Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends Microbiol* 9(2): 50-2.
24. **Cottalorda A. 2020.** Diversité phénotypique et moléculaire d'isolats urinaires de *Pseudomonas aeruginosa*, thèse de doctorat, l'Université de Rouen Normandie, Français, 182.
25. **Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., et Finlay, B., 2013.** Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 822–880.

-D-

26. **Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Ddegirmencioglu A., 2004.** Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering.* 88 (3) : 325-335.
27. **Diallo AM.2013.** *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale: prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier.

-E-

28. **El ouadnassi S. 2009.** infection a *pseudomonas* en milieu de reanimation, thèse de doctorat, universite cadi ayyad faculte de medecine et de pharmacie, Marrakech, 129P.
29. **Elmeskini K. 2011.** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*, thèse de doctorat, universite mohammed v faculte de medecine et de pharmacie, rabat, 117p.
30. **Erler F., Ulug I., Yalankaya B. 2006.** Repellent activity of five essentiel oils against *Cubx pipiens*. *Fitoterapia.* 77: 491-494 p.

-F-

31. **Fidan H., Stefanova G., Kostova I., Stankov S., Damyanova S., Stoyanova A et Zheljazkov V. D. 2019.** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria. *Molecules.* 24(4) :804.
32. **Filloux, A. V., I. 2003.** Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Médecine sciences* 19(1): 7.

33. **Flamini G, Tebano M, Cioni PL, Ceccarini L, Ricci AR, Longo I. 2007.** Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *Journal of Chromatography A*, Vol.1143, p 36–40.

-G-

34. **Geerts P., Rammeloo J., Van Cauteren G., 2002.** *Laurus nobilis* : le livre du laurier. Gand: Ed. Ludion; 131 p
35. **Guignard J-L, 1998.** *Biochimie végétale*. Dunod, Paris., pp 274.
36. **Guinée P, Jansen WH, Wadström T, Sellwood R., 1981.** *Escherichia coli* associated with neonatal diarrhoea in piglets and calves. In: *Laboratory Diagnosis in Neonatal Calf and Pig Diarrhoea* [Internet]. Springer, Dordrecht. p. 126-62.
37. **Gürbüz ø., Üstün O., Yeúilada E., Sezik E., Akyürek N., 2002.** In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions, *J. Ethnopharmacolog.* 83: 241-244.

-H-

38. **Hafiane A. et Ravaoarinoro M., 2008.** Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. *elsevier masson, Medecine et maladies infectieuses.* 38 : 238-47.
39. **Henry R. 2015.** Etymologia: *Escherichia coli*. *Emerg. Infect. Dis.* 21(8): 1310.

-I-

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

-J-

41. **Johnson, T. J., Siek, K. E., Johnson, S. J., et Nolan, L. K., 2006.** DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains. *J. Bacteriol.* 188, 745–58.

-K-

42. **Kai A., Konishi N., et Obata H., 2010.** [Diarrheagenic *Escherichia coli*.] *Nihon Rinsho. Jpn. J. Clin. Med.* 68(1): 203–207. [In Japanese.]
43. **Kaper, J. B., Nataro, J. P., and Mobley, H. L. T., 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 123–140.

44. **Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM., 2010.** Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol.* 140(3-4):360–370.
45. **Khan A., Bryden N. A., Polansky M. M., & Anderson R. A., 1990.** Insulin potentiating factor and chromium content of selected foods and spices. *Biological trace element research* 24(2): 183-188.
46. **Kivçak B, Mert T., 2002.** Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurusnobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, Vol. 73, p 242-243.
47. **Kone K. 2017.** Etude microbiologique de l'eau de boisson à Diori : Relation entre la malnutrition et le portage d'*Escherichia coli* à travers la consommation d'eau de boisson [Thèse]. Bamako : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.
48. **Kra A-K-M, 2001.** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences, Univ, Abidjan, pp 126.

-L-

49. **Lyczak, J. B., C. L. Cannon and G. B., 2000.** "Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist." *Microbes Infect* 2(9): 1051-60.

-M-

50. **Marion G, 2019.** Virulence des *Escherichia coli* entérohémorragiques : rôle central du monoxyde d'azote dans le devenir de l'infection et identification de nouveaux déterminants impliqués dans l'adaptation du pathogène à l'environnement digestif, thèse de doctorat, Présentée à l'Université Clermont-Auvergne, 222p.
51. **Marzouki H., Piras A., Salah K.B.H., Medini H., Pivetta T., Bouzid S., Marongiu B., Falconieri D., 2009.** Essential oil composition and variability of *Laurus nobilis* L. growing in Tunisia, comparison and chemometric investigation of different plant organs. *Nat. Prod. Res.* 23:343–354.
52. **Matsuda H., Shimoda H., Uemura T., Yoshikawa M., 1999.** Preventive effect of sesquiterpenes from Bay leaf on blood ethanol elevation in ethanol-loaded Rat, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 9: 212-216.p.
53. **Mattick J.S. 2002.** Type IV pili and twitching motility. *Annu Rev Microbiol.* 56: 289– 314

54. **Moroh J-L-A., Bahi C., Dje K., Loukou Y.G., Guede-guina F., 2008**, Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides*(Baker) milne-redheat (rubiceae) acetatque extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, (77),44-61.

