

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 Mai 1945 de GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DES VIE ET DES SCIENCES
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire De Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire : Biologie Moléculaire des
Procaryotes

**Thème: Etude comparative de l'activité
antibactérienne des huiles essentielles de *Laurus
nobilis* de deux régions (Algérie et Tunisie)**

Présenté par :

- BOUCHAALE Ikram
- KAHALERRAS Amira
- ZOUAOUI Sawsen

Membres de jury :

Président : Mme GRARA.N	M.C.A	Université de Guelma
Encadreur : Mme ZIDI S	M.A.B	Université de Guelma
Examinatrice : Mme RATEM C	M.A.A	Université de Guelma

2014/ 2015

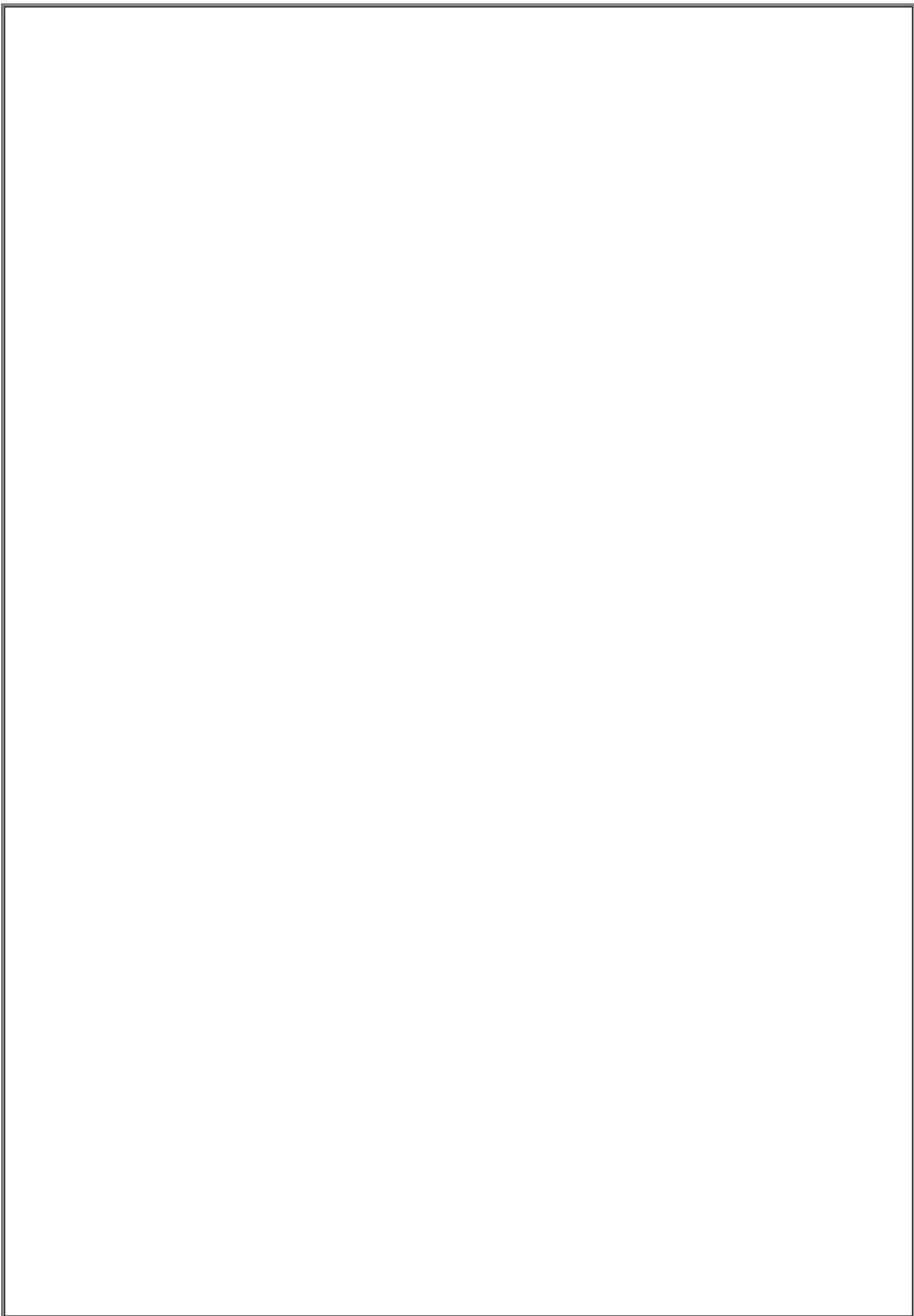


Table des matières

Liste des figure

Liste des tableaux

Liste des abréviation

Introduction

Chapitre 1 : Les bactéries et les antibiotiques

I- Le monde microbien.....	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Historique	Erreur ! Signet non défini.
I-2 Morphologie et structure de la cellule bactérienne.....	Erreur ! Signet non défini.
I-2-1 Morphologie.....	Erreur ! Signet non défini.
I-2-2 Structure	Erreur ! Signet non défini.
I-3 Les bactéries à Gram négatif.....	Erreur ! Signet non défini.
I-3-1 <i>Escherichia coli</i>	Erreur ! Signet non défini.
I-3-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
I-4 Les bactéries à Gram positif	Erreur ! Signet non défini.
I-4-1 <i>Staphylococcus aureus</i>	Erreur ! Signet non défini.
II- Les antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
II-1 Définition	Erreur ! Signet non défini.
II-2 Critères de classification.....	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 Selon l'origine	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2 Selon l'effet	Erreur ! Signet non défini.
II-2-3 Selon le spectre	Erreur ! Signet non défini.
II-2- 4 Selon le site d'action.....	Erreur ! Signet non défini.
II-2-5 Selon la nature chimique	Erreur ! Signet non défini.
II- 3 Mode d'action des antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
II-4 La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.

Chapitre2: La phytothérapie et les plantes

I- La phytothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Historique	Erreur ! Signet non défini.
I-2 Définition.....	Erreur ! Signet non défini.
II- Les plantes médicinales.....	Erreur ! Signet non défini.

II-1 Les principes actifs	Erreur ! Signet non défini.
II-1-1 Définition	Erreur ! Signet non défini.
II-1-2 Les différents types	Erreur ! Signet non défini.
II-2 Les modes de préparation	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 Les tisanes (utilisation des plantes sèches)	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2 La digestion.....	Erreur ! Signet non défini.
III- Les différents types de la phytothérapie	Erreur ! Signet non défini.
III- 1 L'aromathérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
III- 2 La gemmothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
III- 3 L'homéopathie.....	Erreur ! Signet non défini.
III- 4 La mésothérapie	Erreur ! Signet non défini.
III - 5 La phytothérapie pharmaceutique	Erreur ! Signet non défini.
IV - Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
IV- 1 Les avantages.....	Erreur ! Signet non défini.
IV- 2 Les inconvénients	Erreur ! Signet non défini.

Chapitre3: Généralités sur les huiles essentielles

1-Définition :	Erreur ! Signet non défini.
2-Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles :	Erreur ! Signet non défini.
3- Composition chimique des huiles essentielles :	Erreur ! Signet non défini.
3-1- Les terpénoïdes :	Erreur ! Signet non défini.
3-2-Les composés aromatique	Erreur ! Signet non défini.
3-3- Les composés d'origines diverses.....	Erreur ! Signet non défini.
4- Facteurs de variabilité de la composition chimique	Erreur ! Signet non défini.
5-Biosynthèse des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
5-1-Voie des terpenoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
5-2-Voie des phenylpropanoïdes	Erreur ! Signet non défini.
6-Les méthodes d'extraction	Erreur ! Signet non défini.
6-1 L'hydrodistillation	Erreur ! Signet non défini.
6-2-L'entraînement à la vapeur d'eau.....	Erreur ! Signet non défini.
6-3-L'hydrodiffusion.....	Erreur ! Signet non défini.
6-4-L'extraction au CO2 supercritique.....	Erreur ! Signet non défini.
6-5-L'extraction à froid.....	Erreur ! Signet non défini.
6-6-L'extraction par les solvants :	Erreur ! Signet non défini.
7- Conservation des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.

8-Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité.....	Erreur ! Signet non défini.
8-1-Méthodes d'analyses des caractéristiques physico-chimiques	Erreur ! Signet non défini.
8-2-Analyse de la composition chimique	Erreur ! Signet non défini.
9-Propriétés des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
9-1-Propriétés physico-chimiques	Erreur ! Signet non défini.
10-Les activités biologiques des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
10-1 Antibactérienne	Erreur ! Signet non défini.
10-2 Antivirale	Erreur ! Signet non défini.
10-3 Antifongique	Erreur ! Signet non défini.
10-4 Antiparasitaire.....	Erreur ! Signet non défini.
10-5 Antiseptique	Erreur ! Signet non défini.
11-Toxicité des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
12-Domains d'application des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.

Chapitre4 : *Laurus nobilis*

1- Historique	Erreur ! Signet non défini.
2- Caractérisation botanique et morphologique.....	Erreur ! Signet non défini.
3- Classification botanique:.....	Erreur ! Signet non défini.
4 -Répartition géographique.....	Erreur ! Signet non défini.
5- Culture et climatisation	Erreur ! Signet non défini.
6- Conservation	Erreur ! Signet non défini.
7- Composition chimique	Erreur ! Signet non défini.
7-1 Composition chimique des feuilles du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
7-2 L'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
7-3 Composition de l'huile essentielle du laurier	Erreur ! Signet non défini.
7-8 Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
8- L'utilisation du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
8-1 Utilisation comme additif dans l'industrie alimentaire :.....	Erreur ! Signet non défini.
8-2 Utilisation dans la médecine naturelle.....	Erreur ! Signet non défini.
8-3 Utilisation en parfumerie et cosmétique	Erreur ! Signet non défini.
8-4 Autres utilisations du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.

Partie pratique : Matériel et méthodes

I- Matériels.....	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Matériel Végétal	Erreur ! Signet non défini.

I-1-1 La cueillette	Erreur ! Signet non défini.
I-1-2 Séchage	Erreur ! Signet non défini.
I-1-3 Conservation.....	Erreur ! Signet non défini.
I-2 Matériel microbiologique	Erreur ! Signet non défini.
II- Méthodes.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1- L'étude phytochimique	Erreur ! Signet non défini.
II -1-1- Alcaloïdes	Erreur ! Signet non défini.
II-1-2- Tanin.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-3- Flavonoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1- 4- Saponosides	Erreur ! Signet non défini.
II-1-5- Mucilages.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-6- coumarines.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-7 irridoïdes	Erreur ! Signet non défini.
II-1-8- Les terpènes	Erreur ! Signet non défini.
II- 2 -L'étude chimique	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 L'extraction des huiles essentielles du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2 L'évaluation de l'activité antibactérienne	Erreur ! Signet non défini.
III - L'étude anatomique	Erreur ! Signet non défini.
IV- La conception d'une pommade antiseptique.....	Erreur ! Signet non défini.
IV-1 Mode de préparation	Erreur ! Signet non défini.
IV-2 Essai de la pommade.....	Erreur ! Signet non défini.
III- Résultats et discussion	Erreur ! Signet non défini.
III- 1- Résultats	Erreur ! Signet non défini.
III- 1-1 L'étude phytochimique	Erreur ! Signet non défini.
III- 1- 2-L'extraction de l'huile essentielle	Erreur ! Signet non défini.
III-1-3- L'évaluation de l'activité antibactérienne.....	Erreur ! Signet non défini.
III-1-4 - L'étude anatomique.....	Erreur ! Signet non défini.
III-1-5- Contrôle de la pommade antiseptique	Erreur ! Signet non défini.
III-2 Discussion.....	Erreur ! Signet non défini.

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Table des matières

Liste des figure

Liste des tableaux

Liste des abréviation

Introduction

Chapitre 1 : Les bactéries et les antibiotiques

I- Le monde microbien.....	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Historique	Erreur ! Signet non défini.
I-2 Morphologie et structure de la cellule bactérienne.....	Erreur ! Signet non défini.
I-2-1 Morphologie.....	Erreur ! Signet non défini.
I-2-2 Structure	Erreur ! Signet non défini.
I-3 Les bactéries à Gram négatif.....	Erreur ! Signet non défini.
I-3-1 <i>Escherichia coli</i>	Erreur ! Signet non défini.
I-3-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Erreur ! Signet non défini.
I-4 Les bactéries à Gram positif	Erreur ! Signet non défini.
I-4-1 <i>Staphylococcus aureus</i>	Erreur ! Signet non défini.
II- Les antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
II-1 Définition	Erreur ! Signet non défini.
II-2 Critères de classification.....	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 Selon l'origine	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2 Selon l'effet	Erreur ! Signet non défini.
II-2-3 Selon le spectre	Erreur ! Signet non défini.
II-2- 4 Selon le site d'action.....	Erreur ! Signet non défini.
II-2-5 Selon la nature chimique	Erreur ! Signet non défini.
II- 3 Mode d'action des antibiotiques	Erreur ! Signet non défini.
II-4 La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	Erreur ! Signet non défini.

Chapitre2: La phytothérapie et les plantes

I- La phytothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Historique	Erreur ! Signet non défini.
I-2 Définition.....	Erreur ! Signet non défini.
II- Les plantes médicinales.....	Erreur ! Signet non défini.

II-1 Les principes actifs	Erreur ! Signet non défini.
II-1-1 Définition	Erreur ! Signet non défini.
II-1-2 Les différents types	Erreur ! Signet non défini.
II-2 Les modes de préparation	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 Les tisanes (utilisation des plantes sèches)	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2 La digestion.....	Erreur ! Signet non défini.
III- Les différents types de la phytothérapie	Erreur ! Signet non défini.
III- 1 L'aromathérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
III- 2 La gemmothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
III- 3 L'homéopathie.....	Erreur ! Signet non défini.
III- 4 La mésothérapie	Erreur ! Signet non défini.
III - 5 La phytothérapie pharmaceutique	Erreur ! Signet non défini.
IV - Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie.....	Erreur ! Signet non défini.
IV- 1 Les avantages.....	Erreur ! Signet non défini.
IV- 2 Les inconvénients	Erreur ! Signet non défini.

