

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CENTRE UNIVERSITAIRE BELHADJ BOUCHAÏB D'AÏN-TÉMOUCHENT



Institut des Sciences
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Science Biologique

Option : Biochimie

Présenté par :

Mlle Tahraoui Hadjar

Mlle Si mohammed Esmaa

Mlle Sidi Yakhlef Wafaa

Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la plante médicinale *Laurus nobilis* de la région d'Ain Temouchent

Encadrant :

M. Bennabi Farid

Maitre de conférence "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenance : 24 /09 /2020

Devant le jury composé de :

Président : Mme Derrag « MCB »C.U.B.B.A.T

Examineur : Mme Chibani « MCB »C.U.B.B.A.T

Encadreur : Mr Bennabi « MCB »C.U.B.B.A.T

Remerciement

Avant de commencer la présentation de ce rapport, nous remercions Dieu et nous profitons l'occasion pour remercier du fond du cœur toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Mr Bennabi professeur encadrant pour son soutien, son aide et sa gentillesse.

Nos remerciements aussi à toute l'équipe de labo :

M. Mehammadi Walid, et M. Rahmani Khaled pour leurs aide et encouragement.

Nos plus vifs remerciements aux membres de jury.

Nous remercions tous nos enseignants qui nous ont suivis le long de nos études.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, Je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : Mon cher papa.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : ma maman adorable.

A mon cher frère, je le remercie énormément pour ses conseils et son aide tout au long de ce projet, que dieu lui offre la chance et le bonheur.

A mon cher petit frère qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes chères grand-mères, que dieu leur donne une longue vie.

A mes amis,mes cousines je leurs remercie pour leurs amour et leurs encouragements.

Tahraoui Hadjar

Dédicace

Je dédie ce fruit de mes études aux personnes qui l'ont irriguée d'amour et qui l'ont bien protégée par leur patience :

Mes parents : mon chère père Benamar et ma chère mère Hayat, quelles sont les choses les plus précieuses et les plus belles de ma vie.

A Ma chère grand-mère Benazouz Fatna, que Dieu lui fasse miséricorde.

A Ma chère deuxième grand-mère kheira, que Dieu la protège.

A Mes chères sœurs marwa et Anfel.

A Mon fiancé abdelhak.

Si Mohammed Asmaa

Dédicace

*Je dédie ce fruit de mes études aux personnes qui l'ont irriguée d'amour et qui
l'ont bien*

protégé par leur patience :

*Mes parents : mon chère père cherif et ma chère mère djamila, quelles sont les
choses les*

plus précieuses et les plus belles de ma vie.

A Mes chères sœurs faiza ,bassma,warda

A Mon mari nori et mon fils amir

Sidi Yekhlef Wafaa

Sommaire

Remerciement

Dédicasse

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction.....	1
La partie bibliographique.....	3
Chapitre 1 : La phytothérapie.....	4
1 . Historique de la phytothérapie	4
2. définition de la phytothérapie.....	7
3. Generalité sur la plante medicinale.....	7
3.1. Définition Plante medicinale	7
3.2. L'origine des plantes médicinales.....	7
3.2.1. plante de culture	7
3.2.2. Plante sauvage.....	8
Chapitre2 : Métabolisme secondaire.....	9
1.les metabolites secondaire	9
1.1classification des metabolites secondaire	9
1.1.1.les composes phénoliques	9
1.1.2. Les terpènes.....	10
1.1.3.Les saponines	10
Chapitre 3 : Généralité sur la plante laurus nobilus.....	12
1- Famille des lamiacée	12
2- Définition de la plante	12
3- Taxonomie.....	13

4- Description botanique	13
5- Répartition géographique	13
Chapitre 4 : les huiles essentielles.....	15
1.Généralité sur les huiles essentielles	15
2. historique des huiles essentielles	15
3. Localisation	15
4. la biosynthese des huiles essentielles	16
4.1 Voies des terpenes	16
4.2 Voies des phénylpropanes	16
5. La composition des huiles essentielles	17
6. Role des huiles essentielles dans les plantes	18
7. Les activités biologiques des huiles essentielles	18
7.2 activité antimicrobienne.....	18
7.2.1 le mode d'action contre les bacteries	19
7.2.2 le pouvoir antiseptic.....	19
8. Procédés d'extraction	19
8.1 . Extraction par hysro ditillation a l'eau	19
8.2. Extraction par distillation et entrainement a la vapeur d'eau	20
8.3. Extraction par les solvants organiques	21
8.4. Expression a froid.....	21
8.5. Extraction par CO2 supercritique	22
La partie experimentale	23
Materiels et methodes	25
1. La matiere végétal	25
2. Collecte de matériel végétal	25
3. Extraction d'huile essentielle	26
3.1. Extraction par hydro distillation.....	26
3.2. Calcul de rendement en huile essentielle.....	27

4. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	28
4.1. Matériels.....	28
4.2. Méthodes	29
4.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide	29
4.2.2. Méthode de diffusion en milieu liquide	32
Résultats et discussion.....	33
1. Rendement d'extraction.....	33
2. Activité antibactérienne d'huile essentielle.....	34
2.1.Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque	34
2.2. L'interaction synergique entre l'huile essentielle et quelque antibiotique :.....	36
2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactericide (CMB)	39
2.4. Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE	41
Conclusion	43
Références bibliographiques	45

Listes des abréviations

µg : Micro – Gramme

µl : Micro – litre

g : gramme

mg : milligramme

ml : Millilitre

mm : millimètre

T (p) : Témoin positif

T (N) : Témoin négatif

ATCC : American Type Culture Collection

DMSO : diméthyl-sulfoxyde

MH : Le milieu de culture Mueller Hinton

BMH : Bouillon Mueller Hinton

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactericide

HE : huile essentielle

RHE : Rendement de l'huile essentielle

MHE : Quantité d'extrait récupéré

Ms : Quantité de la matière sèche

m : masse

GEN : Gentamicine

AMP : Ampiciline

OF : Ofloxacine

MAPs : Medicinal and aromatic plants

Liste des figures

N° de figure	Titre	Page
1	Adult male Jilda swallowing leaf of <i>Aspilia massambicensis</i> (Oliv.) Asteracea Mahale National Park (Tanzania) 1993	4
2	Squelette de base des polyphénols (Vermerris et Nicholson,2006)	9
3	la molécule d isoprène. (Van de Braak et leijten ;1999)	10
4	Structures de quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011)	10
5	Les feuilles de la plante <i>L.nobilis</i>	11
6	Une carte de répartition géographique de <i>L.nobilis</i>	13
7	Structure chimique d'isoprène.	16
8	Shéma - Extraction par hydro-distillation	18
9	Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur de l'eau	19
10	Schéma simplifié d'une opération d'extraction au CO2SC avec séparation par détente.	21
11	Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle (hydrodistillation)	24
12	une image qui montre les deux phases (organique et aqueuse)	24
13	Les souches bactériennes utilisées	26
14	L'étape de l'ensemencement sur la surface gélosé d'une boite.	28
15	Les boites gélosées ensemencées des souches bactériennes (<i>P.aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> 25922, <i>S.aureus</i> 43300, <i>E.coli</i>)	28
16	Le dépôt des disques sur une surface gélosée.	29
17	Une photo représentant la réalisation de l'activité antibactérienne d'HE <i>Laurus nobilis</i> par la méthode de microdilution	31
18	Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle <i>L.nobilis</i> avec quatre souches bactériennes	33
19	Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de <i>L.nobilis</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque.	34
20	Représentation graphique de la sensibilité bactérienne avec la Gentamicine	36
21	Représentation graphique de la sensibilité bactérienne avec l' Ofloxacine	36
22	Représentation graphique de la sensibilité bactérienne avec l' Ampiciline	37
23	Représentation graphique de CMI	39

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
1	Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle <i>L.nobilis</i> réalisé par la méthode de diffusion sur disque	34
2	La sensibilité bactérienne aux antibiotiques	35
3	Résultats des CMI de l'activité antibactérienne d'huile essentielle <i>Laurus nobilis</i> réalisé par la méthode des puits	38
4	Le rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes.	41

Résumé

Cette étude visait à explorer les activités antibactériennes de l'huile essentielle des feuilles de *L. nobilis* de la région d'Ain Témouchent. L'huile essentielle a été soumise à un criblage pour son activité antibactérienne possible in vitro, contre quatre souches de bactéries pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ACC 43300), nous avons récupéré l'huile essentielle par la technique d'hydrodistillation dont le rendement 0.3125, l'huile essentielle a réagi positivement sur ces souches microbiennes testées par la méthode de l'aromatogramme avec des zones d'inhibition pour des diamètres compris entre 12 et 20 mm, L'interaction synergétique entre l'huile essentielle de *L. nobilis* avec quelques antibiotiques a été évaluée, et les CMI et les CMB ont été déterminées par la méthode des puits de la micro-dilution en milieu liquide qui a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrices CMI de la même valeur 12.5 mg/ml chez toutes les bactéries, CMB de 50 mg/ml et d'après le calcul de rapport CMB/CMI on a constaté que HE de *L. nobilis* exerce une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes.

Mot clés : huile essentielle, *L. nobilis*, action antibactérienne, inhibition, effet synergétique.

Abstract

This study aims to explore the antibacterial activities of the Ain Temouchent region's *L.nobilis*' leaves' essential oil. The EO was screened for its possible antibacterial activities in vitro against four pathogenic bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ACC 43300) we have extracted the EO using the hydrodistillation method whose yield is 0.3125%. the EO had a positive reaction to these strains tested by the aromagram method with zones of inhibition for diameters between 12 and 20 mm. the synergistic interaction between the EO and some antibiotics was evaluated. Also, the MIC and MBC were determined by the microdilution method in liquid medium using 96-well that allowed obtaining the same value 12.5 mg/ml of MIC for all the bacterias and 50mg/ml of MBC. According to the ratio MBC/MIC, we concluded that the EO of *L.Nobilis* has bactericidal activity against all bacterial strains.

Keywords: essential oil, *L. nobilis*, antibacterial action, inhibition, synergistic effect.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف الأنشطة المضادة للبكتيريا لزيت أوراق نبات *L.nobilis* الأساسي في منطقة عين تموشنت. تم فحص الزيت الأساسي لأنشطته المحتملة المضادة للبكتيريا في المختبر ضد أربع سلالات بكتيرية ممرضة و هي الزائفة الزنجارية، الكروية العنقودية الذهبية ATCC 25922 و الكروية العنقودية الذهبية ACC 43300 و الإشريكية القولونية. قمنا باستخراج الزيت الأساسي باستخدام طريقة التثبيت المائي التي تبلغ حصتها 0.3125%. كان لـ الزيت الأساسي رد فعل إيجابي على هذه السلالات التي تم اختبارها بواسطة طريقة التصوير العطري مع مناطق تثبيط بأقطار تتراوح بين 12 و 20 مم. تم تقييم التفاعل التآزري بين الزيت الأساسي وبعض المضادات الحيوية. أيضًا ، تم تحديد MIC و MBC بواسطة طريقة التخفيف الدقيق في وسط سائل باستخدام 96 بئرًا مما سمح بالحصول على نفس القيمة 12.5 مجم / مل من MIC لجميع البكتيريا و 50 مجم / مل من MBC. وفقًا لنسبة MBC / MIC ، خلصنا إلى أن الزيت الأساسي لـ *Laurus nobilis* له نشاط مبيد للجراثيم ضد جميع السلالات البكتيرية.