-N-

55. **Nataro JP, Kaper JB., 1998**. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 11(1):142-201.
56. **Nguyen TV, Van PL, Huy CL, Gia KN, Weintraub A., 2005**. Detection and Characterization of Diarrheagenic *Escherichia coli* from Young Children in Hanoi, Vietnam. J Clin Microbiol. 43(2):755-60.

-O-

57. **Oulymata G.2007**. Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif [Thèse]. Dakar : Université Cheikh Anta Diop de Dakar;

-P-

58. **Pachori, P., Gothwal, R., and Gandhi, P., 2019**. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. Genes Dis. 6, 109– 119.
59. **Palleroni N.1984**. Manual of Systematic Bacteriology.USA. 41–171.
60. **Papachristos D. P., &Stamopoulos D. C. 2002**. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelidesobtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of storedproductsresearch 38(2) : 117-128.
61. **Pariente L. 2001**. Dictionaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
62. **Payros D. 2012**. Étude de l'effet de la colonisation des nouveau-nés par des souches de *Escherichia coli* génotoxiques sur le développement et la fonctionnalité de la barrière intestinale [Thèse]. Toulouse : Université Paul Sabatier.
63. **Prescott L M., J P Harley and D A Klein., 2003**. Microbiologie. De Boeck Supérieur. pp: 1137

-Q-

64. **Quezel P, Santa S. 1962**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiquesMéridionales. Tome I Edition. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique. P565.

-R-

65. **Rocchetta H. L., Burrows L. L. Lam J. S., 1999.** Genetics of O-antigen biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 63:523-553.
66. **Rozman V., Kalinovic I., Korunic K., 2007.** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects, *Journal of Stored products Research* 43: 349-355.

-S-

67. **salacha R. 2010.** Les Patates de *Pseudomonas aeruginosa* : Sécrétées ou non Sécrétées ? Telle est la question, thèse de doctorat, université de la méditerranée faculté des sciences de luminy, 168p.
68. **Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., et al. 2019.** Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog.* 11.
69. **Sayyah M, Valizadeh J, Kamalinejad M. 2002.** Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures. *Phytomedicine*, Vol. 9, n°3, p 212-216.
70. **Scaletsky I.C.A., Fabbricotti S.H., Carvalho R.L.B., Nunes C.R., Maranhão H.S., Morais M.B., Fagundes-Neto U. 2002.** Diffusely adherent *Escherichia coli* as a cause of acute diarrhea in young children in northeast Brazil: A case-control study. *J. Clin. Microbiol.* 40(2): 645–648.
71. **Sedef Nehir Yavuz E., Karagozlu N., Karakaya S et Sahin S. 2014.** Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from *Laurus nobilis* L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydro distillation. *Food and Nutrition Sciences.* 5: 97-106
72. **Sharma A., Singh J.K.S. Bay leaves. In: KV P., 2012.** Editor. *Handbook of Herbs and Spices.* Woodhead Publishing Ltd. pp. 73–85.
73. **Simic M, Kundakovic T, Kovacevic N., 2003.** Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, Vol 4, p613–616.
74. **Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., Peter W.J., 2004 .** *Microbiology of Waterborne Diseases.* Ed.Elsevier Academic Press, 71-132 p.

75. **Strateva, T. et I. Mitov .2011.** "Contribution of an arsenal of virulence factors to pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections." *Annals of Microbiology* 61(4): 717-732.
76. **Sultana et al. 2009 :Sultana B., Anwar F.and Ashraf .A .2009.** Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts *Molecules* 14, 2167-2180

-T-

77. **Terlizzi M.E., Gribaudo G., Maffei M.E. 2017.** UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: Virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies. *Front. Microbiol.* 8: 1566.
78. **Tian F., Ji B., Yang J., Zhang G., Chen Y and Luo Y. 2009.** Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla Chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry.* 113(1): 173-179.

-V-

79. **Valderrey, A. D., M. J. Pozuelo, P. A. Jimenez, M. D. Macia, A. Oliver and R. Rotger .2010.** "Chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa* of patients with obstructive lung diseases: cystic fibrosis, bronchiectasis, and chronic obstructive pulmonary disease." *Diagn Microbiol Infect Dis* 68(1): 20-7.
80. **Van Delden, C.and B.H., 1998.** Iglewski. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg Infect Dis.* 4(4):551-560.

-Y-

81. **Yakhlef G., Laroui S., Hambaba L., Aberkane M. C., &Ayachi A. 2011.** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie* 9(4) : 209-218.
82. **Yoshikawa M, Shimoda H, UemuraT, Morikawa T, Kawahara Y, Matsuda H. 2000.** Alcohol Absorption Inhibitors from Bay Leaf (*Laurus nobilis*): Structure-Requirements of Sesquiterpenes for the Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 8, p 2071-2077. Zenginet.

Annexes

➤ **Muller Hinton agar (38g/l)**

Extrait de viande	3g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar Agar	17g
Eau distillée.....	1000ml
pH finale	7.3

➤ **Bouillon Muller Hinton**

Extrait de viande	3g
Hydrolysate de caséine.....	17.5g
Amidon.....	1.5g
Agar Agar	17g
Eau distillée.....	1L
pH finale.....	7.3

➤ **Eau physiologique :**

Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1L

➤ **Bouillon nutritif :**

Peptones.....	10g
Extrait de bœuf	1g
Extrait de levure.....	2g
Chlorure de sodium.....	5g
pH finale.....	6.8