Chapitre3: Généralités sur les huiles essentielles

1-Définition :	Erreur ! Signet non défini.
2-Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles :	Erreur ! Signet non défini.
3- Composition chimique des huiles essentielles :	Erreur ! Signet non défini.
3-1- Les terpénoïdes :	Erreur ! Signet non défini.
3-2-Les composés aromatique	Erreur ! Signet non défini.
3-3- Les composés d'origines diverses.....	Erreur ! Signet non défini.
4- Facteurs de variabilité de la composition chimique	Erreur ! Signet non défini.
5-Biosynthèse des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
5-1-Voie des terpenoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
5-2-Voie des phenylpropanoïdes	Erreur ! Signet non défini.
6-Les méthodes d'extraction	Erreur ! Signet non défini.
6-1 L'hydrodistillation	Erreur ! Signet non défini.
6-2-L'entraînement à la vapeur d'eau.....	Erreur ! Signet non défini.
6-3-L'hydrodiffusion.....	Erreur ! Signet non défini.
6-4-L'extraction au CO2 supercritique.....	Erreur ! Signet non défini.
6-5-L'extraction à froid.....	Erreur ! Signet non défini.
6-6-L'extraction par les solvants :	Erreur ! Signet non défini.
7- Conservation des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.

8-Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité.....	Erreur ! Signet non défini.
8-1-Méthodes d'analyses des caractéristiques physico-chimiques	Erreur ! Signet non défini.
8-2-Analyse de la composition chimique	Erreur ! Signet non défini.
9-Propriétés des huiles essentielles.....	Erreur ! Signet non défini.
9-1-Propriétés physico-chimiques	Erreur ! Signet non défini.
10-Les activités biologiques des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
10-1 Antibactérienne	Erreur ! Signet non défini.
10-2 Antivirale	Erreur ! Signet non défini.
10-3 Antifongique	Erreur ! Signet non défini.
10-4 Antiparasitaire.....	Erreur ! Signet non défini.
10-5 Antiseptique	Erreur ! Signet non défini.
11-Toxicité des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.
12-Domains d'application des huiles essentielles	Erreur ! Signet non défini.

Chapitre4 : *Laurus nobilis*

1- Historique	Erreur ! Signet non défini.
2- Caractérisation botanique et morphologique.....	Erreur ! Signet non défini.
3- Classification botanique:.....	Erreur ! Signet non défini.
4 -Répartition géographique.....	Erreur ! Signet non défini.
5- Culture et climatisation	Erreur ! Signet non défini.
6- Conservation	Erreur ! Signet non défini.
7- Composition chimique	Erreur ! Signet non défini.
7-1 Composition chimique des feuilles du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
7-2 L'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
7-3 Composition de l'huile essentielle du laurier	Erreur ! Signet non défini.
7-8 Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
8- L'utilisation du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
8-1 Utilisation comme additif dans l'industrie alimentaire :.....	Erreur ! Signet non défini.
8-2 Utilisation dans la médecine naturelle.....	Erreur ! Signet non défini.
8-3 Utilisation en parfumerie et cosmétique	Erreur ! Signet non défini.
8-4 Autres utilisations du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.

Partie pratique : Matériel et méthodes

I- Matériels.....	Erreur ! Signet non défini.
I-1 Matériel Végétal	Erreur ! Signet non défini.

I-1-1 La cueillette	Erreur ! Signet non défini.
I-1-2 Séchage	Erreur ! Signet non défini.
I-1-3 Conservation.....	Erreur ! Signet non défini.
I-2 Matériel microbiologique	Erreur ! Signet non défini.
II- Méthodes.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1- L'étude phytochimique	Erreur ! Signet non défini.
II -1-1- Alcaloïdes	Erreur ! Signet non défini.
II-1-2- Tanin.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-3- Flavonoïdes.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1- 4- Saponosides	Erreur ! Signet non défini.
II-1-5- Mucilages.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-6- coumarines.....	Erreur ! Signet non défini.
II-1-7 irridoïdes	Erreur ! Signet non défini.
II-1-8- Les terpènes	Erreur ! Signet non défini.
II- 2 -L'étude chimique	Erreur ! Signet non défini.
II-2-1 L'extraction des huiles essentielles du <i>Laurus nobilis</i>	Erreur ! Signet non défini.
II-2-2 L'évaluation de l'activité antibactérienne	Erreur ! Signet non défini.
III - L'étude anatomique	Erreur ! Signet non défini.
IV- La conception d'une pommade antiseptique.....	Erreur ! Signet non défini.
IV-1 Mode de préparation	Erreur ! Signet non défini.
IV-2 Essai de la pommade.....	Erreur ! Signet non défini.
III- Résultats et discussion	Erreur ! Signet non défini.
III- 1- Résultats	Erreur ! Signet non défini.
III- 1-1 L'étude phytochimique	Erreur ! Signet non défini.
III- 1- 2-L'extraction de l'huile essentielle	Erreur ! Signet non défini.
III-1-3- L'évaluation de l'activité antibactérienne.....	Erreur ! Signet non défini.
III-1-4 - L'étude anatomique.....	Erreur ! Signet non défini.
III-1-5- Contrôle de la pommade antiseptique	Erreur ! Signet non défini.
III-2 Discussion.....	Erreur ! Signet non défini.

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des figures

N°	Titre
01	<i>Laurus nobilis</i>
02	Les fleurs de <i>laurus nobilis</i>
03	les fruits de <i>laurus nobilis</i>
04	les feuilles de <i>laurus nobilis</i>
05	L'appareil d'hydrodistillation
06	Méthode de diffusion par disque
07	Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide (Skandamis et Nycha 2001).
08	Détermination de la CMB en milieu solide (Skandamis et Nycha ., 2001).
09	Test de présence des alcaloïdes
10	Test de présence des saponosides.
11	Test de présence des tanins.
12	Test de présence des flavonoïde
13	Test de présence des mucilages.
14	Test de présence des coumarines.
15	Test de présence des iridoïdes
16	Test de présence des terpènes
17	Rendement de l'huile essentielle des feuilles du laurier Algérien et Tunisien selon les périodes de récolte.
18	Représentation graphique des tests de l'aromatogramme sur <i>P.aeruginosa</i>
19	Représentation graphique des tests de l'aromatogramme sur <i>E.coli</i>
20	Représentation graphique des tests de l'aromatogramme sur <i>S.aureus</i>
21	Représentation graphique des tests de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>E.coli</i> .
22	Représentation graphique des tests de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>S.aureus</i>
23	Représentation graphique des tests de l'antibio- et l'aromatogramme sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
24	résultat de la CMI sur <i>P. aeruginosa</i>
25	résultat de la CMI sur <i>E.coli</i>
26	résultat de la CMI sur <i>S.aureus</i>
27	résultat de la CMB sur <i>P. aeruginosa</i>
28	résultat de la CMB sur <i>E.coli</i>
29	résultat de la CMB sur <i>S.aureus</i>
30	Anatomie de la feuille vue au microscope optique (Gr X10)

31	Détail des cellules sécrétrices vues Au microscope optique (Gr X40)
32	Pommade antiseptique formulée à partir des deux types d'HE
33	Pommades antiseptiques étalées
34	Mesure du pH des pommades antiseptiques
35	Lapin traité par la pommade à base d'HE du <i>Laurus nobilis</i> Tunisien
36	Lapin traité par la pommade à base d'HE de <i>Laurus nobilis</i> Algérien

Liste des tableaux

	Titre
01	Composition chimique des feuilles du <i>Laurus nobilis</i>
02	La structure des principaux composants chimiques de l'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i>
03	Valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques (CASFM., 2009)
04	Rendement et caractéristiques de l'huile essentielle des feuilles du laurier Algérien selon les périodes de récolte.
05	Rendement et caractéristiques de l'huile essentielle des feuilles du laurier Tunisien selon les périodes de récolte.
06	Résultat de l'antibiogramme des souches testées.

Liste d'abréviation :

% : pourcentage

C : degrés Celsius

ATB : antibiotique

BN : bouillons nutritif

CMB : concentration minimale bactéricide

CMI : concentration minimale inhibitrice

FeCl₃ : chlorure ferrique

GN : gélose nutritive

H₂SO₄ : acide sulfurique

HCL : acide chlorhydrique

HE : huile essentiel

IPP : isopentyl pyrophosphate

MH : Mueller Hinton

NaOH : hydroxyde de sodium

PEP : phosphoenolpyruvate

Introduction

L'homme s'est depuis la nuit des temps servi des plantes, il leur a attribué des pouvoirs magiques, puis a appris peu à discerner leurs propriétés. Ces plantes ont constitué pour lui une source de nourriture, voire un moyen de guérir ses maladies (**Wichtl M, Anton R.,2003**).

Les raisons qui ont mené à l'usage de ces plantes sont nombreuses . Elles sont d'abord d'un cout inferieur aux médicaments , et pourraient constituer une solution face à plusieurs maladies et problèmes notamment à la résistance bactérienne aux antibiotiques et aux effets secondaires liés à leurs usages (**Hallal Z.,2011**).

Les plantes médicinales représentent une nouvelle source de composés actifs naturels (les métabolites secondaires) tels que les composés phénoliques , les saponosides ,et les huiles essentielles qui font l'objet de nombreuses recherches *in vitro* et *in vivo* (**Hallal Z.,2011**).

Les huiles essentielles ou les essences, font partie des principes actifs les plus connus pour leurs propriétés médicinales (anti-inflammatoire, antibactérienne...etc). Elles sont synthétisées et sécrétées par l'intermédiaire de cellules ou organes particuliers dans lesquelles elles restent localisées . Leur extraction est certainement la phase la plus délicate et la plus importante du processus. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal (**Wilhelm Nultsch.,1998**).

L'évaluation des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales , demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine et les traditions médicinales folkloriques (**Hallal Z.,2011**).

En effet, la région méditerranéenne, compte tenu de sa forte biodiversité végétale, offre un potentiel en substances naturelles considérable. Environ 25000 espèces y ont été recensées pour traiter nombreuses pathologies. (**Wilhelm Nultsch.,1998**).

Parmi les pays méditerranéen, l'Algérie et la Tunisie possèdent une position géographique particulière, leurs accordant une large bande de végétation très variée notamment les plantes aromatiques médicinales. En Algérie et Tunisie, la phytothérapie est une pratique très ancienne. Les connaissances empiriques se sont transmises verbalement à

travers les générations et se sont enrichies grâce à leur situation géographique stratégique bien connue (**Wilhelm Nultsch.,1998**).

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore méditerranéenne , on s'est intéressé aux espèces de la famille des Lauracées *Laurus nobilis* qui est une plante aromatique abondante , bénéficiant de propriétés thérapeutiques que attribuées par la médecine traditionnelle, et la pharmacologie grâce à ses divers propriétés anti-inflammatoire et antiseptique (**Mébarki N.,2010**).

Le but de notre travail est de comparer l'activité anti-bactérienne d'huiles essentielles du *Laurus nobilis* (Algérienne et Tunisienne)

Notre travail est subdivisé en deux parties

- ✓ Une partie bibliographique portant sur les bactéries utilisées, la phytothérapie et les plantes médicinales ,les huiles essentielles et enfin la plante utilisée.

- ✓ Une partie expérimentale consistant à comparer l'activité antibactérienne *in vivo et in vitro* de deux huiles essentielles du *Laurus nobilis* extraites de deux régions différentes (Guelma _Algerie_ Ain drahem _Tunisie_) sur des souches référenciées potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogunosa et Escherichia coli*) .

I- Le monde microbien

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (exp: la flore digestive), soit ils déterminent une infection et sont donc pathogènes (**Khiati M., 1998**).

I-1 Historique

C'est au cours du XVII^e siècle qu'Antony Van Leeuwenhoek révèle au monde scientifique la prodigieuse diversité des microorganismes et l'incroyable richesse des milieux naturels en protozoaires, algues, levures et bactéries. Ses observations et ses magnifiques descriptions sont d'une précision telle qu'aujourd'hui encore elles forcent l'admiration et permettent l'identification. Entre-temps, les médecins continuent d'attribuer les maladies à des "miasmes" ou à cause des mystiques, et ils demeurent à peu près imperméables à la notion de contagion. C'est par dizaines de milliers que se comptent les victimes de cette ignorance, fondée sur des croyances philosophiques. Il faut attendre pourtant le XIX^e siècle et les expériences de Pasteur pour que ce monde microbien soit exploré et que les différents caractères des microorganismes inventoriés apparaissent dans leur immense variété (**Hachemie O., 2002**).

I-2 Morphologie et structure de la cellule bactérienne

I-2-1 Morphologie

Les procaryotes sont essentiellement représentés par les bactéries. Leurs cellules sont constituées d'un compartiment unique entouré d'une membrane plasmique, ne possédant pas de noyau bien défini et ayant une organisation interne simple (**Gerald., 2004**).

❖ Dimension

Le microscope est nécessaire à l'étude des bactéries, puisqu'elles atteignent à peine une certaine de μm de longueur (entre 5 à $10\mu\text{m}$). Une goutte d'eau peut contenir plus d'un milliard de ces organismes. Les *Staphylocoques* et les *Streptocoques* qui sont des bactéries sphériques ont un diamètre variant entre 0.75 et $1.24\mu\text{m}$. Au plus fort grossissement du

microscope optique (X1000à 1500), les Rickettsies et Chlamidies sont à peine visibles ce qui les classent parmi les plus petites bactéries (**Baltimore et al., 2000**).

❖ **Forme**

Les cellules bactériennes individuelles sont sphériques, en forme de bâtonnets ou spiralées. Chacune de ces formes est importante pour décrire la morphologie d'une espèce. Les bactéries en forme de petites sphères sont appelées cocci. Les formes cylindriques droites sont des bacilles ou bâtonnets. Les formes recourbées en virgules sont les plus caractéristiques, mais dans la nature on trouve des intermédiaires de ces formes typiques comme les coccobacilles (**Gerald., 2004**).

I-2-2 Structure

La structure des bactéries a été mise en évidence grâce à la microscopie électronique sur coupes ultrafines. Il est classique de distinguer des structures obligatoires présentes chez toutes les bactéries et des structures dont la présence est facultative (**Jean., 1997**).

❖ **Les structures obligatoires:** constantes et toujours présentes sont:

- La paroi
- La membrane cytoplasmique
- Le cytoplasme
- L'appareil nucléaire (**Jean., 1997**)

❖ **Les structures facultatives :** sont présentes chez certaines bactéries seulement

- La capsule
- Les fimbriae et les pili
- Les flagelles
- Les spores
- Les plasmides (**Jean., 1997**)

I-3 Les bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif sont mises en évidence par la coloration de Gram. Les bactéries à Gram négatif apparaissent alors rose en microscope optique.

La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires de la paroi bactérienne. La coloration de Gram est un facteur déterminant dans la classification bactérienne (**Avril J. et al., 2000**).

I-3-1 *Escherichia coli*

- **Définition**

Bacille à Gram négatif, commensal du tube digestif . est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (Nataro et Kaper., 1999) .

I-3-2 *Pseudomonas aeruginosa*

- **Définition**

Un certain nombre de bacilles à Gram négatif de l'environnement se comportent comme des bactéries opportunistes et sont souvent à l'origine d'infection nosocomiale. Il s'agit souvent de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques. Une des plus redoutables est *Pseudomonas aeruginosa* (Philip H., 1997).