Introduction

Depuis l'antiquité, Les plantes médicinales ont été utilisées en phytothérapie comme remède contre plusieurs maladies, vue leur richesse en centaines, voire en milliers de composants ayant des vertus thérapeutiques (**Franchomme et al., 2001**). Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**)

Parmi les 800 000 espèces de plantes prospérant sur la planète, un nombre relativement important est capable de synthétiser des composants aromatiques que l'on appelle les huiles essentielles (HE) (**Roux, 2008**).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatiles issus du métabolisme secondaire des plantes. Elles sont dotées de plusieurs activités biologiques à savoir antivirale, anti-inflammatoire, antioxydante et anti bactérienne (**Oussou et al., 2010**). A l'heure actuelle, plusieurs travaux ont envisagé l'utilisation de ces composés bioactifs comme alternatives aux multiples substances synthétiques. En effet, la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques considérés comme la solution quasi universelle aux infections, est à l'origine de l'engouement suscité pour les plantes aromatiques qui sont capables d'offrir des soins plus efficaces et moins agressifs pour l'organisme (**Dorman et al., 2000**).

L. nobilis., membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la 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**).

L'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de laurier a été employée pour le soulagement des hémorroïdes et des douleurs rhumatismales .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**). L'huile (beurre) de laurier est utilisée en application externe pour ses propriétés cicatrisantes et antirhumatismales, en pommade contre les inflammations cutanées. En usage interne, elle est traditionnellement utilisée contre l'apoplexie, comme dépuratif du sang, contre la grippe et autres symptômes respiratoires (**Ballabio et Goetz,2010**).

Les plantes médicinales sources de ces substances bioactives sont largement répandues dans la nature. L'Algérie abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable. Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques, nous nous sommes intéressées à une plante d'usage assez répandu en médecine traditionnelle algérienne et poussant à l'état spontané dans la région aïn temouchent , à savoir: *Laurus nobilis* .étant un épice utilise surtout dans la cuisson des aliments .

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l- activité antibactérienne de l huile essentielle de la plante médicinale *laurus nobilis* et pour connaître la meilleure efficacité antibactérienne dans différents domaines.

*La partie
bibliographique*

Chapitre 1 : La phytothérapie

1 . Historique de la phytothérapie

□ **Les animaux : les premiers utilisateurs de plantes thérapeutiques !** Ces animaux ont découvert les premières plantes médicinales. C'est la *zoopharmacognosie*. Deux espèces africaines d'*Aspilia* (Asteraceae), qui sont consommées par les chimpanzés sauvages d'une manière inhabituelle, se sont révélées contenir l'antibiotique puissant thiarubrine A comme phytochimie des feuilles. Sa présence dans le matériel foliaire renforce l'opinion selon laquelle le comportement alimentaire des chimpanzés sauvages est lié à des effets physiologiques ou pharmacologiques particuliers sur les animaux. **(E Rodriguez et al. 1985)**

D'autres espèces animales savent reconnaître les vertus curatives de certaines plantes comme, entre d'autres, les éléphants de bornéo qui utilisent *L'Entada schefferi* pour l'endurance avant leurs longues marches et possiblement comme anti-douleur, et les loups sud-américains qui mangent *Solanum Lycocarpon* pour guérir les maux intestinales...et il est probable que l'homme a procédé de même dans les temps anciens et de plus a codifié ce savoir qui a ainsi servi de base à la pharmacopée actuelle **(Micheal A. Huffman, 2003)**



Figure 1 : Adult male Jilda swallowing leaf of *Aspilia massambicensis* (Oliv.) Asteracea Mahale National Park (Tanzania) 1993

Babylone et Sumer

Six cents tablettes d'argile, datant de 3000 avant notre ère, mentionnent des formules médicamenteuses à base de plantes telles que Je myrte, Je chanvre, Je pavot, la jusquiame, Je thymet Je saule (**Verbois, 2015**)

Le monde égyptien

Le papyrus Ebers, découvert en 1862 par Edwin Smith, à Louxor, est l'un des plus anciens traités médicaux rédigés. Il daterait de 1600 avant notre ère. Comportant 877 paragraphes, un certain nombre de maladies sont décrites comme l'ophtalmologie, la gynécologie, la gastro-entérologie mais aussi les désordres mentaux (tels que la dépression ou la démence), ainsi que les prescriptions correspondantes. Il répertorie plus de 700 plantes, dont Je safran, la myrrhe, Je lotus bleu, l'aloès, l'encens, Je chanvre ou la résine, pour n'en citer que quelques-unes. (**Verbois, 2015**)

Dans le monde chinois

Le livre chinois le plus ancien sur les racines et les herbes (pen T'Sao) écrit par l'empereur Shen Nung vers 2500 avant JC traite 365 drogues (**Biljana Bauer Petrovska, 2012**)

Chez les grecques et les romains

L'écrivain le plus éminent sur les drogues végétales était Dioscoride « Le père de la pharmacognosie » qui, en tant que médecin militaire et pharmacognosiste de l'armée de Néron, a étudié les plantes médicinales partout où il voyageait avec l'armée romaine. Vers 77 après JC, il a écrit l'ouvrage «De Materia Medica» qui offre de nombreuses données sur les plantes médicinales

Le médecin romain le plus distingué (en même temps un pharmacien), Galen (131 AD – 200), a compilé la première liste de médicaments à action similaire ou identique (médicaments parallèles), qui sont interchangeable - «De succedanus». Galen a également introduit plusieurs nouveaux médicaments à base de plantes en thérapie que Dioscorides n'avait pas décrits, par exemple, Uvae ursi folium, utilisé comme uroantiseptique et diurétique doux même de nos jours. (**Biljana Bauer Petrovska, 2012**)

Arab islamique

Avicenne (Ibn-sina 980-1037) un médecin qui s'est connu par son vaste "Canon de médecine".

Jaber Ibn Hayan et d'autres ont extrait différents composés anesthésiques des herbes locales pour le local ou le général anesthésie.

Daoud Al-Antaki, a utilisé différentes herbes pour traiter les patients et a publié un livre sur les herbes médicinales résumant les connaissances de ses prédécesseurs. Ibn Al-Bitar, en L'Andalousie, en Espagne, a introduit environ 350 nouvelles espèces végétales comme herbes médicinales pour traiter les maladies humaines. Abu Al-Abbas et d'autres herboristes ont publié plusieurs livres et dictionnaires sur l'utilisation des plantes médicinales décrivant chaque espèce de plante, les parties de la plante utilisé, la procédure de préparation utilisée pour chaque remède et la procédure de traitement certaines maladies.

Ibn Zuhr qui a écrit aussi sur la phytothérapie et leurs préparations. **(Bashar Saad, 2011)**

L'inde

La phytothérapie (Rasavidyâ) est l'un des éléments clés des soins traditionnels préconisés par le système médicinale traditionnel Âyurveda qui est apparu et développé entre 2500 et 500 avant JC en Inde et est toujours couramment utilisée aujourd'hui. En Inde, environ 25 000 formulations efficaces à base de plantes sont utilisées dans les méthodes traditionnelles. **(M. M. Pandey et al, 2013)**

Les phytothérapeutes indiens ont établi une classification distinctive et sophistiquée après avoir observé les interactions entre la plante, son dosage et les effets (parfois) secondaires de certains composants actifs. **(Verbois,2015)**

2. définition de la phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe.. **(Jean-Yves Chabrier, 2018)**

3. Generalité sur la plante medicinale

Depuis les temps anciens, à la recherche du sauvetage de leur maladie, les gens ont cherché des médicaments dans la nature. Les débuts de l'utilisation des plantes médicinales ont été instinctifs, comme c'est le cas avec les animaux. Étant donné qu'à l'époque il n'y avait pas suffisamment d'informations concernant les raisons des maladies ou concernant quelle plante et comment elle pouvait être utilisée comme remède, tout était basé sur l'expérience. Avec le temps, les raisons de l'utilisation de plantes médicinales spécifiques pour le traitement de certaines maladies ont été découvertes, les plantes avaient été la source de traitement et de prophylaxie. **(Biljana Bauer Petrovska, 2012)**

3.1. Définition Plante medicinale

une définition officielle en est donnée par la jurisprudence : "une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal, c'est-à-dire que les plantes sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales. Dans le seul cas où ces 27 deux conditions sont réunies, alors la plante appartient à l'usage pharmaceutique. **(Jean-Yves Chabrier, 2018)**

3.2. L'origine des plantes médicinales

3.2.1. plante de culture

Au Moyen-Âge, les compétences de guérison, de culture de plantes médicinales et de préparation de médicaments se sont déplacées dans les monastères. La thérapie était basée sur 16 plantes médicinales, que les médecins-moines cultivaient couramment dans les monastères

comme suit: sauge, anis, menthe, graines grecques, sarriette, tanaïsie, etc.. **(Biljana Bauer Petrovska, 2012)**

3.2.2. Plante sauvage

Au 7^{ème} siècle après JC, les slaves utilisaient des plantes sauvages contre plusieurs insectes nuisibles, à savoir les poux, les puces, les mites, les moustiques et les araignées et *Aconitum napellus* comme poison dans la chasse. **(Biljana Bauer Petrovska, 2012)**

Les plantes toxiques à vocation de contrepoison qui sont définies par (*Shen Nung Ben Cao jing*), datent de 2900 avant notre ère, ayant les potentialités de combattre les maladies graves ou chroniques l'utilisation des plantes dans ce cas précis repose sur le principe du « yi du kong du » un poison pour contrôler un autre poison, car selon l'approche des thérapies-énergétiques « ce qui provoque une maladie peut aussi la guérir » **(Verbois, 2015)**

Chapitre2 : Métabolisme secondaire

1.les metabolites secondaire

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes (**Lutge et al., 2002**) En effet, les plantes médicinales sont les principales sources de ces métabolites qu'ont des propriétés pharmacologiques puissantes sur l'homme (**Primrose, 2004**).

1.1classification des metabolites secondaire

Ils appartiennent à des groupes chimiques variés : alcaloïdes, terpènes et composés phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

1.1.1.les composes phénoliques

Les polyphénols ou les composés phénoliques seuls regroupent nombreuses classes de composés chimiques qui présentent tous un point en commun, la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (**Hennebelle et al., 2004**).

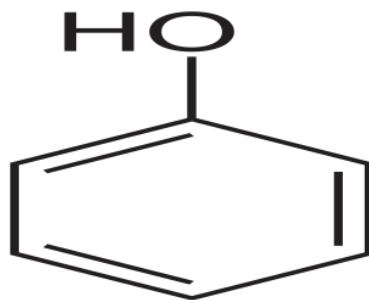


figure 02: Squelette de base des polyphénols (Vermerris et Nicholson,2006)

1.1.2. Les terpènes

Ce sont des hydrocarbures produits par de nombreuses plantes, volatiles ou non et représentent une grande famille de molécules du métabolisme primaire et secondaire (**Guitton,2012**). La molécule de base de ces composés est l'isoprène de formule C₅H₈ Selon le nombre de répétitions de cette dernière, on distingue les hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes (C₄₀) et polyterpènes. (**Van de Braak et leijten ;1999**)

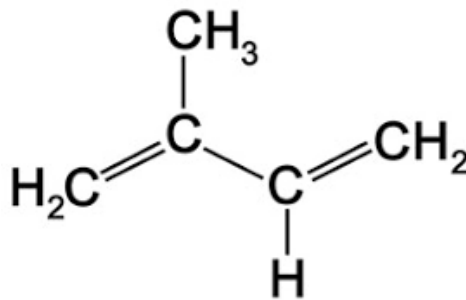


Figure3 :la molécule d isoprène. (Van de Braak et leijten ;1999)

Aujourd'hui, les terpénoïdes ont plusieurs usages dans différents secteurs. Ils sont largement utilisés dans le secteur de la nutrition humaine (saveur, conservateur) et l'industrie du parfum .Depuis ces dernières années et avec la découverte des caractéristiques anticancéreuses de certains monoterpènes, leur importance dans le secteur pharmaceutique a été renforcée (**Van de Braak et leijten ;1999**)

1.1.3.Les saponines

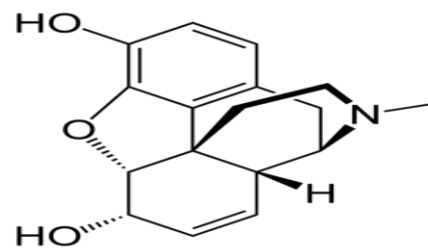
Le nom saponine dérive du mot latin « sapo », qui signifie savon ; ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou à plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Une saponine est définie comme un glycoside de stéroïde ou de tri-terpène. Ainsi, on distingue fondamentalement les saponines stéroïdiques et les saponines tri-terpéniques. Ils manifestent des propriétés hémolytiques, antimicrobiennes, insecticides, molluscicides antiinflammatoires et antalgiques. (**Vincken et al., 2007**)

1.1.4..Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine végétale, qui présentent une structure complexe hétérocyclique, à caractère alcalin (**Badiaga, 2011**) Typiquement comme les amines primaires, secondaires, ou tertiaires et cela confère la basicité à l'alcaloïde, en facilitant leur isolement et purification comme sels solubles dans l'eau formés en présence des acides minéraux (**Hess, 2002**) .



Cafeine



morphine(analgesique)

Figure 4 : Structures de quelques alcaloïdes (Badiaga, 2011)

Chapitre 3 : Généralité sur la plante *laurus nobilis*

1- Famille des lamiacée

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles. **(Bouhaddouda, 2016)**. Elle comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin **(Botineau, 2010)**.

Cette famille est peu représentée en Afrique mais très fréquente sur le continent américain ou asiatique, en Australie et à Madagascar **(Watson et Dallwitz, 1992)**

2- Définition de la plante

Le laurier, ayant le nom scientifique de *Laurus nobilis* L. Est un arbuste de la famille des Lauracée, à feuilles persistantes et coriaces, originaire des pourtours de la méditerranée, son nom d'arabe : rand ou warkat moussa **(Rivera et Obon, 1995)**. Il est également connu sous le nom de laurier-sauce ou laurier d'Apollon. **(Briot C, 2016)**



Figure 5 : Les feuilles de la plante *L.nobilis*

3- Taxonomie

La classification botanique de *Laurus nobilis* L. d'après (**Quezel et santa, 1962**)

Règne : Plantes.

Sous règne : Plantes vasculaires.

Embranchement : Spermaphytes.

S/Emb : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

S /classe : Dialypétales.

Ordre : Laurales.

Famille : Lauracées.

Genre : *Laurus*.

Espèce : *Laurus nobilis*.

4- Description botanique

Laurus nobilis est un arbre aromatique de 2 à 10m de hauteur à croissance lente, et au tronc droit ramifié dès la base avec un sommet conique, et s'arrondissant au fil du temps (**Quezel et santa, 1962**). Le fruit est une petite baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1 cm de largeur, noir vernissé à maturité (**Yakhlef, 2010**).

5- Répartition géographique

Le laurier noble est présent dans la région méditerranéenne d'où il est originaire. Cette plante est retrouvée en particulier dans la Turquie, la Grèce, l'Espagne, l'Italie et la France.

Elle pousse spontanément dans le sud et l'ouest de l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale (**Demir et al., 2004, Barla et al., 2007**).

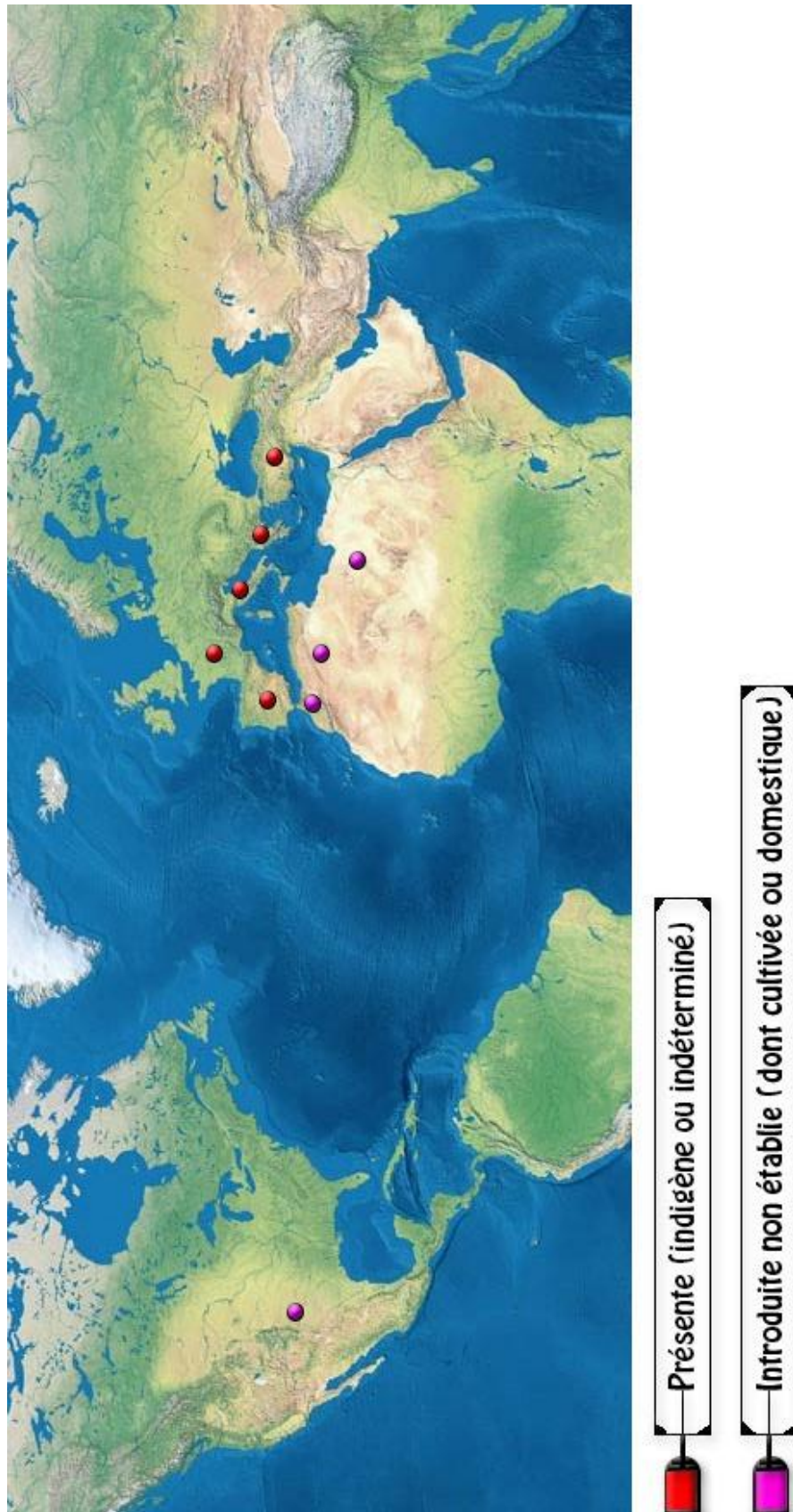


Figure 6 : Une carte de répartition géographique de *L. nobilis*

Chapitre 4 : les huiles essentielles

1. Généralité sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles, appelés aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal (**Padrini et Lucheroni, 1996**) . Généralement se sont des antiseptiques antibactériens vermifuges ou stomachiques. On dénombre environ 600 essences utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et touristique. (**Dellile, 2010**)

2. historique des huiles essentielles

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (**Baser et Buchbauer, 2010**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale.. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes, 2008; Bouguerra, 2012**)

3. Localisation

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se trouvent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (**Bouamer et al., 2004**). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisés, souvent localisées sur ou à proximité de la présence des structures histologiques spécialisés, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles

de Lauraceae, les poils sécréteurs des Laminaceae, poches sécrétrices des Myrtaceae, des Rutaceae, et les Laminaceae, et les canaux sécréteurs qui existent dans de nombreuses familles. Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (**Belkou et al., 2005**).

4. la biosynthèse des huiles essentielles

Elles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane (**Bruneton, 1987**) (**Bakkali et al., 2008**).

4.1 Voies des terpènes

La biosynthèse des terpènes suit la voie de l'acide mévalonique (MVA). Ce dernier subit une phosphorylation ensuite une décarboxylation et une déshydrogénation et on obtient alors de l'isopentenylpyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. C'est le IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, et s'isomérisé en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP) grâce à une enzyme, l'IPP isomérase (**Lamarti et al., 1994**).

4.2 Voies des phénylpropanes

Les phénylpropane sont synthétisés à partir du phénylalanine, ils détiennent leur nom des six carbones aromatique phénol et des 3 carbones propènes produit lors de la première étape de la biosynthèse des phénylpropanoïdes. Ils représentent un petit pourcentage au sein des HES, ceux qui ont été les plus étudiés sont l'eugénol, iso-eugénol et vanille (**Heni., 2016**).

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes commence par un métabolite du fructose, le PEP (phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants: acides salicylique, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont la salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines,... Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluse dans cette voie (**Spurgeon & Porter, 1981**).

5. La composition des huiles essentielles

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes , issus de la condensation d'unités isopréniques, et des dérivés aromatiques, aliphatiques, dérivés du phénylpropane (Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).)

5.1. Les terpenes

Les terpènes sont composés d'unités d'isoprène et sont généralement représentés par la formule chimique $(C_5H_8)_n$. (Mallappa Kumara Swamy et al, 2016)

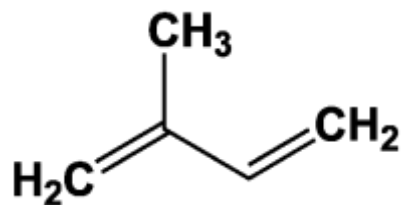


Figure7 : Structure chimique d'isoprène.

Ils sont classés selon : leurs fonctions : alcools , esters , aldéhydes , cétones , éthers-oxydes et leurs structures : ils peuvent être acycliques, monocycliques, bicycliques ou tricycliques.

En raison de la diversité de leurs structures chimiques, les terpènes sont classés en plusieurs groupes tels que les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes ($C_{20}H_{32}$) et les triterpènes ($C_{30}H_{40}$). Le principal composant (~ 90%) des huiles essentielles bioactives est constitué de monoterpènes (hydrocarbons ou oxygénés) . (Mallappa Kumara Swamy et al, 2016)

5.2. Les familles moléculaires

Les huiles essentielles sont constitués : D' Aldéhydes, de cétones, des alcools ,des esters ,des lactones ,des phénols ,des oxydes et des coumarines. (Couic-Marinier, F., & Lobstein, A, 2013)

6. Role des huiles essentielles dans les plantes

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans l'attraction des insectes pour favoriser la dispersion des pollens et des graines ou pour en repousser d'autres. De plus, les huiles essentielles peuvent également agir comme antibactériens, antiviraux, antifongiques, insecticides, herbicides ou avoir des effets dissuasifs contre les herbivores en réduisant leur appétit pour ces plantes.

Les huiles essentielles jouent aussi le rôle anti-oxydants, les antioxydants peuvent agir comme des barrières physiques pour empêcher la génération de ROS ou l'accès des ROS à des sites biologiques importants (filtres UV, membranes cellulaires) (**Maria Graça Miguel, 2012**)

7. Les activités biologiques des huiles essentielles

7.1 Activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles est une autre propriété biologique de grand intérêt car elles peuvent préserver les aliments des effets toxiques des oxydants. De plus, les huiles essentielles pouvant également piéger les radicaux libres peuvent jouer un rôle important dans la prévention de certaines maladies qui peuvent résulter de dommages cellulaires causés par les radicaux libres, ces derniers peuvent également agir comme agents anti-inflammatoires, car l'une des réponses inflammatoires est l'éclatement oxydatif qui se produit dans diverses cellules (monocytes, neutrophiles, éosinophiles et macrophages).