I-4 Les bactéries à Gram positif

Les bactéries à Gram positif sont mises en évidence par la coloration de Gram. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors mauves en microscope optique.

La technique de coloration repose sur les caractéristiques membranaires de la paroi bactérienne (Avril J.et al., 2000) .

I-4-1 *Staphylococcus aureus*

- **Définition**

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper en amas. Une espèce , *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré) , tient une place très importante dans les infections cutanées et nosocomiales (Chamber., 2003) .

II- Les antibiotiques

II-1 Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques élaborés par des microorganismes et qui ont le pouvoir de s'opposer à la multiplication des bactéries en les détruisant ou inhibant leur multiplication (**Prescott et al., 2000**) .

II-2 Critères de classification

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères différents:

II-2-1 Selon l'origine

- Antibiotiques naturels : Pénicilline, Streptomycine.....
- Antibiotiques semi synthétiques: Béta lactamine
- Antibiotiques synthétiques : Sulfamide (**Claude M et al ., 2005**) .

II-2-2 Selon l'effet

- Antibiotiques bactéricides: Béta lactamine , Rifamycine.....
- Antibiotiques bactériostatiques: Cycline, Phénicolés (**Claude M et al., 2005**) .

II-2-3 Selon le spectre

- Antibiotiques à large spectre: Aminoside, Sulfamide,.....
- Antibiotiques à spectre étroit : Péniciline,..... (**Claude M et al ., 2005**) .

II-2- 4 Selon le site d'action

- Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne: Glycopeptide, Béta lactamine
- Antibiotiques actifs sur la membrane cytoplasmique : Polymyxines(**Claude M et al .,2005**).

II-2-5 Selon la nature chimique

Cette classification permet de distinguer les antibiotiques en familles qui sont subdivisées en sous familles, groupes et génération exp: la famille des Béta lactamine (**Claude M et al ., 2005**) .

II- 3 Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

Ils agissent par:

- ✓ **Toxicité au niveau de:** la synthèse de la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique, la synthèse des protéines et au niveau de l'acide nucléique
- ✓ **Inhibition compétitive:** dans ce cas l'antibiotique est un analogue structurale, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (**Claude M et al ., 2005**)

II-4 La résistance bactérienne aux antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être naturellement inefficaces contre certaines bactéries (résistance naturelle). Cette résistance définit le spectre d'action de l'antibiotique. Elle est connue et se manifeste chez tous les individus de la population bactérienne considérée. Le spectre peut être étroit, moyen, large, ou très large (**Chantal B et Huguet B., 2006**).

Les antibiotiques peuvent devenir inefficaces contre les bactéries au préalable sensibles à l'antibiotique (résistance acquise). Cette résistance est propre à certaines souches d'une même espèce considérée et correspond à des modifications génétiques au niveau chromosomique ou extra-chromosomique. Elle est évolutive, varie en fonction du temps, de l'utilisation des antibiotiques, et s'appelle aussi phénotype résistant (**Claude M et al ., 2005**) .

La phytothérapie

I-1 Historique

Le premier texte sur la médecine par les plantes a été gravé sur des plaques d'argile par les Sumériens, environ 3000 ans avant Jésus-Christ.

L'histoire de la phytothérapie est liée à celle de l'humanité, car dans toutes les cultures on a toujours compté sur les valeurs curatives des plantes pour soigner et guérir les hommes. Certaines cultures- notamment en Chine et en Inde- perpétuent depuis des siècles une longue tradition d'herboristes, tandis qu'en Europe et Amérique du Nord, sa population fut plus fluctuante face à la médecine conventionnelle (**Paul I., 2001**) .

I-2 Définition

La phytothérapie est au sens étymologique" la thérapeutique par les plantes" ; on doit la considérer aujourd'hui comme la thérapeutique utilisant les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes ; à l'exclusion des principes actifs purs isolés des plantes (**Strang C.,2006**) .

II- Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques, grâce à leurs composants (les principes actifs) (**Farnsworth et al., 1986**) .

II-1 Les principes actifs

II-1-1 Définition

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante; ils lui confèrent son activité thérapeutique (**Rates., 2001**) .

II-1-2 Les différents types

➤ Les alcaloïdes

Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets à caractères alcalin, de structure thérapeutiques connues. Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de structure complexe (**Paul I., 2001**) .

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandue dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs , des fruits et parfois des feuilles (**Paul I.,2001**) .

➤ Les saponines

Les saponines sont des composés de glucose (ou glucosides). En présence d'eau, ils forment une mousse et peuvent dissoudre l'hémoglobine des globules rouges du sang. Leur réaction avec l'eau fait qu'ils permettent l'expulsion d'eau en excès et du même coup les impuretés de la peau et celle des articulations responsables des rhumatismes (**Paul I., 2001**).

➤ Les tanins

Ce sont macromolécules extraites des plantes et ayant pour motifs réplicatifs des acides polyhydroxybenzoïques (**Paul I., 2001**) .

➤ Les coumarines

Les coumarines, de différents types , se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses . Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires (**Madhavi et al., 1996**) .

➤ Les mucilages

Les mucilages sont des substances végétales, constituées de polysaccharides, qui gonflent au contact de l'eau en prenant une consistance visqueuse, parfois collante, semblable à la gélatine. (**Madhavi et al.,1996**) .

II-2 Les modes de préparation

En fonction de l'effet thérapeutique recherché, l'usage traditionnel puis la recherche, ont mis au points des procédés de traitement des plantes qui permettent de ne garder que les molécules intéressantes, pour une utilisation locale, buvable ou injectable (**Sewenderg P., 1977**) .

II-2-1 Les tisanes (utilisation des plantes sèches)

Les tisanes sont obtenues par macération, digestion, infusion ou décoction en utilisant de l'eau.

✓ L'infusion

Elle consiste à verser sur la plante de l'eau bouillante, couvrir et laisser refroidir 2 à 15 minutes. Elle convient aux plantes fragiles (fleurs et feuilles) (**Sewenderg P.,1977**) .

✓ La décoction

Elle consiste à maintenir la drogue avec de l'eau à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Elle convient aux plantes dures (écorces, racines ' fruits et certaines feuilles) (**Sewenderg P., 1977**) .

✓ La macération

Il s'agit de maintenir la plante en contact avec l'eau (température ambiante), pendant 30 minutes à 4 heures (**Sewenderg P.,1977**) .

II-2-2 La digestion

On maintient la plante en contact avec l'eau (température inférieur à celle de l'ébullition , mais supérieur à la température ambiantes) pendant 1 à 5 heures (**Mata A.,2007**).

✓ Les poudres

Préparées par pulvérisation suivie d'un tamissage, elles entrent directement dans la composition des gélules mais servent aussi à la fabrication d'autres formes galéniques comme les extraits et les teintures (**Mata A., 2007**) .

✓ Les extraits

Les extraits sont obtenus en traitant la plante dans une solution vaporisable (éther, eau, alcool,...) par divers procédés d'extraction (macération, digestion, infusion,...) puis en évaporant ces solutions jusqu'à obtenir une consistance fluide, molle ou sèche. On les classe donc cela leurs consistances (**Mata A., 2007**).

✓ **Les teintures**

Elles sont obtenues à partir de poudres végétales sèches et leur titres alcooliques varie selon le type de drogue. Il peut être à 60 °(principes actifs très solubles) , à 70°ou 80°à 90° (exp: huiles volatiles) (**Mata A.,2007**).

✓ **Les pommades**

Elles fonctionnent comme les cataplasmes , mais l'avantage est qu'elles demeurent beaucoup plus longtemps au contact de la peau. On les prépare en mélangeant la plante choisie avec une substance grasse comme la vaseline , les huiles de coco ou d'amande (**Mata A.,2007**)

III- Les différents types de la phytothérapie

III- 1 L'aromathérapie

C'est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes. Ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau (**Strang C., 2006**) .

III- 2 La gemmothérapie

Elle se fonde sur l'utilisation d'extraits alcooliques de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules (**Strang C., 2006**) .

III- 3 L'homéopathie

Elle a recours aux plantes médicinales d'une façon prépondérante , mais non exclusive , les trois quarts des souches sont d'origine végétales , le reste étant d'origine animale et minérale (**Strang C .,2006**) .

III- 4 La mésothérapie

La mésothérapie est une technique qui consiste à injecter localement (à l'endroit douloureux) sous formes de petites gouttelettes, des substances le plus naturels possible et quelque fois médicamenteuses, mais jamais de corticoïdes (Strang C ., 2006) .

III - 5 La phytothérapie pharmaceutique

Elle utilise des produits d'origine végétale obtenue par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous formes de sirop , de gouttes , de gélules (Strang C .,2006) .

IV - Les avantages et les inconvénients de la phytothérapie

IV- 1 Les avantages

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années , les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner , qu'il s'agisse de maladies bénignes , ou rhume ou toux ou plus sérieuses , telles que la malaria . Aujourd'hui, les traitements à base des base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistance de plus en plus . La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme (Ahami A et al., 2007).

IV- 2 Les inconvénients

La phytothérapie a des limites car elle est exclue des traitements de l'hypertension, du diabète, des cancers , et du (S.I.D.A) .Pratiquement la phytothérapie est bien adaptée aux pathologies légères et aux traitement symptomatique . Il faut connaître le recensement récents d'effets indésirables à des médicaments à base de plantes (Volak J et Stodola J.,2002) .

1-Définition :

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances végétales, obtenu par extraction ou distillation de molécules volatiles de la plante d'origine. On y retrouve majoritairement des terpénoïdes et des molécules aromatiques. Les huiles essentielles issues de différentes plantes possèdent donc des propriétés différentes, dépendantes de la composition d'origine (AFNOR., 1986).

Elles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des presses (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs, soit dans les sommités fleuries, soit dans les feuilles, ou dans l'écorce, ou dans les racines, ou dans les fruits, ou dans les graines ou encore autre part dans la plante (Laibe., 2011).

Elles sont alors utilisées par certains en aromathérapie, par voie buccale, respiratoire ou cutanée pour le traitement d'un grand nombre de pathologies. L'aromathérapie est classée parmi les médecines douces, mais son efficacité comme son innocuité sont mises en doute car les molécules contenues dans les huiles essentielles sont nombreuses, et leurs compositions ne sont donc pas maîtrisées. Elles sont d'ailleurs non recommandées pour les enfants en bas âge (BRUNETION J, 1993).

2-Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (Botton, Berton. ; 1990).

3- Composition chimique des huiles essentielles :

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane ainsi que d'autres composés d'origines diverses (**Brunton., 1993**).

3-1- Les terpénoïdes :

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. suivants les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8), et les polyterpènes (**Dorman, Deans., 2000**).

3-2- Les composés aromatique :

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (**Brunton., 1993**).

3-3- Les composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation.

Alcools : menthol, géranol, linalol, ...

Aldéhydes : géranial, citronellal, ...

Cétones : camphre, pipéritone

Phénols : thymol, carvacrol...

Esters : acétate de géranyle...

Acides : acide géranique...

Phénylpropanoïdes : eugénol

Autres : éthers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène (**Wichtl, Anton., 1999**).

4- Facteurs de variabilité de la composition chimique :

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement et plusieurs facteurs en sont responsables :

- **Existence de chémotypes (chimiotypes) :** c'est un facteur très fréquent chez les plantes à huiles essentielles. En effet, pour une même espèce on peut rencontrer plusieurs chémotypes : l'exemple du thym avec ses sept races chimiques est très frappant (**Bouckris et al., 1965**)
- **Influence du cycle végétatif :** pour une espèce donnée, la composition chimique d'une huile essentielle peut varier au cours du cycle végétatif. Pour certaines espèces, des variations parfois considérables sont observées (**Bouckris et al., 1965**).
- **Effets des facteurs extrinsèques :** Les facteurs de l'environnement comme l'humidité relative de l'aire, la durée de l'insolation, l'altitude ... influent directement sur la proportion des différents constituants d'une huile essentielle, surtout chez les espèces dont les structures sécrétrices sont superficielles (cas des poils sécréteurs des lamiacées). Par contre, quand la localisation est profonde, la composition et la qualité sont pratiquement constantes. Les conditions de culture ont une incidence non négligeable et déterminante sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle (**Bouckris et al., 1965**).

5-Biosynthèse des huiles essentielles :

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies (**Mann., 1987**)

5-1-Voie des terpenoïdes :

Le matériau de base est l'PP (isopentyl pyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbones ayant une structure semi-alvéolaire. Il est dérivé de l'Acétyl CoA (carrefour important), lui-même issu du PEP (phosphoenolpyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonés à lieu de la même manière par la juxtaposition "tête à queue" d'unités isopréniques, unités pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpènes), puis à quinze carbones

(sesquiterpènes) et plus rarement, à vingt carbones (diterpènes). Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences (**Mann., 1987**).

5-2-Voie des phenylpropanoïdes :

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phenylpropanoïdes 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 : acide 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 et Porter., 1981**).

6-Les méthodes d'extraction :

6-1 L'hydrodistillation :

L'hydrodistillation : est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien. En effet il fut importé en Europe par les arabes entre le VIIIème et Xème siècle mais le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens dès le IVème siècle après J.C. Il est aussi le plus utilisé, le plus rentable et convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique (**El Hattab., 2007**).

Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel. Elle est réalisée en 2 étapes.

La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. L'eau est portée à ébullition entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, les vapeurs sont condensées et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Après avoir laissé reposer le contenu quelques secondes, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique (**Willem., 2004**).

6-2-L'entraînement à la vapeur d'eau :

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules

végétales. Libérer les molécules aromatiques et les entrainer dans un serpentin de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange "eau+huile essentielle ". Recueillies dans un essencier, l'huile essentielle et l'eau florale se séparent par simple différence de densité. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Neffati., 2010**).

6-3-L'hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange " vapeur d'eau-huile essentielle " dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau (**Meyer-Warnod., 1984**).

6-4-L'extraction au CO2 supercritique :

Le terme supercritique signifie que le CO₂, sous pression et à une température de 31° C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO₂ est capable de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles. La matière végétale est chargée dans l'extracteur ou est ensuite introduit le CO₂ supercritique (sous pression et réfrigéré). Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle (**Gross et all., 2008**).

6-5-L'extraction à froid :

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences, ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les restes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence, le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence car il n'a subi aucune modification chimique (**Roux., 2008**).