Les antioxydants peuvent agir comme des barrières physiques pour empêcher la génération de ROS ou l'accès des ROS à des sites biologiques importants (filtres UV, membranes cellulaires) (**Maria Graça Miguel, 2012**)

7.2 Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles ont un grand potentiel dans le domaine de la biomédecine car elles détruisent efficacement plusieurs pathogènes bactériens, fongiques et viraux. La présence de différents types d'aldéhydes, de composés phénoliques, de terpènes et d'autres composés antimicrobiens signifie que les huiles essentielles sont efficaces contre une gamme diversifiée d'agents pathogènes. La réactivité de l'huile essentielle dépend de la nature, de la

composition et de l'orientation de ses groupes fonctionnels. (**Mallappa Kumara Swamy et al, 2016**)

7.2.1 Le mode d'action contre les bacteries

L'effet de l'activité antibactérienne des huiles essentielles peut inhiber la croissance des bactéries (bactériostatique) ou détruire les cellules bactériennes (bactéricides). Néanmoins, il est difficile de distinguer ces actions. Par rapport à cela, l'activité antibactérienne est plus fréquemment mesurée comme la concentration bactéricide minimale (MBC) ou la concentration inhibitrice minimale (MIC) (**Sara Burt, 2004**)

L'efficacité des huiles essentielles diffère d'un type à l'autre ainsi que contre différentes bactéries cibles en fonction de leur structure (bactéries Gram-positives et Gram-négatives). (**Mallappa Kumara Swamy et al, 2016**)

7.2.2 Le pouvoir antiseptic

Les concentrations élevées d'aldéhydes et des terpénoïdes confèrent des propriétés antiseptiques aux huiles essentielles, (**Filomena Nazzaro et al, 2013**)

8. Procédés d'extraction

8.1 . Extraction par hysro ditillation a l'eau

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger . Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon de 1L, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre qui reçoit les extraits de la distillation. L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4 °C et à l'ombre. (**Mouhcine Fadil et al, 2015**)

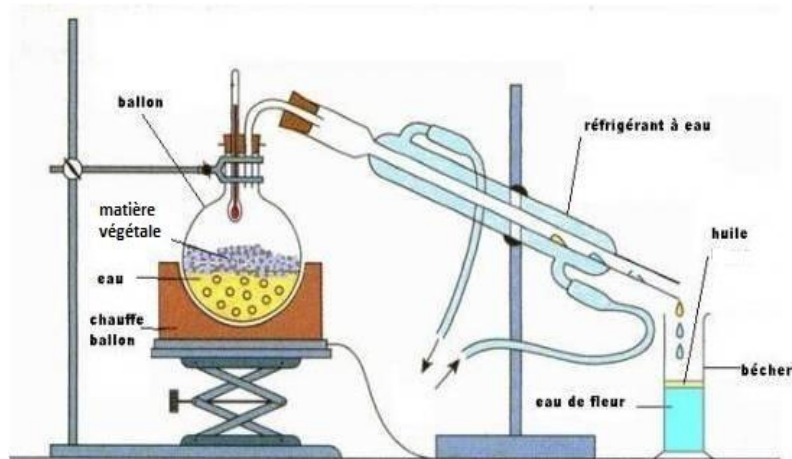


Figure 8 : Schéma - Extraction par hydro-distillation

8.2. Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic. (Luicita Lagunez Rivera, 2006)

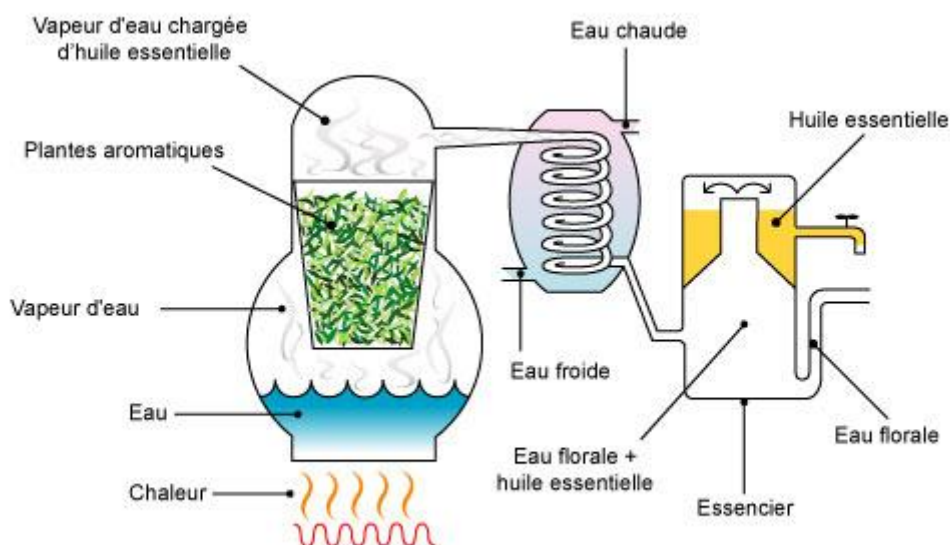


Figure 9 : Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur de l'eau

8.3. Extraction par les solvants organiques

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau ou l'hydrodistillation. Il faut donc, pour ces végétaux, recourir à d'autres méthodes d'extraction des composés odorants volatils telles que l'extraction par les solvants fixes (extraction par les corps gras ou enfleurage) et volatils (extraction par l'hexane)

Ces matières végétales renferment souvent à côté d'une très faible quantité de composants aromatiques, un ballast énorme, solide ou liquide, qu'il faut séparer.

Pour séparer ces aromatiques du ballast, deux types d'extraction ont été utilisés :

- L'extraction solide/liquide, c'est-à-dire l'opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide (la matière à extraire), et une phase liquide (le solvant d'extraction). Elle est réalisable : • soit par simple contact (à étage unique). L'extraction dans ce cas est souvent incomplète même avec un très bon solvant ;

• soit par contacts multiples, à co-courants parallèles ou à contre-courant (extraction méthodique), cette dernière est plus économique

- L'extraction liquide/liquide, c'est-à-dire l'opération de transfert ou d'échange de matière entre deux phases liquides, la solution et le solvant. Il s'agit d'une extraction systématique en continu, utilisée pour extraire un constituant particulier ou pour en éliminer d'autres, en utilisant deux solvants non miscibles à pouvoir dissolvant plus spécifique de chaque groupe. **(Nabil Bousbia, 2013)**

8.4. Expression a froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacerer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. **(Boukhatem et al. 2019)**

8.5. Extraction par CO₂ supercritique

C'est habituellement une opération solide-liquide où un solvant de la molécule d'intérêt est mis en contact avec la matrice végétale, en général sous forme sèche et broyée, de façon à ce que le solvant imprègne le solide. A l'intérieur des particules de solide la molécule d'intérêt (le soluté) se dissout dans le solvant et diffuse vers l'extérieur des particules pour s'accumuler dans le solvant. A la fin de cette étape, le solvant est en général évaporé et on récupère le soluté extrait. Le solvant vaporisé peut être alors condensé pour être recyclé vers l'opération d'extraction.

L'extraction par le CO₂ supercritique utilise le mode Soxhlet où la régénération du solvant est réalisée habituellement par changement de pression : en sortie d'extracteur, l'extrait est détendu ce qui provoque une séparation des solutés et du CO₂, puis le CO₂ est re-comprimé, comme schématisé sur la Figure. (Aigep, 2017)

Extraction par CO₂ supercritique

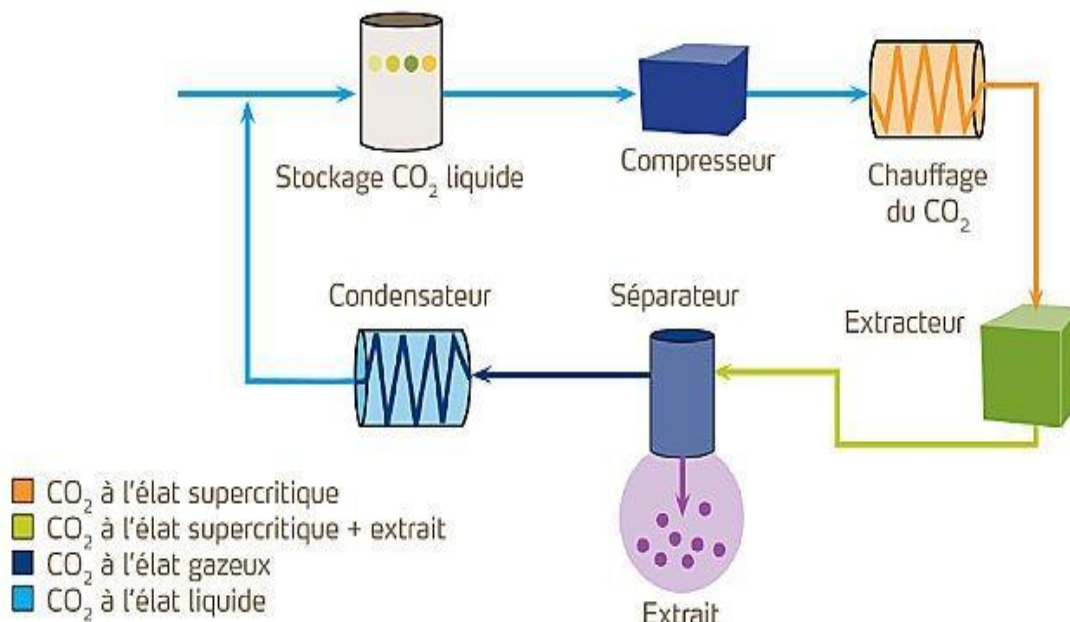


Figure 10 : Schéma simplifié d'une opération d'extraction au CO₂SC avec séparation par détente.

*La partie
experimentale*

Matériels et méthodes

L'ensemble de ce travail a été réalisé aux laboratoires pédagogique au sein de L'Université Belhadj Bouchain Ain Temouchent (Février-Juin 2020).

1) La matière végétal

La plante qui a fait l'objet dans notre étude est *Laurus nobilis* (Rend) d'une région de Ain Temouchent.

Les feuilles de *L. nobilis* sont traditionnellement utilisées pour ajouter un arôme et une saveur distinctifs aux aliments, pour traiter diverses affections et névralgies et aussi pour son effet bénéfique sur le système digestif (traite les symptômes des problèmes gastro-intestinaux, tels que les ballonnements épigastriques et les flatulences). Nous avons étudié l'huile essentielle de feuilles de laurier et son effet antimicrobien. Cette huile est largement utilisée dans les industries du parfum et du savon. De plus, elle a été utilisée pour soulager les douleurs hémorroïdes et rhumatismales et elle a également des activités diurétiques et antifongiques, antioxydante. (Lucia Caputo, 2017)

2) Collecte de matériel végétal

les feuilles de *Laurus Nobilis* sont récoltées d'une arbre plantée dans une maison situé a Ain Tolba (une commune de la Wilaya d'Ain Témouchent an Algérie) .

Le matériel végétal est constitué par les feuilles séchées au laboratoire, à l'abri du soleil. une fois la plante devenue sèche est soumise à l'extraction.

3) Extraction d'huile essentielle

3.1. Extraction par hydro distillation

L'huile essentielle de la plante *Laurus Nobilis* est extraite par la méthode d'hydro distillation, grâce à un montage d'extraction de type Clevenger qui est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un dean stark.



Figure 11: Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle (hydrodistillation)

On a mis 80g de Matériel végétal avec 800ml d'eau distillé dans un ballon de 1L puis on a porté le mélange à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon pendant 3 h.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle et l'eau passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation puis la séparation ce qui résulte l'apparition de deux phases, une est organique (huile essentielle obtenue) et l'autre est aqueuse (l'hydrolat) ayant une densité plus élevée.



Figure 12 : une image qui montre les deux phases (organique et aqueuse)

On a conservé notre huile récupérée dans une température de 4 °C à l'abri de la lumière dans un tube en verre enveloppé hermétiquement d'un papier d'aluminium, jusqu'à leur usage pour éviter toute dégradation .

3.2. Calcul de rendement en huile essentielle

Le rendement en H.E. est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante:

$$\mathbf{RHE = MHE / Ms .100}$$

RHE : rendement de l'huile essentielle (%).

MHE : Poids d'extrait récupéré (masse d'huile essentielle récupérée) en (g).

Ms : Poids de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

Le poids d'extrait récupéré MHE (g) = (poids de tube + l'huile)(g) – (le poids de tube vide)(g)

$$MHE (g) = 7.79 (g) - 7.54 (g)$$

$$MHE (g) = 0.25g$$

Le poids de la matière végétale utilisée était 80g.

1) Evaluation de l'activité antibactérienne

4.1. Matériels

- Souches bactériennes

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Laurus Nobilis* est évaluée sur quatre souches bactériennes qui ont été entretenues par repiquage sur GN. Incubées pendant 24h à 37 °C, conservées à 5 °C dans des tubes contenant de la gélose nutritive inclinée :

Gram négative : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* A22.

Gram positive : *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.



Figure 13 : Les souches bactériennes utilisées

- Milieux de culture

Gélose Mueller Hinton MH : pour les tests de sensibilité aux antibiotiques.

Bouillon Mueller Hinton BMH : pour l'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des bactéries.

- Les disques d'antibiotiques : Gentamicine, Ofloxacin , Ampicilline

4.2. Méthodes

4.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide

Autrement dit Antibiogramme standard ou « méthode des disques », cette méthode a été utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne et de mesurer la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques.

Principe

À partir de la culture bactérienne est réalisé un ensemencement en tapis sur une boîte de Pétri contenant de la gélose de Mueller-Hinton, des disques de papier Wattman stérile N°3 et de diamètre 6 mm sont ensuite déposés à la surface de la gélose et qui sont imprégnés d'huile essentielle à une concentration défini et en présence d'un disque imbibé par une solution aqueuse (témoin négatif). Après 24h de contact entre l'huile et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition.

Le mode opératoire

- **Préparation des milieux de cultures (Mueller Hinton)**

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boites de pétrie stériles et laissée être séchée quelque temps dans une température ambiante du laboratoire dans une zone stérile.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

l'ensemencement sur la surface d'une gélose de quatre boites avec une suspension d'une souche bactérienne différente dans une chaque boite a l'aide d'un écouvillon tout en frottant de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois, en tournant la boite de 30° a chaque fois



Figure 14 : L'étape de l'ensemencement sur la surface gélifiée d'une boîte.

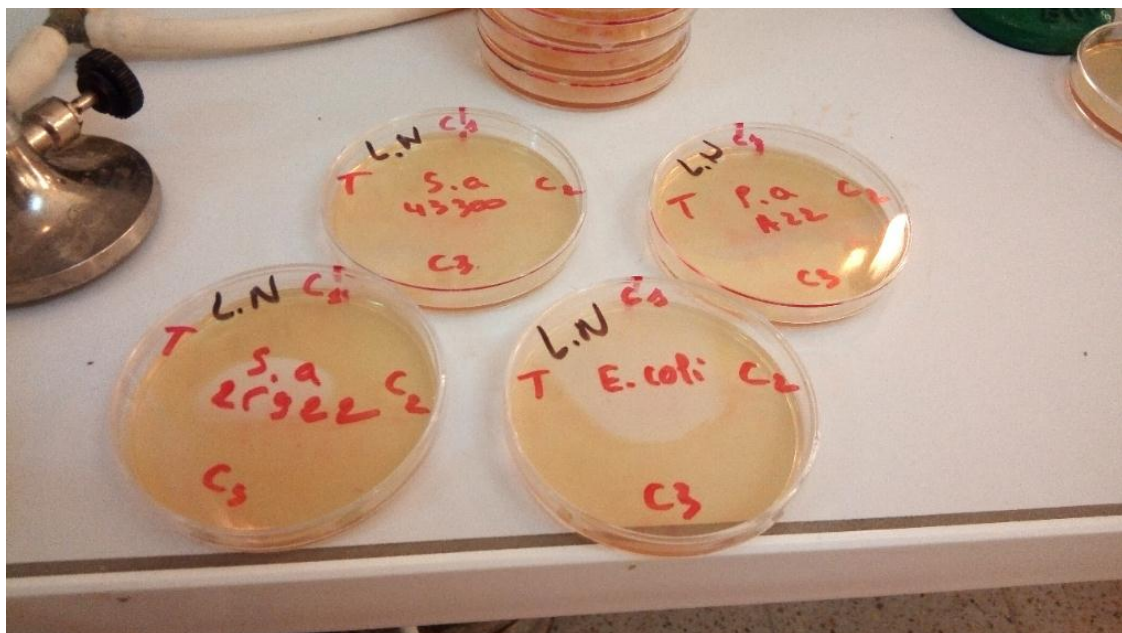


Figure 15 : Les boîtes gélifiées ensemencées des souches bactériennes (*P.aeruginosa*, *S.aureus* 25922, *S.aureus* 43300, *E.coli*)

Pour étudier la sensibilité bactérienne au huile essentielle de *L.nobilis* et aux antibiotiques

La technique consiste à utiliser des disques de papier Wattman n°1 de 6mm déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée, imprégnés d'une quantité de 20 µl des différentes concentrations d'huile essentielle de l'aurus nobilis 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50mg/ml et d'autres disques imprégnés de 5µl de DMSO utilisés comme témoins. après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition est mesuré en mm.

Reprendre la meme technique avec des disques des antibiotiques imbibés par une quantité de 20 µl de l'huile essentielle d'une concentration 200 mg/ml et qui sont ensuite déposés à la surface de la gélose ensemencée d'une souche bactérienne différente dans chaque boite et le tout est placé à l'incubateur. Après une incubation adéquate (fonction du germe), chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne dont le diamètre est plus ou moins grand selon l'antibiotique considéré. Le diamètre de la zone indemne de colonie bactérienne, mesuré en mm.



Figure 16 : Le dépôt des disques sur une surface gélosée.

4.2.2. Méthode de diffusion en milieu liquide

L'antibiogramme, par méthode de microdilution, a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) d'une souche bactérienne. Ces concentration nous permettent de connaître la nature de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L.nobilis*. La méthode de microdilution est effectuée en milieu liquide sur microplaque.

Principe

Le principe de la méthode repose sur la détermination de la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Derwich et al., 2010**). Consiste à ensemencer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Chebaibi et al., 2016**).

Une solution-mère de notre l'huile d'une concentration initiale de 100 mg/ml est préparé, puis une série de dilutions est réalisée à partir de cette solution dans une plaque de 96 puits. 100 µl de chaque dilution sont transférés dans les 10 puits consécutifs incorporés à 100µl de Bouillon Mueller Hinton puis ensemencés par 20µl de l'inoculum bactérien standardisé. Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée, Et concernent les deux derniers puits, un est utilisé comme contrôle négatif et l'autre utilisé comme contrôle positif. Puis les plaques sont recouvertes et incubées à 37 °C pendant 18-24 heures.

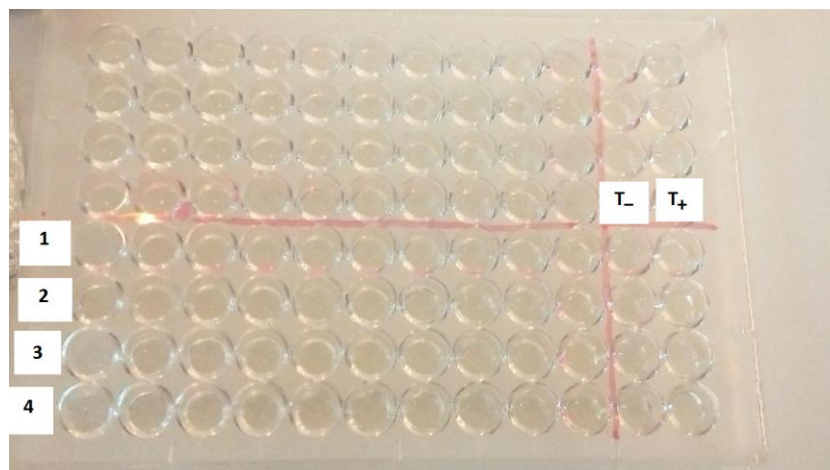


Figure 17 : Photo représentant la réalisation de l'activité antibactérienne d'HE *L. nobilis* par la méthode de microdilution, 1 : *P.aeruginosa*, 2 : *S. aureus* 43300, 3 : *S. aureus* 25922, 4 : *E. coli*, T- : Témoin négatif rempli par 100µl de BMH et 100 mg/ml d'HE, T+ : Témoin positif rempli par 100µl de BMH et 20µl de l'inoculum.

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Une extraction par hydro-distillation de 80 g de notre plante sèche dans 800 ml d'eau distillée a été donnée 0.3125 au mois de février, comparé a d'autres différentes régions d'Algerie , notre résultat se rapproche a celle de l'étude de **(Fekih,2014)** qui a été au niveau de la région de Tlemcen-Nedroma 0.42% . le rendement d'extraction en huiles essentielles de *L.nobilis* a été de (5.94%, 10.38% et 8.77%) tebessa 2014, el oued 2014 , el oued 2015 de la matière sèche de la plante. (**Bouderhem, 2014**) , d'une région a bejaia (0.53%) au mois de janvier (**Saidi, 2015**)

Les rendements provenant de la région d'El Kala est 0,71% (**Ouibrahim, 2015**). par ailleurs le rendement obtenu par l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes est moins important (0.26 %) par rapport a celui obtenu par hydrodistillation (0.7%) dans la région de Tizi ouzou le mois de mai. (**Bendjersi, 2008**) ce qui prouve l'influence de la méthode d'extraction sur le rendement.

Dans une autre étude qui a été faite au niveau de laboratoire de la Faculté de Génie des Procédés et Génie Mécanique, USTHB, (**N. Ouafi et al, 2017**), les valeurs des rendements en huile essentielle des feuilles de Laurier noble obtenues par séchage solaire sous différentes températures $T = 40, 50, 60^{\circ}\text{C}$ et $V = 0.25, 0.5, 0.8$ m/s. Cette étude a révélé que le séchage solaire accroît le rendement en huile essentielle des feuilles de Laurier noble.

Les résultats obtenus illustrent que les rendement en huile essentielle de *L. nobilis* est variable, cette différence pourrait être expliquée par le génotype des espèces récoltées au processus de tarissement, période de récolte, aux facteurs édaphiques et climatiques ou alors à l'état physiopathologique de la plante, aussi elle peut être liée au type de la technique d'extraction et aux étapes de la récupération (**Wogiatzi et al.,2011**).

2. Activité antibactérienne d'huile essentielle

2.1.Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque

Nous avons testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L.nobilis* de trois différentes concentrations avec un témoin DMSO (résultat négatif) par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de quatre souches bactériennes.

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques.

Les résultats montrent une inhibition de la croissance bactérienne proportionnelle au diamètre de la zone d'inhibition.