6-6-L'extraction par les solvants :

Ce procédé est utilisé dans le cas des plantes qui contiennent peu d'huiles essentielles. Les plantes sont placées dans un extracteur mélangées à un solvant. Lorsque ce solvant se trouve saturé d'huile essentielle, il est distillé, ce qui permet d'obtenir une pâte crémeuse dénommée "concrète". Celle-ci est lavée à l'alcool puis glacée et filtrée. Seul l'alcool est conservé car il est chargé en parfum. Il faut alors procéder à une dernière opération qui consiste à faire évaporer cet alcool, il ne reste finalement que l'essence de la plante. Cependant, il faut savoir que cette technique ne permet pas d'obtenir des huiles essentielles totalement pures puisqu'elles contiennent encore un faible pourcentage de solvant (**Hernandez-Ochoal., 2005**).

7- Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont fragiles et volatiles. Elles doivent être conservées dans des flacons soigneusement bouchés, brun, hermétiquement fermé à l'abri de l'air, de la lumière et des variations de température. Les huiles essentielles se conservent entre 2 et 5 ans (**Hernandez-Ochoal., 2005**).

8-Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité :

En égard à l'importance industrielle des huiles essentielles, leur qualité s'impose depuis le producteur, en passant par l'industriel jusqu'au consommateur. Cette exigence se traduit nécessairement par l'établissement de normes de qualité, élaborées pour des considérations de santé et de sécurité dans différents domaines d'applications des huiles essentielles. Normalement, les normes de qualité sont établies par les instances gouvernementales et servent de référence. Dans le cas des huiles essentielles, ces normes ont été définies par l'association Française de Normalisation (AFNOR) et "Essential Oils Association" (EOA). Ainsi l'analyse des huiles essentielles porte sur les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique (**AFNOR, 1999**).

8-1-Méthodes d'analyses des caractéristiques physico-chimiques :

Ces analyses concernent essentiellement les paramètres suivants :

- La densité, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire, l'indice d'acide et l'indice d'ester.

A ces paramètres, on peut aussi ajouter les caractéristiques organoleptiques telles que l'aspect, la couleur et l'odeur.

Nous pouvons souligner que les huiles essentielles sont généralement liquides à la température ambiante, d'odeurs aromatiques rarement colorées quand elles sont fraîches. Leur densité est plus souvent inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et, le plus souvent, sont douées d'un pouvoir rotatoire. Elles sont volatiles et entraînable par la vapeur d'eau, elles lui communiquent leur odeur. Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, les huiles fixes et la plupart des solvants organiques (**Guenter., 1975**)

8-2-Analyse de la composition chimique :

Cette analyse concerne l'identification qualitative et quantitative de différents constituants d'une huile essentielle. On peut utiliser les méthodes suivantes :CG, CG/SM,HPLC, RMN, IR, etc.

La chromatographie en phase gazeuse est la méthode la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. C'est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans subir une décomposition (**Arpine et Al., 1995**).

9-Propriétés des huiles essentielles :

9-1-Propriétés physico-chimiques :

D'une manière générale, les propriétés et caractéristiques d'une huile essentielle sont : les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation (**Bruneton., 1999**)

Elle sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil, menthe de japon...). Elles contiennent des substances volatiles dans le végétal se qui les différencie des huiles "fixes". Toutes les huiles volatiles sont acres, très inflammables, et très odorantes. Elles sont très rarement colorées, (sauf quelques exceptions) mais prennent peu à peu une coloration bleu clair (camomille, patchouli) qui est due à la présence de chamazulène (carbures sesquiterpénique qui est l'azulène). Du fait de leur nature huileuse, ces produits sont très peu soluble dans l'eau, mais soluble dans les solvants organiques apolaire usuels, les huiles grasses, et dans les alcools à titre élevé et l'éther. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (**Benkada., 1990**).

10-Les activités biologiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie de tous les jours. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales. Parmi les propriétés les plus connues, on citera :

10-1 Antibactérienne :

Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpènes (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géraniol), etc (**Benayada., 2008**).

10-2 Antivirale :

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non solubles. Aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux. Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Benayada., 2008**).

10-3 Antifongique :

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (**Benayada., 2008**).

10-4 Antiparasitaire :

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (**Benayada., 2008**).

10-5 Antiseptique :

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (**Benayada., 2008**).

11-Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et

toxiques. La toxicité des huiles essentielles (principalement des cétones mono terpéniques) est connue depuis des années. L'automédication (dangereuse) est favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmacies : au mépris d'une législation qui réserve la distribution de certains d'entre eux aux pharmaciens garantissant ainsi un contrôle rigoureux d'identité et de conformité. Egalemnt les huiles essentielles de lamiaceae ;peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles sont ingérées à forte dose. Les intoxications décrites sont généralement consécutives à un usage inconsidéré (exp :5ml de l'huile essentielle). La symptomatologie de ce type d'intoxication est marquée par des épisodes de convulsions de type épileptique, parfois accompagnées de cyanose et entrecoupées de phases hypotoniques et hyporéflexique. Elle peut aussi comporter une perte de conscience (**BouananeN., Boussehel N., 2005**).

12-Domains d'application des huiles essentielles :

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leurs emploi dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie ;l'aromathérapie...

✓ En parfumerie et cosmétologie :

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grace a l'activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Laibe., 2011**).

✓ En industrie alimentaire :

En industrie alimentaire, des nouvelles techniques pour réduire la prolifération des micro-organismes résidedans l'utilisation des HE, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire,il y est rajouté pour rehausser le gout et pour empecher le develeppement des contaminations alimentaires. Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (**Laibe., 2011**).

✓ Utilisation en aéro-ionisation :

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huiles essentielles. Il se forme ainsi des aérosols, vrais aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère. Elles servent dans la fabrication du "paragerm", solution volatile à base d'essences naturelles (citron, lilas) à activité bactéricide, acaricide, et fongistatique qui s'est révélée sans aucune toxicité pour l'homme aux doses utilisées (**Laibe., 2011**).

1- Historique :

Laurus – le nom botanique du laurier – est dérivé du mot latin laus qui veut dire «louange». Sous l'Empire romain, les généraux vainqueurs recevaient une couronne de laurier – la Corona Triumphalis. Le laurier est resté à l'époque moderne également un symbole de triomphe. Il suffit de songer à la «Feuille de laurier argentée», qui est la plus haute distinction sportive depuis 1950 chez nos voisins de République Fédérale d'Allemagne. Les prêtresses de Delphes qui rendaient les prophéties d'Apollon – dieu grec des oracles, de la poésie et de la guérison – mangeaient une feuille de laurier pour ne pas succomber au «sortilège de l'amour». Selon la tradition, le toit du temple d'Apollon était entièrement fait de feuilles de laurier afin de le protéger contre la sorcellerie et la foudre. Le fils d'Apollon Esculape – dieu grec de la médecine – utilisait lui aussi des huiles et feuilles de laurier contre la peste.

2- Caractérisation botanique et morphologique :

Laurus nobilis appartient de la famille de *Lauraceae*, c'est une plante aromatique à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut, qui se caractérise par :

* **Les feuilles** : Les feuilles sont persistantes, alternes, allongées à lancéolées, d'environ 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large ; elles se terminent en pointe des 2 cotés et sont courtement pétiolées ; leur limbe est glabre, entier, souvent légèrement ondulé et épaissi sur les bords, recourbé vers l'intérieur, d'un vert foncé. **(Voir figure 2)**

***Les fleurs** : Les fleurs sont petites odorantes en forme d'étoile à la fin du printemps de couleur blanchâtres à jaune, les fleurs sont groupées à l'aisselle des feuilles en petits bouquets en forme d'ombelles axillaires ou en courts panicules. **(Voir figure 3)**

***Les fruits** : fruits ou baies de laurier (baies globuleuse, drupe aromatique charnue) ressembler à une petite olive avec la forme ovale ou ellipsoïde. Les fruits sont de couleur vert au début et violet au noir profond à maturité (Septembre). **(Voir figure 4)**



Figure n°1 : *Laurus nobilis*



Figure n :2
Les fleurs de *laurus nobilis*



Figure n : 3
les fruits de *laurus nobilis*



Figure n:4
les feuilles de *laurus nobilis*

3- Classification botanique.

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotyledones

Ordre : Laurales

Famille : Lamiaceae

Genre : Laurus

Espèce : *Laurus nobilis L*

4 -Répartition géographique :

Cette famille qui est principalement tropicale, se trouve dans la région méditerranéenne en particulier dans la (Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France).

Le laurier est aussi largement cultivé dans les pays arabes tels que l'Algérie au la Tunisie. Actuellement cette espèce, sauvage ou cultivées, est présente dans le sud et l'ouest de

l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale. Le laurier pousse spontanément dans la garrigue et les bois en Europe et autour de la Méditerranée.

5- Culture et climatisation :

Laurus nobilis L., est un arbre abondant dans différents environnements. Il est cultivé dans de nombreuses régions tempérées, subtropicales et chaudes et à haute précipitations du monde. Cette plante se rencontre aussi fréquemment dans des conditions semi-arides. Elle répond au déficit hydrique et peut s'adapter à la sécheresse grâce à de nombreux changements physiologiques et biochimiques. La plante nécessite de grandes quantités d'eau pendant la première année de l'établissement des plantes. Elle préfère les sols perméables, riches en nutriments et en humus, situés dans des endroits protégés du vent et très ensoleillés. Le sol tourbeux riche et abondant avec l'eau et l'atmosphère humide près de la côte de la mer sont des conditions favorables à une croissance rapide et luxuriante.

6- Conservation :

Les feuilles fraîches se conservent quelques jours dans un sac plastique ou bien roulées dans un papier absorbant légèrement humide, au réfrigérateur. Les feuilles sèches peuvent être stockées dans des récipients hermétiques (en porcelaine, en verre ou en métal), à l'abri de l'humidité et de la lumière. Des feuilles séchées et conservées trop longtemps prennent une teinte rougeâtre à la lumière.

7- Composition chimique :

Les feuilles de *laurus nobilis* sont constituer des plusieurs composants chimiques :

7-1 Composition chimique des feuilles du *Laurus nobilis*.

Tableau n°1: Composition chimique des feuilles du *Laurus nobilis*

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *laurus nobilis*, et plusieurs ont prouvé la richesse des feuilles en substance actives. Ces dernières sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Composition chimique	Types
-Alcaloïdes isoquinoléiques	de type aporphine et nor-aporphine ,boldine , actinodaphnine, -cryptodrine, -isodomecine, -launobine, , -néolitsine et réticuline.
-Les composés phénoliques	des flavonoïdes non-polaires les flavones libres(apigénine et lutéoline),
Composition flavonoïdique	les flavonols (kaempférol, la quercétine et myricétine),
Kaempférol	kaemperol
La quercétine et myricétine	l'isoquercitrin, l'hypéroside, le quercétine-3-arabinoside Cathéchines,proanthocyanidines, procyanidine,- catéchine, Proanthocyanidines ect.....
Tanin	
-Huiles volatiles	1,8-cinéole et ses dérivés le 2,3-déhydro-1 ,8-cinéole, sobrerols et menthadien-8-ols et linalool, , géraniol, méthyleugénol, α -terpinéol, β -pinèneet terpinéol-4; ils sont accompagnés également de camphène, , primeverosides l'éther des acides acétiques isobutyrique et valérianique....etc.
-La vitamine E ou alpha	

7-2 L'huile essentielle du *Laurus nobilis* :

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

Le principal composant de l'huile de laurier est le 1,8-Cinéole, un éther de monoterpènes cycliques. Ce composé est populairement connu comme eucalyptol. Les cineoles, possédant des activités biologiques importantes (surtout pour le traitement des maladies des voies respiratoires). Ils sont volatils, symétriques monoterpéniques, et des éthers cycliques. Ils sont souvent trouvés en tant que composants d'huiles essentielles de plantes aromatiques. Le 1,8-cinéole a un parfum frais et camphré caractéristique et un goût âcre

7-3 Composition de l'huile essentielle du laurier

La composition de l'huile essentielle de laurier est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols des monoterpènes, des sesquiterpenes et des esters terpéniques.

-**Oxydes terpéniques** : 1,8-cinéole (48.38%)

-**Monoterpénols** : linalol (3.50%), terpinén-4-ol (2.84%), alpha-terpinéol (2.46%) .

-**Phénols** : méthyl-eugénol (2.22%), eugénol (0.08%).

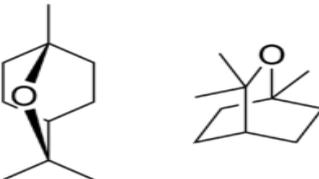
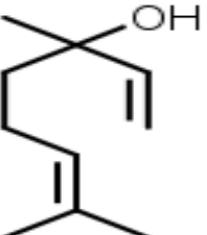
-**Monoterpènes** : (9.46%), bêta-pinène (4.99%), alpha-pinène (5.77%), limonène (4.10%), para-cymène (2.38%), gamma-terpinène (2.12%), myrcène (0.64%), camphène (0.32%), alpha-phellandrène (0.24%), alpha-terpinène (0.28%)

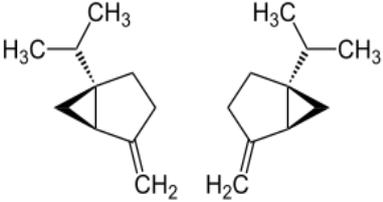
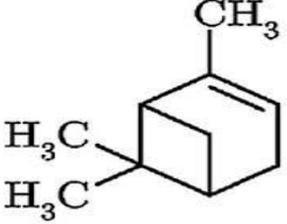
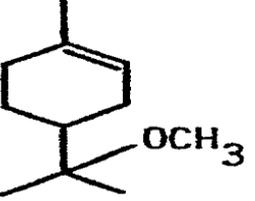
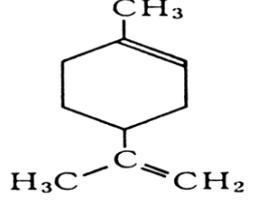
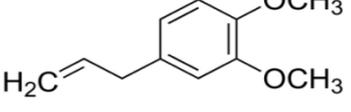
-**Esters terpéniques** : acétate d'alpha-terpényle (8.52%), acétate de bornyle (0.16%)

7-8 Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de *Laurus nobilis*

Les structures des principaux composants chimiques de *laurus nobilis* ainsi leur propriété sont présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau n°2 : Structure des principaux composants chimique d'huiles essentielle de *laurus nobilis*

Composant	Structure	Propriété
<i>Eucalyptol</i> (1,8-cinéole)		- antifongique, anti infectieux, anti catarrhale, bactéricide, antiviral, antiparasitaire, et stimulant digestif.
<i>Linalol</i>		- Antalgique, antiviral Anti inflammatoire - Sédatif, calmant , Anxiolytique ,Antioxydant , Antiseptique, antifongique,

<i>sabinène</i>		Stimulant général. Antiseptique atmosphérique
<i>Alpha pinène</i>		Antiseptique et décongestionnant, Propriétés hyper stimulantes sous forme de frictions ou d'aérosols en cas de malaise et d'état de fatigue intense,
<i>acétate d'alpha-terpényle</i>		antispasmodique, expectorant neurotonique et stimulant cérébral, anti-infectieux cutané léger anti out ride
<i>limonène</i>		Antiseptique, antiviral, anxiolytique, dépresseur central, anti-angiogénique, antitumoral
<i>Les phénols méthyl-éther</i>		Antispasmodiques Antalgiques puissants, Anti-inflammatoires Antiparasitaires

8- L'utilisation du *Laurus nobilis*

Laurus nobilis est une plante d'importance industrielle utilisée comme matières premières dans de nombreux domaines, y compris les parfums, cosmétiques, aromathérapie, phytothérapie et de la nutrition.