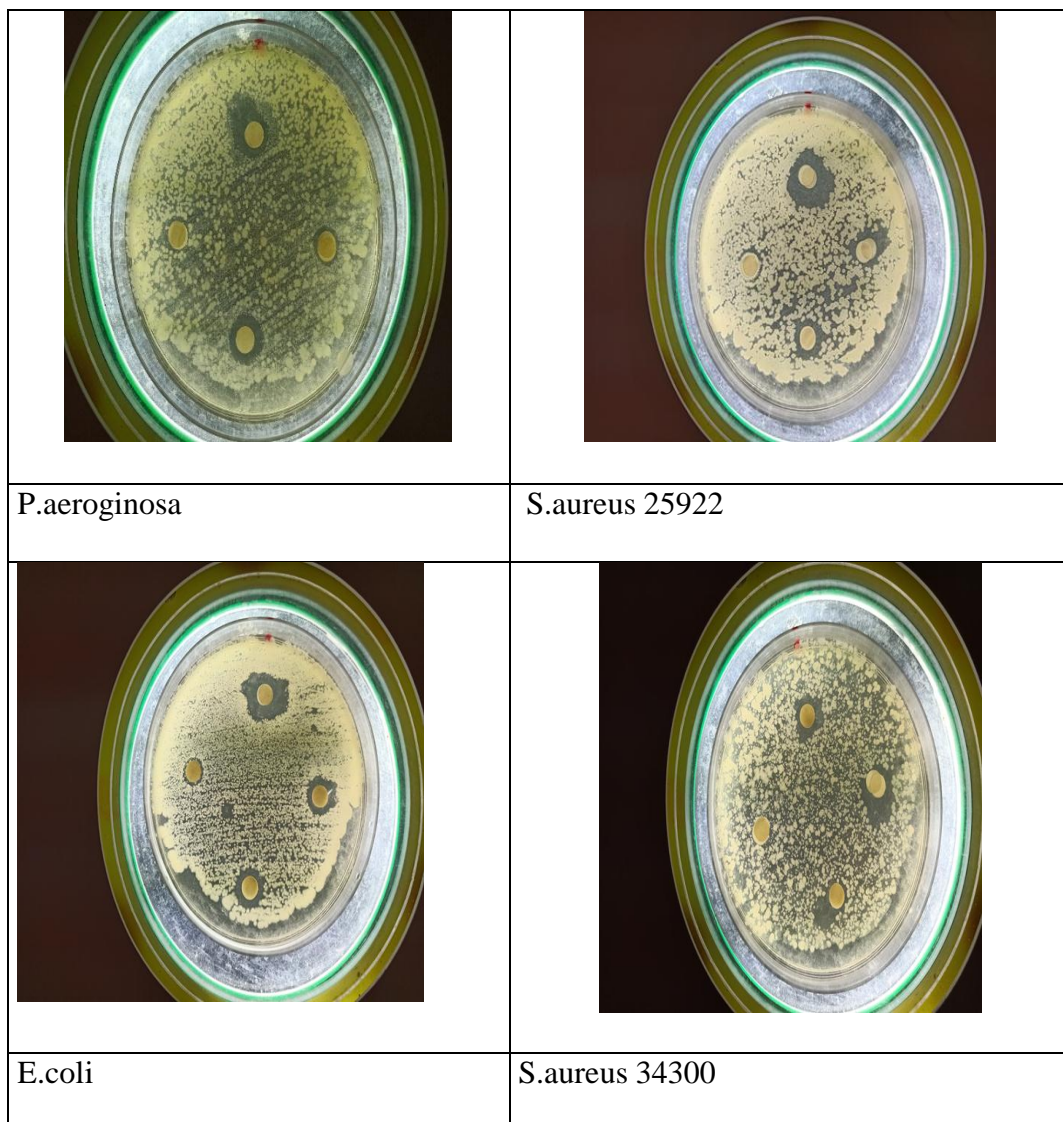


Figure 18 : résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle *Laurus nobilis* avec quatre souches bactérienne.

Nous constatons que notre huile essentielle a montré une bonne activité sur toutes les souches bactériennes testées.

Bacterie. []huile en ml.	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus43300</i>	<i>S.aureus25900</i>
200 mg/ml.	15	17	12	18
100 mg/ml.	9	16	16	13
50 mg/ml.	11	11	15	12

Tableau1 : résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle *Laurus nobilis* réalisé par la méthode de diffusion sur disque

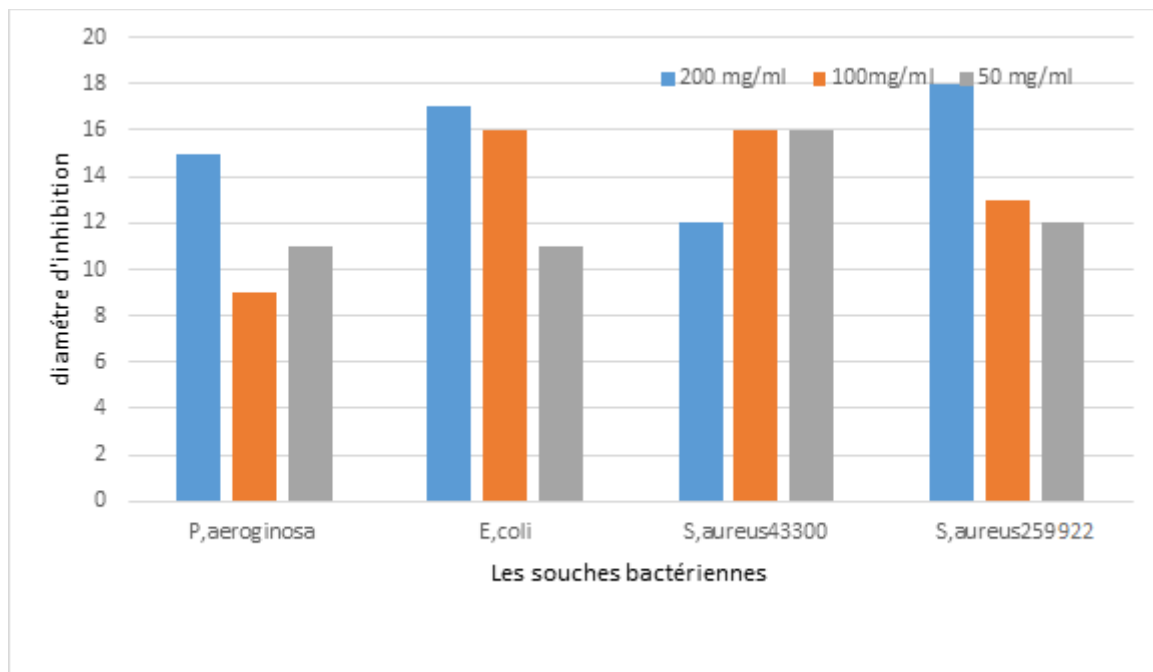


Figure 19 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne d'huile essentielle *Laurus nobilis* réalisé par la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différents vis-à-vis de la quantité de l'huile essentielle testée dans laquelle on a remarqué que la plus grande surface d'inhibition est enregistrée avec *S.aureus* 25922 suivi par *E.coli* ensuite *Pseudomonas aeruginosa*, *S.aureus* 43300, dont les zones d'inhibition sont (18mm , 17mm, 15mm , 12mm).

Nos résultats sont similaires a ceux indiqués par (**Bouchaale, et al, 2014/2015**) les deux HE essentielles du laurier Algérien et Tunisien ont eu une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des trois souches utilisées (*E.coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) avec un effet plus marqué pour *S. aureus* , suivit d'*E. coli* et enfin *P. aeruginosa*.

D'autres études ont été élustrées que l'HE de *L.nobilis* est efficace sur la totalité des micro-organismes testés, donnant des diamètres d'inhibitions plus ou moins supérieurs aux nôtres.

2.2. L'interaction synergique entre l'huile essentielle et quelque antibiotique :

Nous avons ainsi comparé l'activité d'huile essentielle sur les bactéries avec la sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Le tableau ci-dessus montre les résultats

Bacterie Antibiotique +huile	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i> 25922.	<i>S.aureus</i> 43300.
Gentamicine.	28mm	31mm	30mm	30mm
Gentamicine+huile	30mm	31mm	32mm	32mm
Of	12mm	24mm	14mm	27mm
Of+huile	15mm	28mm	18mm	30mm
Ampicilline	0	0	0	0
Ampicilline+huile	0	9mm	18mm	10mm

Tableau 2 : La sensibilité bactérienne aux antibiotiques.

D'après nos résultats on peut déduire que la combinaison de l'huile essentielle de *L. nobilis* avec ces antibiotiques a montré un diamètre des zones d'inhibition plus large sur les souches bactériennes qui ont présenté une résistance envers les antibiotiques testés seuls

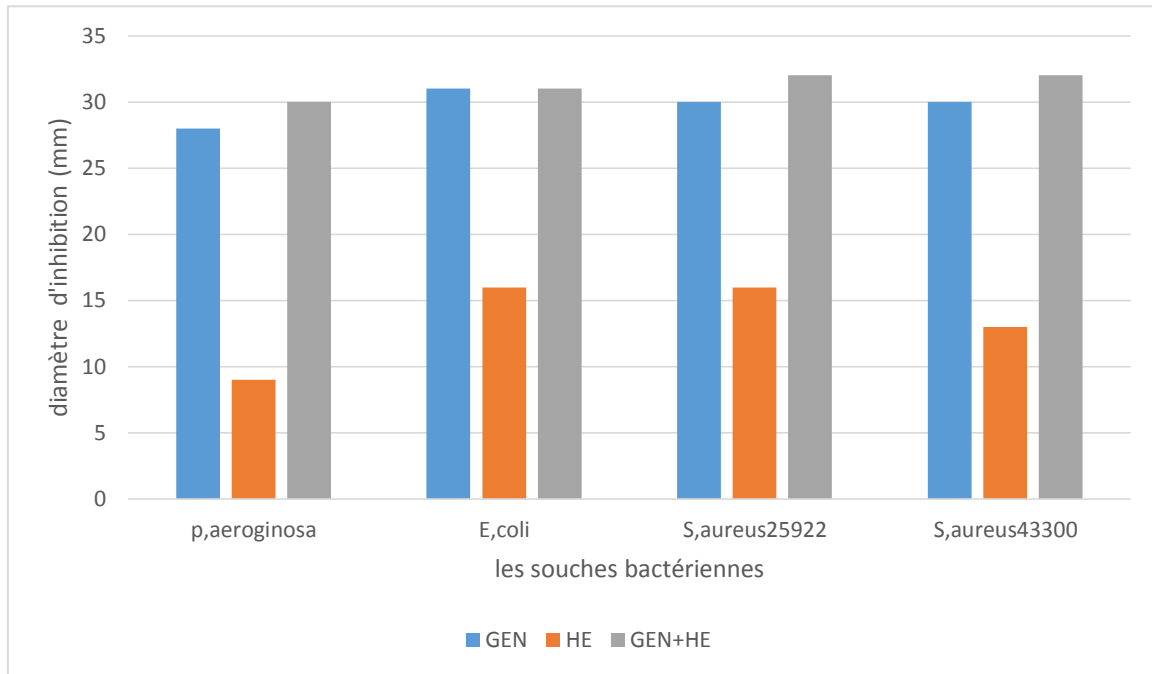


Figure 20 : Représentation graphique de la sensibilité bactérienne avec la Gentamicine