8-1 Utilisation comme additif dans l'industrie alimentaire :

Les feuilles et les graines du *laurus nobilis* sont utilisées comme des épices précieuses et aromatisants dans les industries alimentaires. Elles servent d'aromates dans les cuisines. Elles forment un ingrédient essentiel du mélange d'herbes "Bouquet Garni".

8-2 Utilisation dans la médecine naturelle

Le laurier a des propriétés stomachiques, il stimule l'appétit et est également utilisé en usage interne contre les coliques et les ballonnements.

Mais cette plante peut également apporter un soulagement rapide en usage externe contre les pellicules, les rhumatismes et les entorses.

Une branche de laurier aromatique accrochée dans une pièce rafraîchit et purifie l'air.

Les feuilles de laurier fraîches ou séchées sont une protection efficace contre les insectes.

Des feuilles de lauriers étaient emballées avec les figues séchées ou même la réglisse pour les protéger contre le redouté charançon.

On peut lire dans les ouvrages anciens sur les plantes médicinales que le laurier noble était également utilisé autrefois comme antiseptique efficace.

8-3 Utilisation en parfumerie et cosmétique :

En outre, l'huile essentielle des feuilles est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons et de la fabrication des bougies à cause de leur teneur élevée en acide gras. Le laurier également utilisé par l'industrie cosmétique dans les crèmes.

8-4 Autres utilisations du *laurus nobilis* :

Par ailleurs, l'infusion aqueuse obtenue à partir des feuilles de *laurier noble* a été utilisée pendant de nombreuses années chez les femmes européennes pour soulager les douleurs du placenta. En outre, le laurier favorise l'apparition des règles et agit contre les règles douloureuses.

I- Matériels

I-1 Matériel Végétal

Le but de notre travail est de comparer l'effet antimicrobien de deux huiles essentielles extraites des feuilles des feuilles le *Laurus nobilis* de deux régions différentes (Tunisie et Algérie) en comparant également leurs composition chimique .

Pour Cela, nous avons procédé aux étapes Suivantes :

I-1-1 La cueillette

La cueillette des feuilles de la plante s'est déroulée pendant le mois décembre jusqu'à mars de l'année 2015,

- A partir des montagnes de *Maouna* de la Wilaya de Guelma. (Algérie)
- A partir des montagnes de Kroumirie la ville de Ain Draham (Tunisie)

Elles ont été prélevées le matin entre 8 heures et 10 heures sur des plantes en pleine floraison.

***Guelma :** se situe au cœur d'une grande région agricole à 290 m d'altitude, entourée de montagnes (Maouna, Dbegh, Houara) , ce qui lui donne le nom de ville assiette, cette région bénéficie d'une grande fertilité grâce notamment au lac Seybouse et d'un grand barrage qui assure un vaste périmètre d'irrigation. Le climat est de type méditerranéen et se caractérise par deux saison :

-Un hiver doux et pluvieux.

-Un été chaud et sec.

*** Ain Draham :** est une ville du Nord-Ouest de la Tunisie (gouvernorat de Jendouba) située à une vingtaine de kilomètres au sud de Tabarka. Cette région est considéré comme la plus humide de tout le pays, elle détient le record national de pluviométrie. Durant l'année, la température moyenne annuelle d'Ain Draham est de 15°C avec une moyenne de 23,9°C pour le mois de juillet et de 6,6°C pour le mois de janvier

I-1-2 Séchage

Après la récolte, les feuilles on été rincées avec l'eau afin de leur enlever toutes traces

d'impuretés telles que : terre, poussière, souillure, infections fongiques, contaminations animales, résidus d'insecticides...etc. Le séchage s'est fait à l'ombre et en plein air. La dessiccation de la drogue végétale inhibe la prolifération des bactéries, des moisissures, oxydases, polymérases... De ce fait l'activité thérapeutique de la plante a été préservée au maximum.

I-1-3 Conservation

Après séchage, une quantité des feuilles a été émietée et le reste a été réduit en poudre et conservé dans des récipients hermétiques à l'abri de l'air, la lumière, des insectes et de toutes contaminations.

I-2 Matériel microbiologique

A. Les bactéries utilisées

Cocci Gram⁺ : *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Staphylococcus epidermidis*

Bacille Gram⁻ : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

B. Les milieux de culture

Chaque souche a été cultivée sur son milieu approprié

Pour les bacilles Gram⁻ : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 , les milieux de culture utilisés sont respectivement : le milieu Mac conkey et King A

Pour les cocci Gram⁺ : *Staphylococcus aureus* ATCC25923 le milieu de culture utilisé est Chapman .

Nous avons également utilisé le milieu MH (Mueller Hinton) dans le but de tester l'effet antibactérien de notre huile essentielle utilisée et la comparer aux effets des antibiotiques .

C. Le matériel animal

Espèce : Lapin

Race : néozélandaise

Elevage: animalerie le l'Institut pasteur Alger

Poids: 2.5 g au moins

Couleur: Blanche

II- Méthodes

II-1- L'étude phytochimique

II -1-1- Alcaloïdes

A 10 g de la drogue végétale pulvérisée, on ajoute 100 ml de HCL à 1%. On laisse le mélange en macération pendant 30 min. Le mélange est filtré. On ajoute 10 ml de réactif de Mayer (5g de KI+1,358 g de HgCl₂ solubilisés dans 100 ml d'eau distillée). L'apparition d'une solution trouble indique la présence des alcaloïdes (Duhou es al., 2003).

II-1-2- Tanin

➤ Extraction

Dans un Erlenmeyer, on disperse 5g de poudre dans 100ml d'eau bouillante. Après infusion pendant 15 mn, on filtre et on complète le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

➤ Mise en évidence des tanins

• Caractérisation par le chlorure ferrique

A 5ml de filtrat, on ajoute quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl₃) à 2%, puis on agite le mélange. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur brun vert (Karumi et al., 2004)

➤ Différenciation des tanins

• Tanins catéchiques

A 5 ml de solution, on ajoute 5 ml d'HCl concentré. L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 mn puis on filtre sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge (Karumi et al., 2004).

• Tanins Galliques (Réaction de Stiasny)

A 30 ml de solution, on ajoute 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 % et 5 ml d' HCl concentré), puis on chauffe le mélange au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat sera saturé par 5g d'acétate de sodium. On ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution de FeCl₃ à 1 %. L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (Karumi et al., 2004).

II-1-3- Flavonoïdes

➤ Extraction

On met 3g de la poudre végétale séchée avec 75ml d'eau distillée dans une fiole. Le mélange est porté à ébullition pendant 15 minutes, puis on filtre sur papier filtre et on laisse refroidir (Edeoga1 et al., 2005) .

➤ **Réaction générale de caractérisation des flavonoïdes**

• **Coloration en milieu alcalin**

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun.

A 2ml d'extrait, on ajoute quelques millilitres de soude au 1/10e dans un tube à essai.

Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangé (Okmu, 2005).

➤ **Coloration par perchlorure de fer ($FeCl_3$)**

Les flavonoïdes, du fait de la présence de fonction phénolique dans leur génines, donnent des colorations variées avec des solutions diluées de $FeCl_3$.

A 2ml de la solution extractive on ajoute 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de $FeCl_3$ à 2%, le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre (Okmu, 2005) .

II-1- 4- Saponosides

On porte à ébullition 100ml d'eau distillée dans un Erlenmeyer de 250ml puis on ajoute 1g de la poudre de plantes ensuite on maintient le mélange à ébullition pendant 15 mn. Après filtration, on ajuste le filtrat à 100 ml.

On remplit 1ml du décocté à 1% préparé, dans un tube à essai et on ajuste le volume à 10 ml avec de l'eau distillée. Ensuite, on agite les tubes à essai verticalement, et on laisse reposer pendant 15 minutes. L'apparition d'une mousse qui dure quelque instant indique la présence des saponosides (Karumi et al., 2004).

II-1-5- Mucilages

On introduit 1ml du décocté de la poudre de plante à 10% dans un tube à essai et on ajoute 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages (Karumi et al., 2004).

II-1-6- coumarines :

Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique on le fait bouillir pendant 15 mn puis filtrer après refroidissement. A 5 ml du filtrat

rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10 % , l'apparition d'une couleur marron indique leurs présence (**Rizk, 1982**) .

II-1-7 irridioïdes:

Faire une décoction 1g dans 5ml d'eau distillée. Faire une filtration et ajouter 1ml d'acide chlorhydrique, rapprocher le tube au feu doux d'une flamme bleue. Laisser au repos et observer ensuite le précipité noir qui caractérise la présence des irridioïde (**Duhou et al., 2003**).

II-1-8- Les terpènes :

Dans 210 ml d'éther de pétrole, on dissout 5g de poudre sèche. On filtre, puis on évapore l'éther de pétrole à sec dans le rotavapor. Le résidu obtenu est dissout dans 0,5 ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5 ml de CHCl_3 . La solution obtenue est transférée dans un tube à essai. On ajoute par la suite, 1ml de H_2SO_4 concentré. Un cercle violet ou marron est alors formé dans la zone de contact entre les deux liquides. Ce dernier devient par suite gris , ce qui indique la présence de stérols et terpènes (**Duhou et al., 2003**) .

II- 2 -L'étude chimique

II-2-1 L'extraction des huiles essentielles du *Laurus nobilis*

L'extraction a été effectuée au niveau du laboratoire des plantes médicinales Département de biologie – Sidi Amar - Université Badji Mokhtar -Annaba.

L'extraction des huiles essentielles à été effectuée par hydrodistillation. Il s'agit de la plus simple méthode et de ce fait, la plus anciennement utilisée.

La matière végétale (100g) des feuilles séchées de *Laurus nobilis* (Algérien et Tunisien) sont immergées directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur (Chauffe-ballon), le tout est en suite porté à ébullition pendant 3h. Les vapeurs sont

condensées dans un réfrigérant, puis récupérées dans une ampoule à décanter et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.

Après extraction, on récupère les deux huiles essentielles de deux types de laurier dans deux flacons opaques en verre teinté et bien fermés qu'on conserve à l'abri de la lumière et de la chaleur, on procède au calcul du rendement en huiles essentielles obtenues à partir de 100g de drogue, ou' chaque 5.6 cm de la colonne correspond à 1ml d'huile essentielle.

Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile essentielle récupérée sur la quantité de la plante qui a été traitée par hydrodistillation, il est exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{P_b}{P_a} \times 100$$

R : Rendement de l'huile essentielle.

P_b : Quantité de l'huile essentielle récupérée en gramme.

P_a : Quantité de la plante utilisée en gramme (AFNOR, 1986).

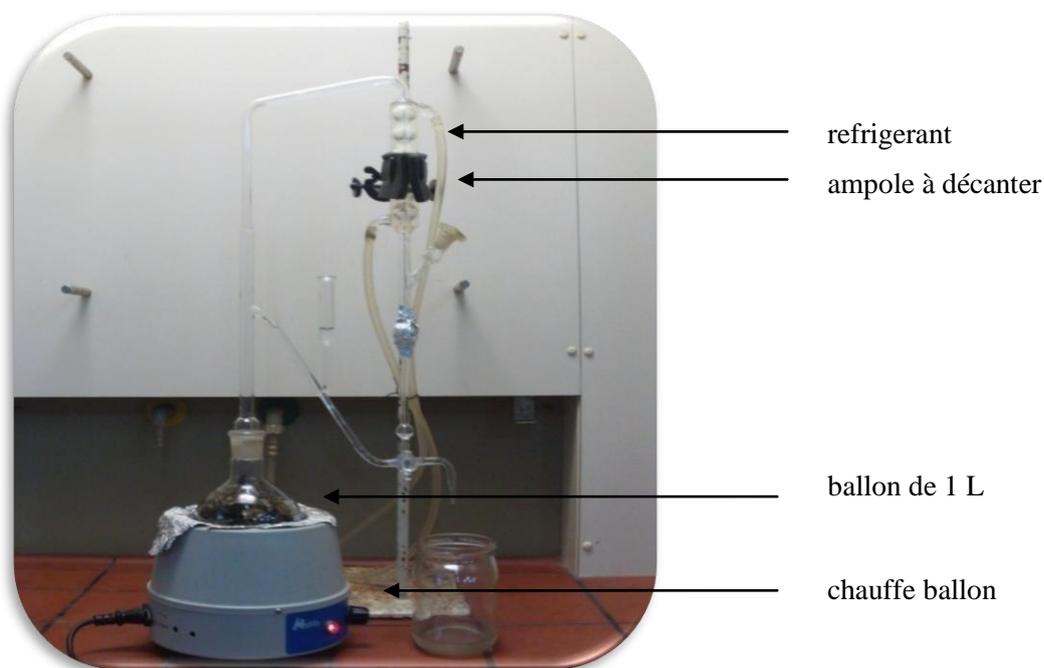


Fig n° : L'appareil d'hydrodistillation

(Madhavi, L et al .,1996)

II-2-2 L'évaluation de l'activité antibactérienne

Dans le but d'évaluer l'effet de l'HE sur les trois souches utilisées (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 , *E.coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), plusieurs antibiotiques ont également été testés sur ces dernières, afin de comparer leur effet à celui de l'huile.

➤ L'antibiogramme des souches testées

-Repiquer les 3 souches bactériennes utilisées (*E.coli*, *P. aeruginosa* et *S.aureus*) sur les milieux appropriés à leur croissance :

-Incuber 24 heures à 37 °C.

-Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile, quelques colonies bien isolées à partir des colonies bactériennes nouvellement formées

-Décharger ces colonies à la pipette pasteur, dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % et homogénéiser la suspension bactérienne de façon à obtenir visuellement une opacité équivalente à 0.5 Mac Ferland. L'inoculum doit être ensemencé dans les 15 min qui suit sa préparation.

-Couler la gélose Mueller Hinton(MH) dans des boites de pétri et laisser la gélose solidifier.

-Ensemencer sur cette gélose, à partir des différents inoculums préparés et par la méthode d'écouvillonnage, les différentes souches à tester.