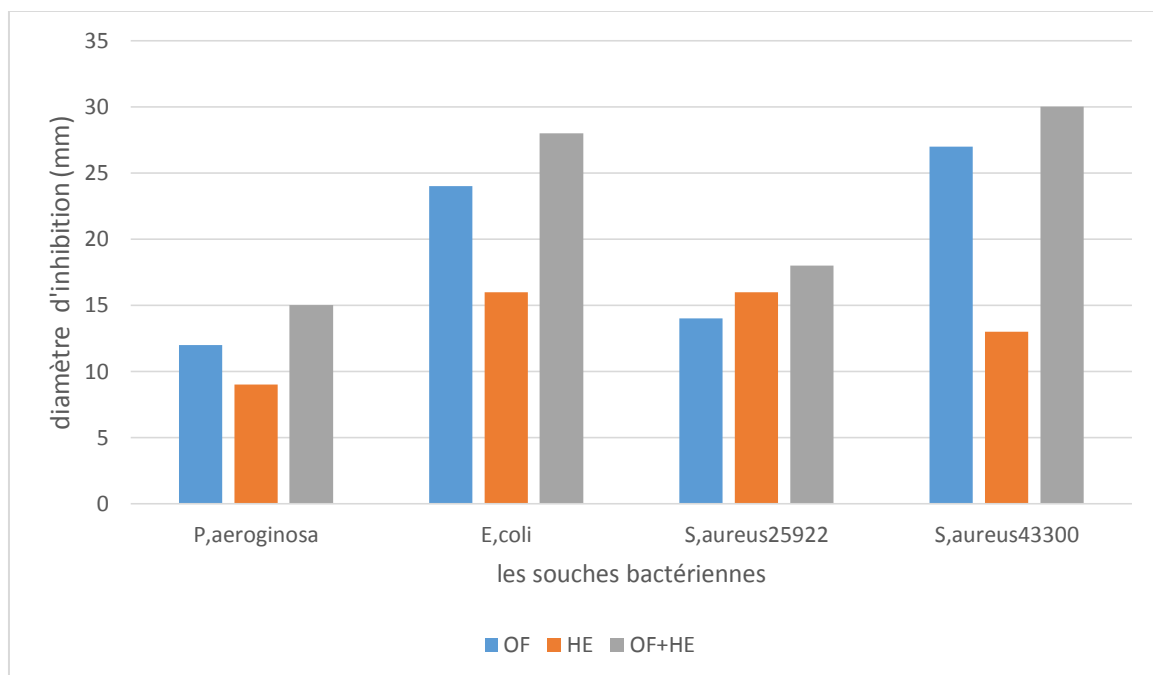


Figure 21 : Représentation graphique de la sensibilité bactérienne avec l' Ofloxacin

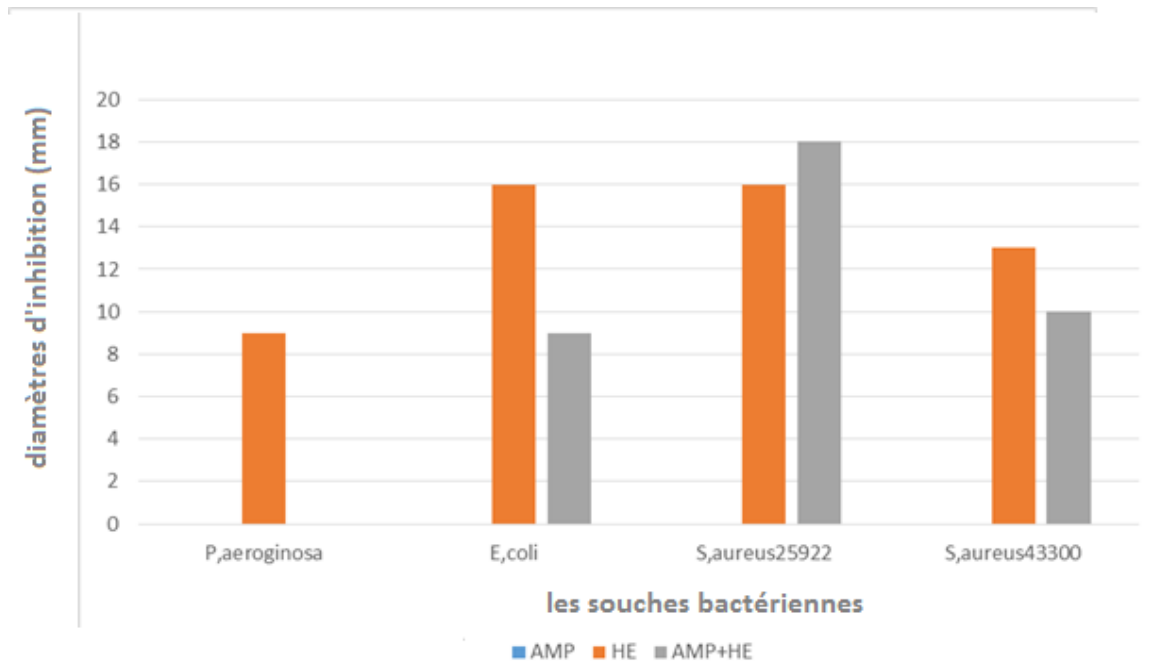


Figure 22 : Représentation graphique de la sensibilité bactérienne avec l' Ampiciline

Les résultats nous montre clairement que l'activité antibactérienne augmente avec la combinaison de l'huile essentielle de *L.aurus Nobilis* avec ces antibiotiques.

Cependant le mélange de Gentamicine et l'HE nous a donné une synergie

Le mélange de l'Ofloxacine et l'HE nous a donné une synergie

L'Ampiciline n'a aucun effet sur les souches bactériennes par contre il y avait un effet synergique lors du combinaison avec l'huile essentielle sur la souche bactérienne *Staphylococcus aureus 25922* et un antagonisme avec les 3 espèces restées et un résultat indifférencié avec la *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche on peut remarquer que la *Pseudomonas aeruginosa* résiste moins à l'huile essentielle qu'à l'Ampiciline

On peut déduire donc l'effet synergétique de l'HE, elle peut être utilisée comme alternatif antibactérien pour les souches présentant une faible sensibilité ou bien un problème de résistance aux antibiotiques standards soit par la réduction de la dose efficace de l'antibiotique ou bien l'application des quantités suffit d'huile essentielle.

Les valeurs présents dans nos résultats nous montre que la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est la plus résistante parmi les souches testées, ces résultats concordent a l'étude de (Hadjoum, 2018) qui a révélé que l'HE de *L.nobilis* a exercé une activité inhibitrice superieure vis-à-vis des bactéries et de la levure testées, sauf les souches *Pseudomonas aeruginosa* qui se révèle résistantes.

2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactericide (CMB)

Nous avons déterminité les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* par la technique de micro-dilution sur les mêmes souches qui été utilisées dans la méthode de disque. La CMI de l'huile essentielle est déduite après incubation à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance bactérienne visible. La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'un "trouble" blanc sur le fond des puits.

(+) : Présence des bactéries.

(-) : Absence des bactéries.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessus (Tableau 3).

Les concentrations mg/ml												
Les souches	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.781	0.390	0.195	0.097	T(N)	T(p)
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S.aureus</i> 43300	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>S.aureus</i> 25900	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>E.coli</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Tableau 3 : résultats des CMI de l'activité antibactérienne d'huile essentielle *Laurus nobilis* réalisé par la méthode des puits.

Nous remarquons que l'huile essentielle de *Laurus nobilis* a exercé une activité antibactérienne contre 4 des souches testées. En effet, pour les 4 souches étudiées, les valeurs des CMI obtenus ont été de 12,5 mg/ml et celles des CMB ont été de 50 mg/ml.

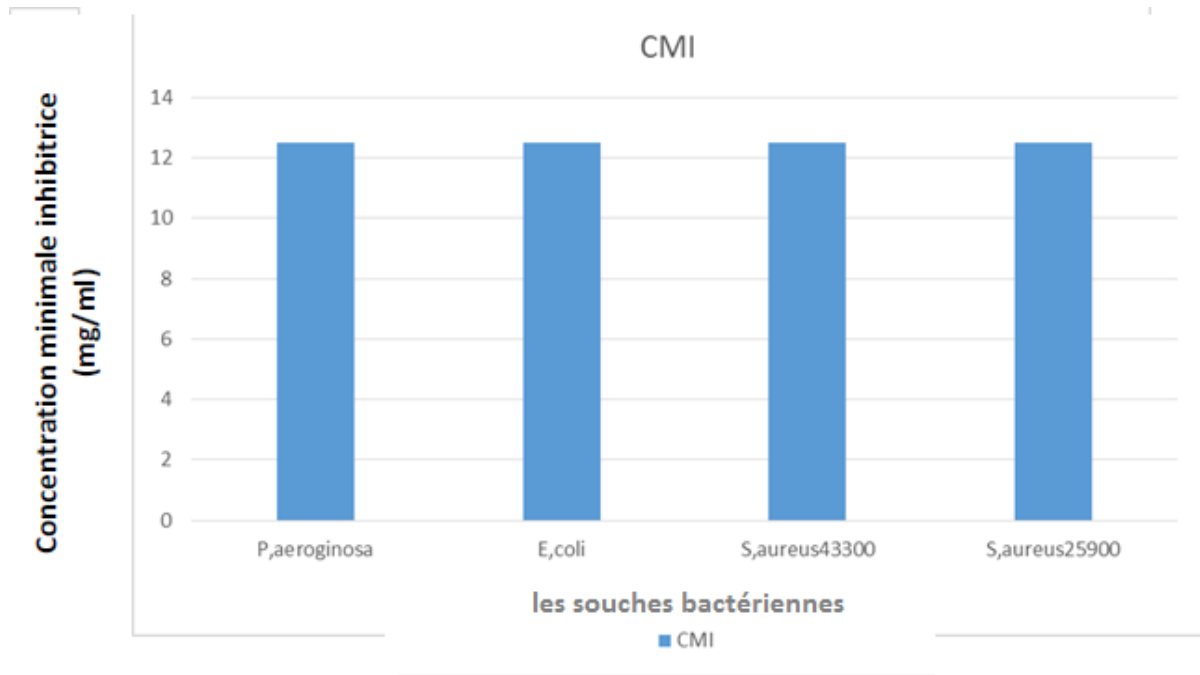


Figure 23 : Représentation graphique de CMI

Nous remarquons que les résultats sont les mêmes sur toutes les souches bactériennes. Il existe plusieurs travaux affirmant que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux HEs que les bactéries à Gram positif, cependant nos résultats ont montré que les HEs n'ont aucune sélectivité envers le type de Gram des bactéries, (**Imelouane et al., 2009**), (**Dorman et Deans, 2000**) ont montré que l'activité antibactérienne dépend uniquement de la composition chimique des HEs et ne dépend pas du type de Gram de la bactérie. Une HE peut contenir 50 à 100 éléments biochimiques parfois 300 comme chez quelques espèces, les plus fréquemment rencontrés sont les alcools, les aldéhydes terpéniques, et les terpènes (**Willem, 2004**).

En effet, (Oussalah et al., 2006) ont rapporté que l'effet antibactérien des HEs est attribué aux monoterpènes particulièrement aux phénols.

Les composés phénoliques causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries.

.En comparant à d'autres travaux nos résultats se rapprochent de celles de l'étude de (Bouchaale et al, 2014/2015) qui ont été 10 mg/ml pour la souche *Pseudomonas aeruginosa*, par contre les CMI ont été faible pour la souche *Esherichia coli* et la *Staphylococcus aureus* par rapport au nos résultats et des valeurs de CMB comprises entre 10 et 40 mg/ml. Dans une autre étude de (K Elharas et al, 2013) L'inhibition a été très puissante dont la valeur de CMI 200 µL/L.

D'après cette comparaison on a trouvé que l'huile essentielle de *L.nobilis* est active avec toutes les souches testées même en très faible concentration.

2.4. Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE

Il nous semble nécessaire dans une deuxième étape de notre travail de déterminer le rapport CMI/CMB qui permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide de l'huile essentielle de *Laurus Nobilis* lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4, l'huile essentielle est qualifiée de pouvoir bactéricide et lorsqu'il est supérieur à 4 l'HE est qualifiée de pouvoir bactériostatique. Les résultats de rapport CMB/CMI sont présentés dans le

	CMI	CMB	CMB / CMI
P.aeruginosa	12.5	50	4
S.aureus 25922	12.5	50	4
S.aureus 43300	12.5	50	4
E.coli	12.5	50	4

Tableau 4 : Le rapport CMB/CMI relative aux quatre souches bactériennes.

Le rapport CMB/CMI de l'huile essentielle de Laurus Nobilis est 4 pour toutes les souches bactériennes testées (tableau 4), cette constatation nous amené à dire que notre huile essentielle exercer une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes.

Les résultats obtenus concordent avec tout les travaux rapportant que l'HE de Laurus nobilis exerce un effet bactéricide sur les quatres souches que nous avons testé et d'autres germes testés dans d'autres études.

Conclusion

La prise de conscience de l'utilisation des plantes médicinales est le résultat des nombreuses ères de recherche. La science contemporaine a reconnu leur action active et a inclus une gamme de médicaments dues à des extraits et des huiles essentielles des plantes médicinales et aromatiques (MAPs) dans la pharmacothérapie moderne, ce qui a accru la capacité des pharmaciens et des médecins de répondre aux défis qui sont apparus avec la diffusion des services professionnels pour faciliter la vie de l'homme.

La présente étude révèle plus d'informations sur les études de recherche *in vitro* et *in vivo* sur les activités antimicrobienne des huiles essentielles extraites de diverses plantes médicinales et aromatiques et leurs capacité d'entraver la croissance d'une gamme variée d'agents pathogènes bactériens en raison de la présence de composés naturels produits par les organes des plantes, dans ce contexte nous avons essayé d'évaluer *in vitro* l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles de LAURUS NOBILIS récolté dans la région de l'Ain Temouchent (ouest algerien)

Tout d'abord nous avons commencé par l'extraction d'huile essentielle de Laurus nobilis par hydrodistillation. Le rendement de l'étude était 0,3125 % dans le mois de février. La comparaison avec les autres études nous a révélé que le rendement change avec les condition climatiques et édaphiques, le génotype des espèces récoltées au processus de tarissement, période de récolte, aussi il peut être lié au type de la technique d'extraction et aux étapes de la récupération

Après l'étude d'activité antibactérienne par la methode de diffusion des disques qui nous a permis de reveler l'action d'huile essentielle sur 4 souches bacteriennes de gram positive et de gramme négatif. les espèces bactériennes étudiées présentent des degrés de sensibilité différents et variables vis-à-vis de la quantité de l'huile essentielle, Plus la concentration en HE est élevée, plus l'activité antibactérienne est élevée.

La combinaison d'HE de Laurus nobilis avec les antibiotiques testés a montré un diamètre des zones d'inhibition plus large sur les souches bactériennes qui ont présenté une résistance aux antibiotiques testés seuls. On peut donc déduire que cet effet synergétique peut être utilisé comme alternatif antibactérien pour les souches présentant une faible sensibilité ou bien un problème de résistance aux antibiotiques standards soit par la réduction de la dose efficace de l'antibiotique ou bien l'application des quantités suffisent d'HE.

En outre, la méthode des puits de la micro-dilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations minimales inhibitrices CMI de la même valeur 12.5 mg/ml chez toutes les bactéries, et d'après le calcul de rapport CMB/CMI on a conclu que HE de *Laurus Nobilis* exerce une action bactéricide contre toutes les souches bactériennes. Nos résultats nous ont montré que les HE utilisées sont bactéricides aux concentrations élevées, et aux faibles concentrations, elles sont bactériostatiques. L'activité antibactérienne de l'HE ne dépend pas du type de Gram de la bactérie.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies de la caractérisation biochimique par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) et les études d'autres activités antifongiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-cancéreuses. Les huiles essentielles de plantes médicinales et aromatiques pourraient être une source potentielle d'agents antimicrobiens alternatifs et pourraient jouer un rôle important dans la découverte de nouveaux médicaments pour le traitement d'un large éventail de micro-organismes pathogènes dans un proche avenir. cependant, davantage d'efforts sont nécessaires pour mener des essais cliniques à l'avenir.

*Références
bibliographiques*

A. Chebaibi · Z. Marouf · F. Rhazi-Filali · M. Fahim · A. Ed-Dra, 2016. Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc

Arctander, S. 1960. Perfume and flavor materials of natural origin. London : Elizabeth, N.J.

Aigep 2017. Protocole TP extraction au CO2 supercritique

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

Ballabio R., et Goetz P. 2010. Huile de graine/fruit de laurier. Phytothérapie 8: 141–144.

Baser K.H.C. et Buchbauer G. 2010. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. p: 994

Bashar Saad, 2011. Qasemi Research Center-Al-Qasemi Academic College, Greco-Arab and Islamic Herbal Medicine: A Review

Beloued A. 2005. Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des Publications Universitaires. Alger. 124

Biljana Bauer Petrovska 2012. doi: 10.4103/0973-7847.95849 . Historical review of medicinal plants' usage

Bouhaddouda, N. 2016. Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. thèse doctorat, univ. Annaba, p.24

Botineau M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. 1021-1043p.

Briot C., 2016. « LE LAURIER NOBLE, PLANTE DES HEROS : ASPECTS HISTORIQUES, BOTANIQUES ET THERAPEUTIQUES. le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de LORRAINE.

- Besombes C. 2008.** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, p : 289.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie-Phytochimie-Plantes médicinales. Paris : Technique& Documentation Lavoisier.
- Boukhatem Mohamed Nadjib , Ferhat Amine et Kameli Abdelkrim 2019,** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature
- Bouderhem Aida, 2014.** Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*)
- Bendjersi, Fatima Zahra, 2008.** Extraction et analyse huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales [ressource textuelle, sauf manuscrits] : la marjolaine (*origanum majorana* L.) et le laurier noble (*laurus nobilis* L.) poussant en Algérie
- Bouchaale Ikram ,Kahalerras Amira , Zouaoui Sawsen, 2014/2015.** Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie)
- Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., et Ddegirmencioglu A. 2004.** Mathematical modeling and the determination of some quality paramaters of air-dried bay leaves. *Biosystems Engineering*, 88(3): 325-335.
- Derwich, E., Z. Benziane and A. Boukir, 2010.** Chemical composition and In vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus. Atlantica*
- Dorman, H.J.D. et Deans, S.G. 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2) : 308-316

Eleni Wogiatzi, 2011. Evaluation of Essential Oil Yield & Chemical Components of Selected Basil Cultivars

E Rodriguez, M Aregullin, T Nishida, S Uehara, R Wrangham, Z Abramowski, A Finlayson, G H Towers 1985 Mar 15;41(3):419-20. doi: 10.1007/BF02004537. Thiarubrine A, a bioactive constituent of *Aspilia* (Asteraceae) consumed by wild chimpanzees

Franchomme, P., Jollois, R. et Pénéol, D. 2001. L'aromathérapie exactement .in : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. Limoges: Roger Jollois.

Françoise COUIC-MARINIER Annelise LOBSTEIN 2013, Composition chimique des huiles essentielles

Filomena Nazzaro, Florinda Fratianni, Laura De Martino, Raffaele Coppola and Vincenzo De Feo 2013, doi: 10.3390/ph6121451. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria

Guillon Y, 2012. Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. Université Saint-Etienne.21

Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F.2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér*, 1 :p3-6.

Hess M., 2002. Alkaloids, Nature'sCurse or Blessing 1ère édition. Ed. WileyVCH, New York. USA. 297 p

Heni S .2016. Sélection d'extraits bio-actifs des espèces du genre *Thymus* comme conservateurs antibactériens naturels .,thèse doctorat ., Université Badji Mokhtar -Annaba.

Haddouchi Farah, 2007. Contribution a l'étude des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* (Zaateur) de la région de Mostaganem et de *Laurus nobilis* (Rend) de la région de Tlemcen (Nedroma). Activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur conservation.

Hadjlouloum Hanane, Ould Ali Thinhinane, 2018. Etude analytique et thérapeutique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. (Tigarsalt)

- Imelouane, B., Elbachiri, A., Ankit, M., Benzeid, H. et Khedid, K. (2009).** Physico-chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(2) : 113-118
- Jean-Yves Chabrier, 2018.** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie
- K Elharas, A Daagare, A Mesifioui, M Ouhsine, 2015.** Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*
- Lucia Caputo, Filomena Nazzaro, Lucéia Fatima Souza, Luigi Aliberti, Laura De Martino, Florinda Fratianni, Raffaele Coppola, and Vincenzo De Feo , 2017**
doi: 10.3390/molecules22060930. *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities
- Luicita LAGUNEZ RIVERA 2016,** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe
- Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., et Carde, J-P. 1994.** Biogénèse des monoterpènes (II-La chaîne isoprénique). *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133,79-99.
- Lutge U ; Klinge M, Bauer G. 2002.** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p211
- Maurice N, 1997.** L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. Lavoisier, Paris, , p. 12-14.
- Michael A.Huffman, 2003.** Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants.
- M. M. Pandey, Subha Rastogi and A. K. S. Rawat 2013,doi.org/10.1155/2013/376327,** Indian Traditional Ayurvedic System of Medicine and Nutritional Supplementation.
- Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. Collection Biologie, pp.1-11
- Mallappa Kumara Swamy, Mohd Sayeed Akhtar , and Uma Rani Sinniah 2016, doi: 10.1155/2016/3012462,** Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review

M. Fadil, A. Farah , B. Ihssane , T. Haloui, S. Rachiq 2015, Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse

Maria Graça Miguel 2010, doi: [10.3390/molecules15129252](https://doi.org/10.3390/molecules15129252). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review

Nadia Fekih ,2014. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie.

N. Ouafi , H. Moghrani , N. Benaouda , N. Yassaa et R. Maachi , 2017. Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif

Nabil Bousbia 2011, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires

Oussou, K.R., Yolou, S. F., Tue, Bi B., Kanko, C., Boti, J.B., Ahibo, C. 2010. Etude Chimique Bio-Guidée de l'huile Essentielle de *Ocimum Gratissimum*, journal casanova, 40(1) :50-59

Ouibrahim Amira, 2015. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien.

Oussalah, M., Caillet, S. et Lacroix, M. (2006). Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 69(5) : 1046-1055.

Padrini F ET Lucheroni M.T. 1996 . le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. Page 115

Primose, S. 2004. Principes de génie génétique.6eme édition. De boeck.Bruxelles.p :223.

Quezel P. et Santa S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. 565p.

Roux, D, 2008. Conseil en aromathérapie. France : 2e Edition. pro-Officina : Wolters Kluwer.

- Rivera, D., Obon, C. 1995.** The ethnopharmacology of Maderia and Porto Santo.
- Saidi Meriama, Tobji Nafissa, 2015.** Evaluation de l'activité antibactérienne de combinaisons d'huiles essentielles et d'antibiotiques
- Sara Burt 2004, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review
- Silvye Verbois, 2015.** La phytothérapie. Éditions Eyrolles
- Vermerris, W., & Nicholson, R. 2006.** Phenolic compound biochemistry. Ed, Springer: U.S.A
- Van de Braak S.A.A.J et Leijten, G.C.J.J. 1999.** Essential oils and oleoresins : a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries. Rotterdam. 116
- Vincken J. P., Heng L., De Groot A., et Gruppen H. 2007.** Classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry* 68: 275-297
- Willem, J.P. (2004).** Les huiles essentielles, médecine d'avenir.
- Watson L., M.J. Dallwitz. 1992.** « The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval (Version: 20 Mai 2010) ».
- Yakhlef G. 2010.** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Thèse Magister. Université EL hadj lakhdar –Batna, p78.