-Déposer dans les boites de pétri, les disques d'antibiotiques suivants :

* Pour *E. coli* : Gentamycine, Tétracycline, Pénicilline, Vancomycine. Chloramphénécol, Érythromycine, Amoxicylinol, et Céfotaxine.

* Pour *S.aureus* : Gentamycine, Tétracycline, Pénicilline, Vancomycine. Chloramphénécol, Érythromycine, Amoxicylinol, et Céfotaxine.

* Pour *P. aeruginosa* : Gentamycine, Tétracycline, Pénicilline, Vancomycine. Chloramphénécol, et Levofloxacin.

-Incuber les boites à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- Pour chaque souche, et pour chaque antibiotique :

-Mesurer avec précision, en millimètre le diamètre de la zone d'inhibition.

-Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique (voir tableau n°2)

Tableau n° 2 : Valeurs critiques des zones d'inhibition dues aux antibiotiques

(CASFM., 2009)

ATB testés	Sigle du disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			Sensibles	Résistantes
Pénicilline	P	6µg	≥ 29	< 18
Tétracycline	TE	30µg	≥ 19	< 17
Vancomycine	VAN	30µg	≥ 17	-
Gentamicine	GM (CN sur disque)	10µg	≥ 18	< 16
Chloramphénol	C	15µg	≥ 21	< 17
Érythromycine	E	15 µg	≥ 22	< 17
Céfotaxine	CTX	75µg	≥ 22	< 18
Amoxicycline	AMC	20µg	≥ 30	< 12
Levofloxacin	LEV	20µg	≥ 30	< 12

❖ L'aromatogramme en milieu solide

A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide. Dans notre étude la méthode utilisée est celle de J.VINCENT

➤ Principe

C'est une technique similaire à l'antibiogramme utilisant la diffusion des disques en gélose conçue par CHABBET en 1973. Elle consiste à déposer des disques stériles de papier buvard imprégnés de l'huile essentielle choisie (*Laurus nobilis* L. dans notre étude), à la surface des boîtes de gélose (milieu solide de MULLER-HINTON)ensemencé par écouvillonnage de la bactérie étudiée. La drogue est considérée inactive lorsque le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque est inférieure à 8mm, alors qu'elle est excellente si le diamètre est supérieur à 9mm (Bauer et al., 1966).

➤ Préparation des souches bactériennes :

Pour préparer des suspensions bactériennes (selon les normes du CLSI précisez, les souches bactériennes sont réactivées par repiquage à partir du milieu de conservation sur milieu de culture solide (Gélose Nutritive), préalablement fondu, coulé dans des boîtes de Petri sur 4 mm d'épaisseur (les boîtes doivent être refroidies et séchées avant d'être ensemencées).

Après 24 h d'incubation à l'étuve (37°C), les boîtes sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes

- **Préparation des suspensions bactériennes :**

La méthode de préparation de l'inoculum est celle préconisée par la CLSI qui consiste à préparer, à partir d'une culture de 18 à 24h de la bactérie étudiée sur le milieu gélosé, une suspension en solution saline (0.9%NaCl) équivalente au standard MAC FARLAND 0.5 (10⁶CFU/ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (DO) allant de 0.08 à 0.1 lue à 625nm.

- **Ensemencement**

- ✓ Couler les milieux de culture, Gélose de Muller-Hinton pour toutes les souches bactériennes à une épaisseur de 4mm à proximité du bec Benzène et laisser le milieu se solidifier.
- ✓ Les boîtes séchées sont ensemencées à partir des suspensions bactériennes à l'aide des écouvillons stériles.
- ✓ L'écouvillon est imbibé de la suspension bactérienne, essoré contre la paroi interne du tube à essai.
- ✓ L'ensemencement se fait par des stries serrées, de haut en bas.
- ✓ L'opération est répétée deux à trois fois, en tournant la boîte à chaque fois de 60°.
- ✓ L'écouvillon doit être passé sur la périphérie de la gélose.

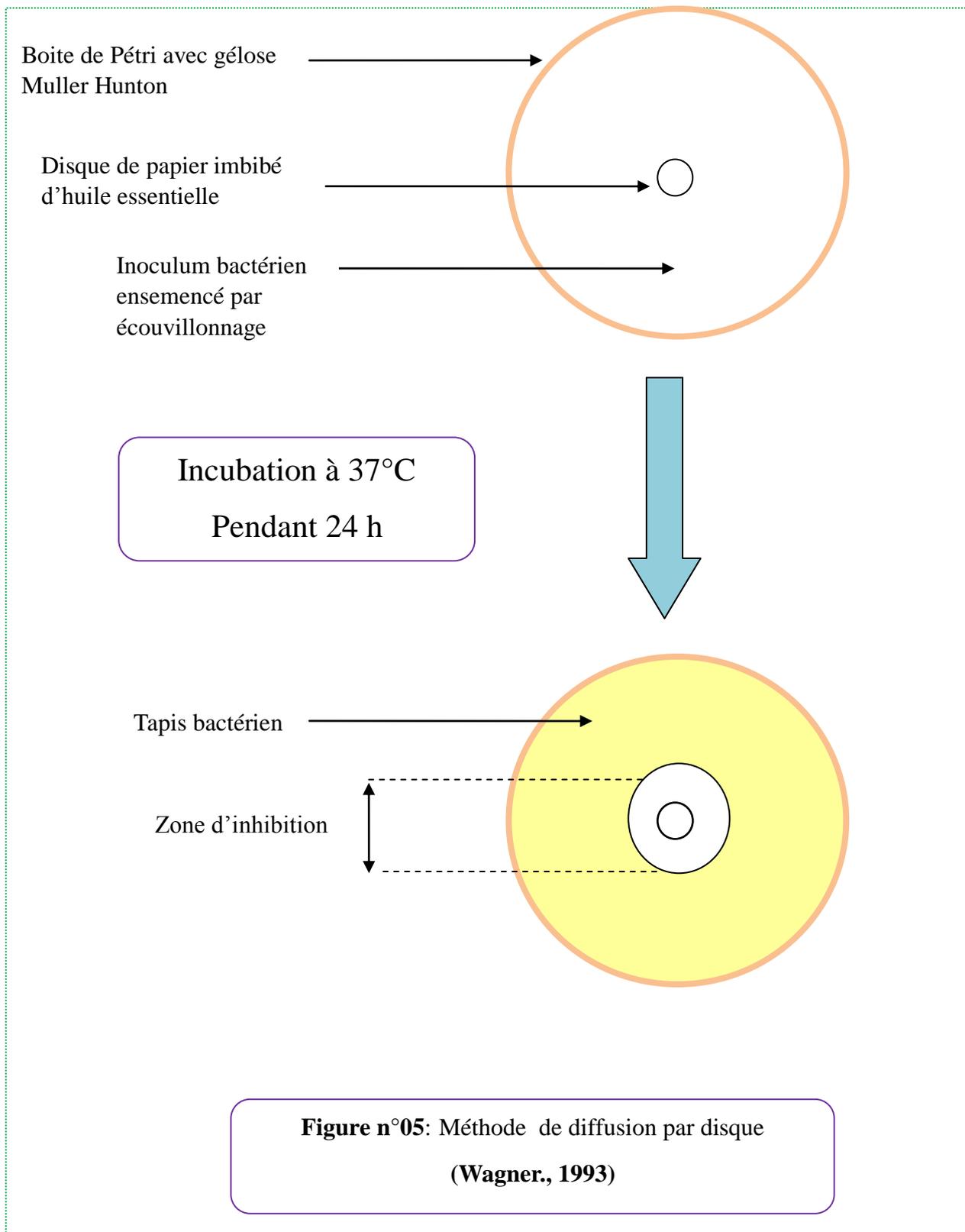
- **Préparation des dilutions de l'huile essentielle du Laurier**

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des HE a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations.

- **Choix du solvant de dilution**

- ✓ Le DMSO (DiméthyleSulfoxyde), est un solvant organique aprotique, qui a été choisi pour son :
 - ✓ Innocuité vis-à-vis des bactéries (dépourvu d'activité antibactérienne). En présence de la drogue, il ne donne pas d'interférence (puisque l'activité recherchée est celle de l'huile essentielle).
 - ✓ Pouvoir solubilisant des huiles essentielles.
- **Préparation des dilutions de l'huile essentielle de Laurier :**

Une gamme de cinq dilutions a été préparée de l'huile essentielle pure, allant de 1/2, 1/4, 1/8, jusqu'à 1/32, par ajout de 0.5 ml de DMSO dans les cinq tubes. 1ml de l'huile pure est mis dans un tube à esai, on prend par la suite 0.5ml de l'HE du tube et on le verse dans le deuxième tube contenant les 0,5ml de DMSO et à chaque fois, on prend 0.5ml du tube précédent et on les rajoute au tube suivant jusqu'au dernier tube ou on jette les derniers 0.5 ml, donc chaque tube contient au final 0.5ml.
- **Distribution des disques :**
 - ✓ Les disques stériles de papier buvard de 6 millimètres de diamètre, sont saisis à la pince stérile et imprégnés d'une faible quantité des huiles essentielles (HE d'Algérie et de Tunisie) préalablement préparées à des différentes concentrations.
 - ✓ Les disques sont appliqués à la surface des milieux de cultures MH précédemmentensemencés.
 - ✓ Trois disques sont disposés par boîte de 6 centimètres, avec un espace de 24 millimètre entre les disques.
 - ✓ Incubation à l'étuve (37 C°) pendant 18 à 24 heures. (voir figure n°5)



- **Lecture**

Après 24 heures d'incubation, les boîtes sont retirées et la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en millimètre, de la zone d'inhibition éventuelle autour des disques, à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur des boîtes fermées. (voir figure n°)

- ❖ **Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

Cette technique consiste à inoculer, 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), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

- **Technique de macrodilution en milieu liquide**

400 μL de l'huile essentielle à tester sont placés dans un tube stérile contenant 4,6 mL de milieu MHB, supplémenté en Tween 80 (0,01 %, v/v). Une dilution en cascade est effectuée dans du milieu MHB-Tween 80 (0,01 %, v/v), de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 80 mg.mL^{-1} et 0,3 mg.mL^{-1} (fig. 2a).

13 μL d'un inoculum bactérien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland

(108 UFC.mL^{-1}), sont déposés dans chacun des tubes de la gamme, lesquels sont ensuite placés à 37°C, sous agitation, pendant 24 heures (fig. b). Un témoin de la croissance bactérienne, pour lequel 13 μL de l'inoculum standardisé ont été déposés dans du milieu MHB-Tween 80 (0,01 %, v/v), est également réalisé.

Après incubation, les tubes sont centrifugés à 5 000g, pendant 5 minutes, à 20°C. La CMI (% , v/v) de l'huile essentielle testée est déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance bactérienne (fig. c). Chaque expérience est répétée trois fois au cours de trois expériences successives.

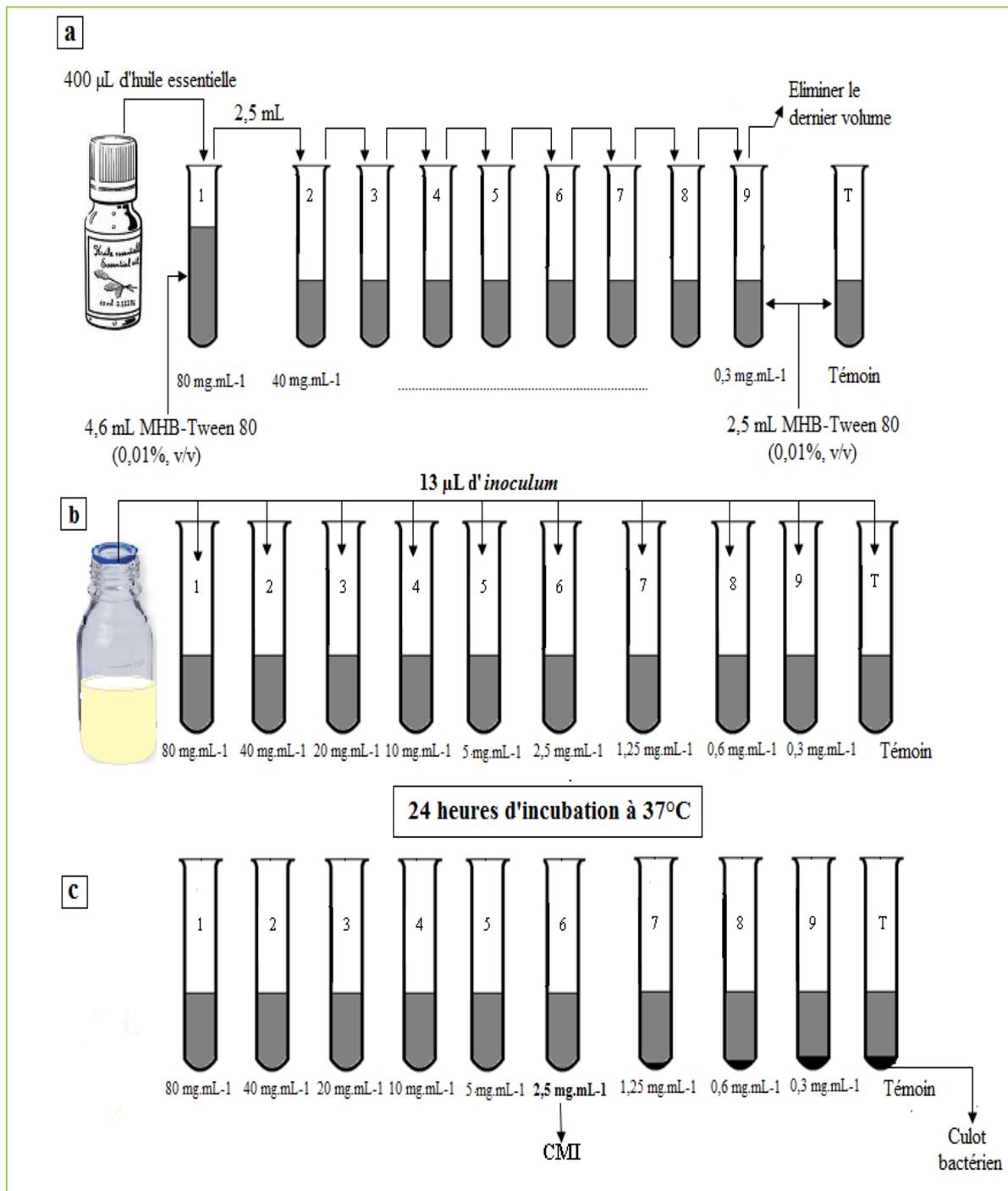


Figure n° : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide (Skandamis et Nycha ., 2001).

❖ Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'une huile essentielle.

La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macrodilution en milieu liquide, est utilisée pour déterminer la CMI et la CMB de l'huile essentielle à tester (fig. 30).

Des prélèvements sont effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de culot bactérien puis déposés « en strie » sur gélose MHA. Les boîtes ensemencées sont incubées 24 heures à 37°C.

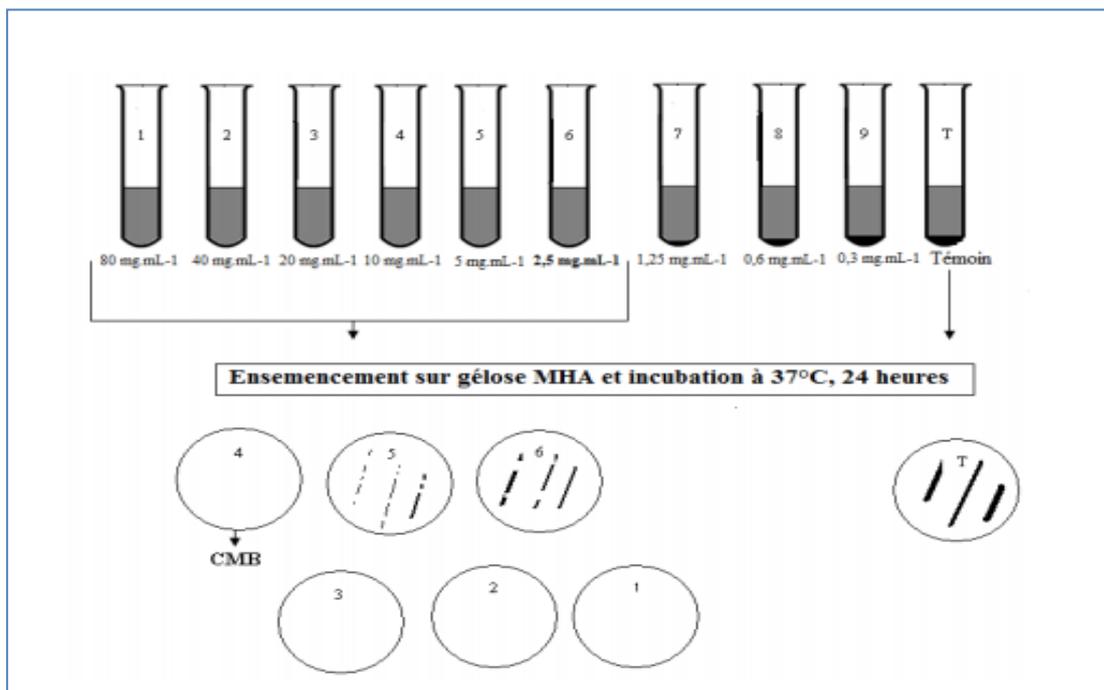


Fig n° :Détermination de la CMB en milieu solide (Skandamis et Nycha ., 2001).

III - L'étude anatomique

Afin de déterminer la cause éventuelle de la différence d'activité et du rendement entre les deux types de Laurier, on a réalisé une étude histologique et anatomique des feuilles. Cette étude a été faite selon les étapes suivantes :

➤ **Réalisation des coupes de l'organe à étudier**

-A l'aide d'une lame, couper l'organe de façon à obtenir des coupes fines et bien faites.

-Veiller à ce que les coupes soient parallèles au plan de coupe.

-Les coupes doivent être immédiatement recueillies dans l'eau pour éviter leur dessèchement

➤ **Coloration des parois**

-Bain dans l'eau de javel : 30 minutes.

-Bain dans l'acide acétique 20% :15 minutes.

-Coloration au vert de méthyle : 5 à10 minutes.

-Coloration au rouge de Congo : 8 à 10 minutes.

Il est important de rincer abondamment les coupes entre chaque étape de coloration.

❖ **Rôle des solutions utilisées :**

-L'eau de Javel vide les cellules de leur contenu cytoplasmique, il ne reste que les parois squelettiques.

-L'acide acétique neutralise l'excès d'eau de Javel.

-Le vert de méthyle colore les parois en vert, bleu ou violet selon le degré de modification de la paroi .

-Le rouge de Congo colore les parois celluloseux en rose.

-Au dernier lavage, et mettre les coupes entre lame et lamelle au microscope optique au grossissement X 10 et X40.

IV- La conception d'une pommade antiseptique

Dans le but de valoriser l'activité des HE et de la tester *in vivo* ; on a pensé à préparer deux pommades antiseptiques à base d'huile essentielle de *Laurus nobilis* Algérien et Tunisien.

IV-1 Mode de préparation

La pommade est préparée selon les étapes suivantes:

- ✓ Dans un cristallisatoire, faire liquéfier une quantité de vaseline sur la plaque chauffante. Incorporer successivement le menthol jusqu'à solubilisation, puis le streptocide, le tetraborate de Na, l'acide salicylique et enfin le camphre et on laisse refroidir.
- ✓ Mettre dans un mortier lanoline puis le salicylate de méthyle, mélanger jusqu'à homogénéisation. n ajoute le mélange vaseline additionné aux autre constituants.
- ✓ Mélanger le tout puis ajouter de l'anesthésine. une fois que le mélange commence à refroidir, on ajoute l'huile essentielle de laurier en dernier.
- ✓ Mettre chaque pommade à base d'huile essentielle Algérienne et Tunisienne dans un récipient hermétique et conserver ces dernières dans un endroit frais.

Afin d'éviter l'irritation de la peau, la mesure du pH de la pommade est obligatoire. Le pH ne doit être ni acide ni alcalin.

La pommade se caractérise par:

L'aspect : assez épaisse sans présence de grumeaux à l'étalement.

La couleur : jaunâtre.

L'odeur : arôme de laurier noble et une odeur camphrée.

L'homogénéité : dans le cas de la pommade antiseptique nous ne voyons aucune présence de grumeaux, donc elle est parfaitement homogène.

IV-2 Essai de la pommade

• Préparation des animaux :

En premier lieu, la veille du jour de l'application du produit, le dos de 4 lapins (2 témoins ,1 lapin sur lequel on a testé la pommade constituée d'huile essentielle du Laurier Algérien et1 lapin sur lequel on a testé la pommade constituée d'huile essentielle du Laurier Tunisien) ont été tondu à l'aide d'une tondeuse électrique.

- ✓ Le jour de l'essai (Vingt-quatre heures après la préparation des lapins), on effectue sur le dos de chaque animal à l'aide d'une lame de scalpel stérile, une scarification de l'épiderme de 3cm de long .Cette dernière doit abraser le dos sans provoquer de saignement. Par la suite , une colonie de bactéries de *Staphylococcus epidermis* a été mise sur chaque scarification réalisée pour provoquer des infections cutanées.

- **Application de la pommade**

- ✓ Une quantité de produit (pommade) équivalente à 0,5 g a été appliquée sur chaque dos des animaux sous pansement semi-occlusif. La gaze ainsi imbibée est recouverte par le para film et le para film est recouvert d'une bande adhésive. Les lapins sont remis dans leurs cages. Chaque produit formulé(pommade Algérienne et Tunisienne) a été laissé en contact avec la peau durant 24 heures.

- **Observation :**

Vingt quatre heures plus tard, les pansements sont ôtés, et les résultats sont lus au bout d'une demi heure par au moins deux personnes distinctes. Une seconde lecture est faite 72 heures après l'application du produit.

Les différents contrôles effectués sur les excipients et l'huile essentielle montre qu'ils sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne ce qui permet leur utilisation dans une formulation pharmaceutique.

Nous avons opté l'utilisation de la vaseline en grande proportion comme excipient de cette pommade qui à comme rôle la fixation des principes actifs, on a aussi utilisé la lanoline qui à une importance, car elle aide l'absorption des principes actifs en les véhiculant jusqu'au sang (circulation sanguine)

III- Résultats et discussion

III- 1- Résultats

III- 1-1 L'étude phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur le matériel végétal broyé de *Laurus nobilis* de deux régions différentes (Algériennes et tunisiennes), en utilisant des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation, apparition de la mousse, ou un changement de couleur spécifique.

Les résultats montrent la présence des flavonoïdes, tanins, mucilages, coumarine et saponosides et les alcaloïdes dans la plantes des deux régions.

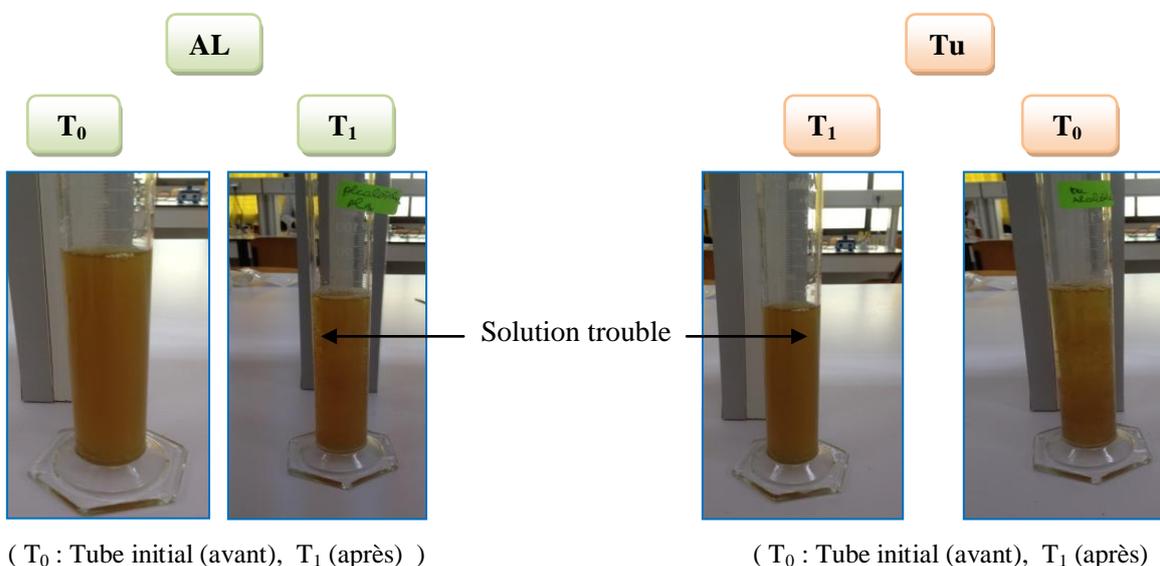


Figure 05 : Test de présence des alcaloïdes

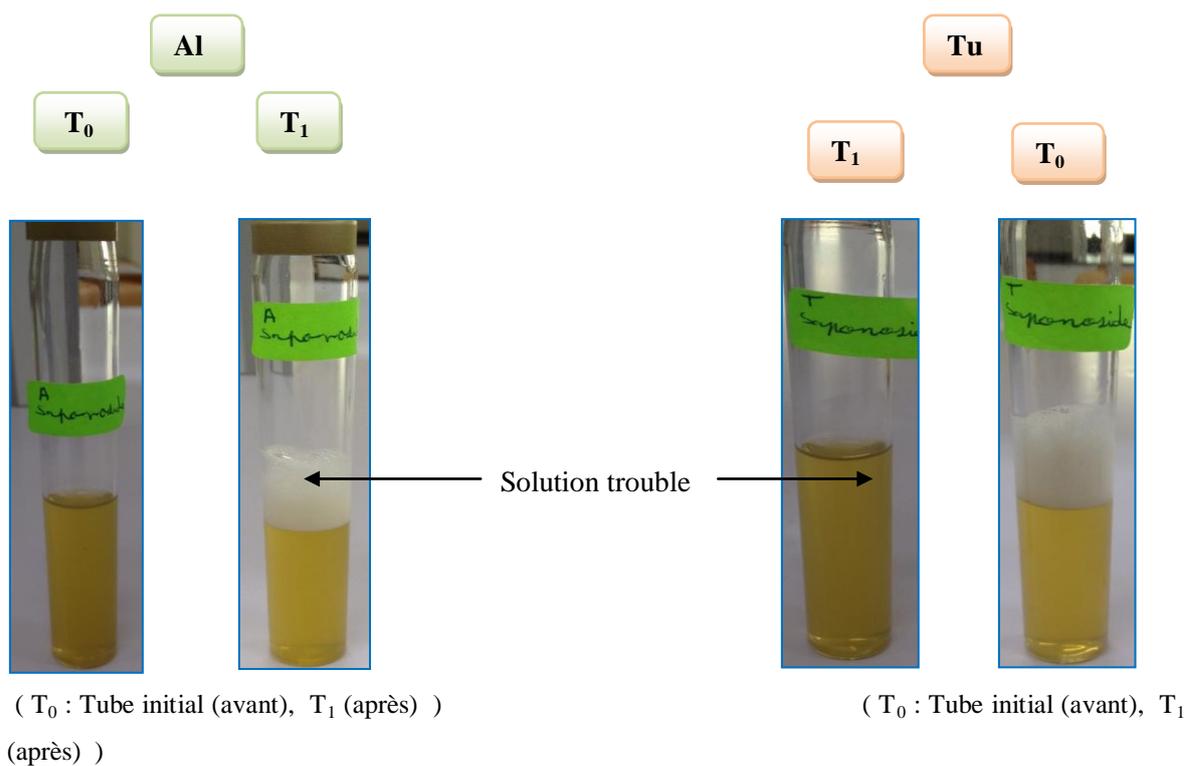


Figure 06 : Test de présence des saponosides.

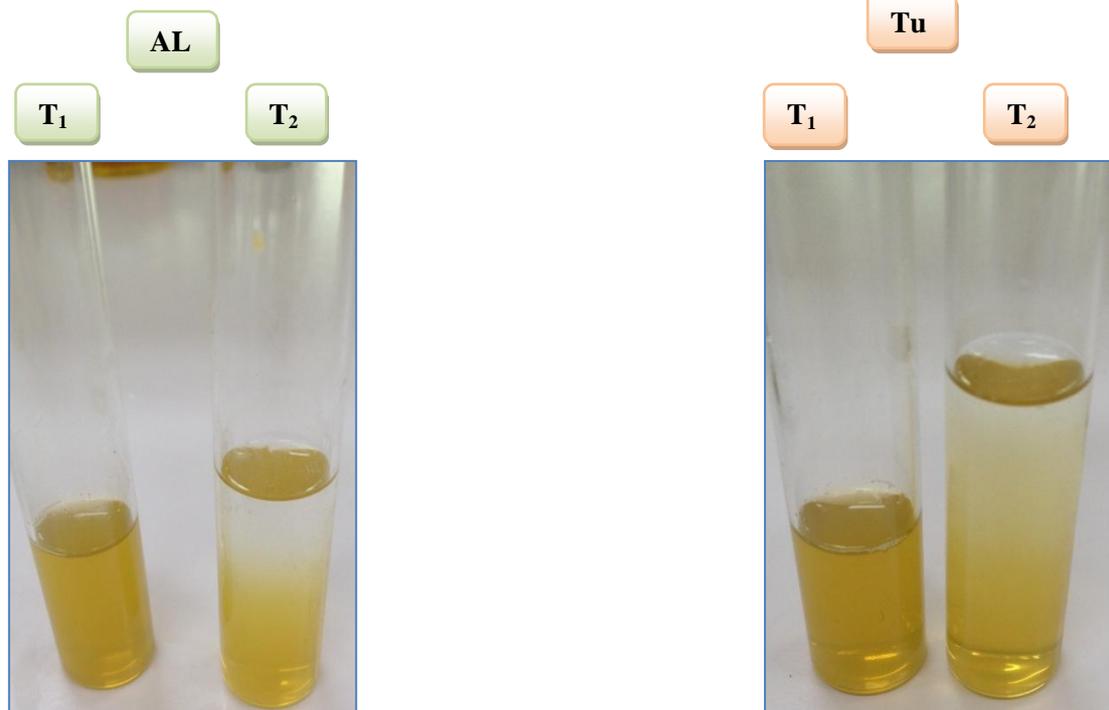


Figure 07 : Test de présence des tanins.



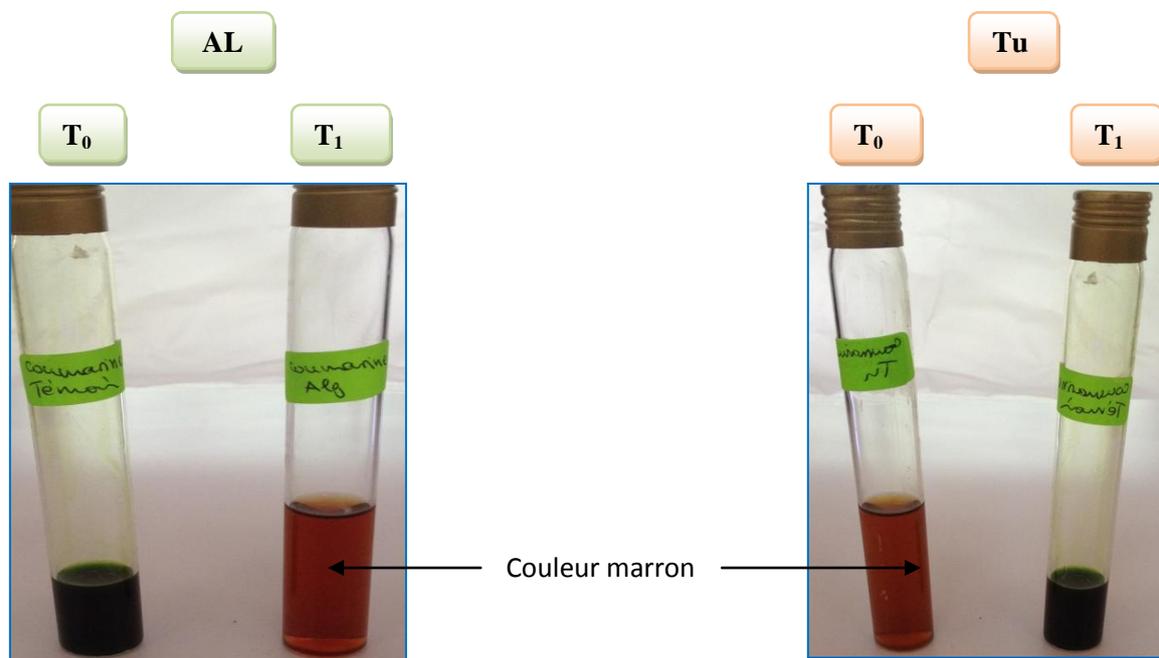
(T₀ : Tube initial, T₁ : Coloration en milieu alcalin, T₂ : Coloration par perchlorure de fer (FeCl₃)).

Figure 08 : Test de présence des flavonoïdes



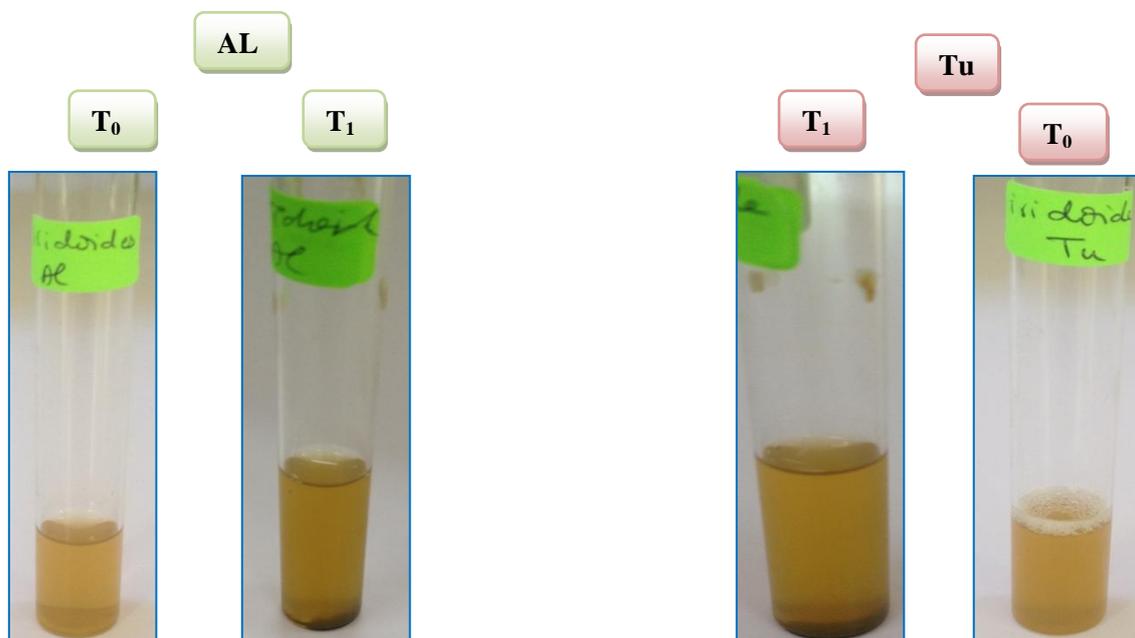
(T₀ : Tube initial, T₁ : Tube final)

Figure 09 : Test de présence des mucilages.

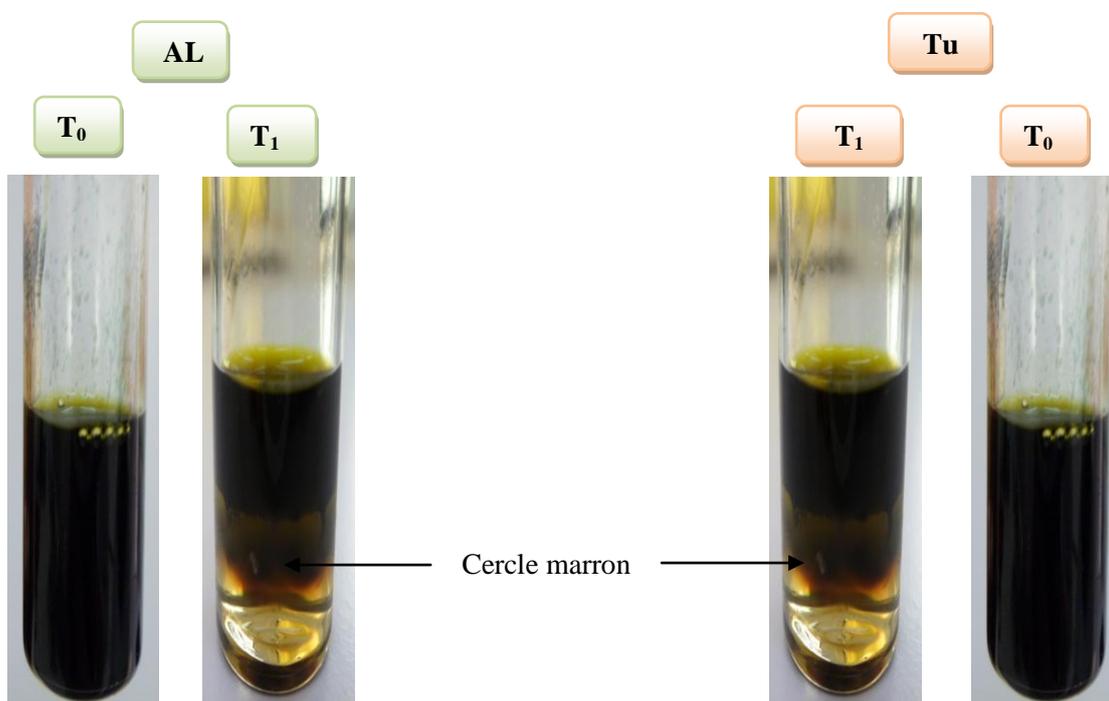


(T₀ : Tube initial, T₁ :Tube final)

Figure 10 : Test de présence des coumarines.



(T₀ : Tube initial, T₁ : final)

Figure 11 : Test de présence des iridoïdes

(T₀ : Tube initial, T₁ : final)

Figure 12 : Test de présence des terpènes

III- 1- 2-L'extraction de l'huile essentielle

On a extrait l'huile essentielle de deux types le laurier (Algérien et Tunisien), à partir des feuilles, en plusieurs périodes. Le temps d'extraction était d'une heure et demie pour chaque type de plante.

L'huile essentielle extraite de *Laurus nobilis* a un aspect liquide mobile limpide, de couleur jaune très pâle, d'odeur aromatique épicée, avec un fond d'eucalyptus.

Selon les résultats affichés sur le (Tableau n° 04) , on remarque que le rendement en HE est bien meilleur de laurier type Tunisie, que celui de type Algérie.

Tableau n°4 : Rendement et caractéristiques de l'huile essentielle des feuilles du laurier Algérien selon les périodes de récolte.

Extractions	1	2	3	4
Date de récolte	12/12/2014	05/01/2015	01/02/2015	03/03/2015
Poids (g)	88	85	88	95
Durée	1h45	1h50	1h45	1h45
Couleur	Jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle
Odeur	Aromatique	Aromatique	Aromatique	Aromatique
Rendement moye	0,9ml	0,8 ml	0,9ml	1,2ml

Tableau n °5: Rendement et caractéristiques de l'huile essentielle des feuilles du laurier Tunisien selon les périodes de récolte.

Extractions	1	2	3	4
Date de récolte	04/12/2014	13/01/2015	07/02/2015	18/03/2015
Poids (g)	90	95	90	98
Durée	1h45	1h50	1h45	1h45
Couleur	Jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle	Jaune pâle
Odeur	Aromatique	Aromatique	Aromatique	Aromatique
Rendement	1,3ml	1,2ml	1,4ml	1,6ml

moyen

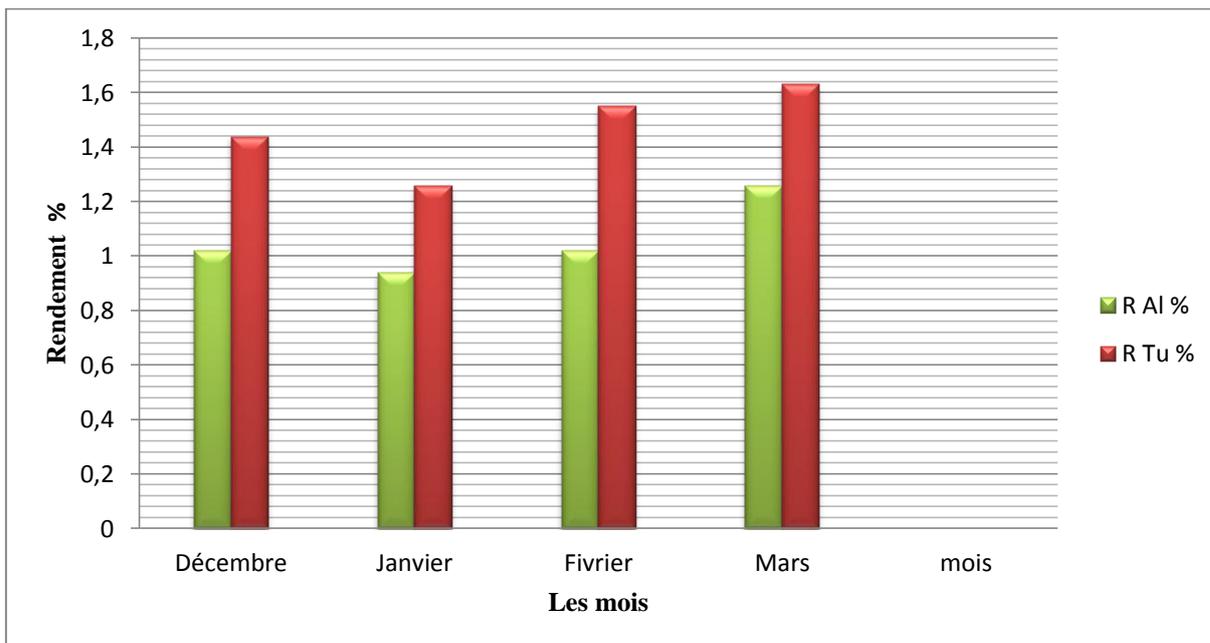


Figure 18 : Rendement de l'huile essentielle des feuilles du laurier Algérien et Tunisien selon les périodes de récolte.

III-1-3- L'évaluation de l'activité antibactérienne

➤ L'antibiogramme des souches testées

Les différentes souches bactériennes ont été testées aux antibiotiques et les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau n° 06 : Résultat de l'antibiogramme des souches testées.

	Les espèces bactériennes								
	<i>E. coli</i>			<i>S.aureus</i>			<i>P. aeruginosa</i>		
ATB	D (mm)	Ini (%)	Sig	D (mm)	Ini (%)	Sig	D (mm)	Ini (%)	Sig
CN	20	22,22	S	23	25,55	S	19	21,11	S
TE	26	28,88	S	38	42,22	S	16	17,77	I
P	0	-	R	0	-	R	0	-	R
VAN	11	12,22	I	19	21,11	S	9	10	I
C	33	36,66	S	26	28,88	S	13	14,44	I
E	0	-	R	0	-	R			
AMC	18	20	I	06	06,66	R			
CTX				0	-	R			
LEV							24	26,66	S

D : diamètre, **Ini** : Inhibition, **Sig** : signification, **R** : résistante, **S** : sensible, **I** : intermédiaire, **ATB** : antibiotiques, **CN** : Gentamycine, **TE** : Tetracycline, **P** : Pénicilline, **VAN** : Vancomycine, **C** : chloramphénicol, **E** : Erythromycine, **AMC** : Amoxicycline, **CTX** : Céfotaxine, **LEV** : Levofloxacin.

Selon les résultats de l'antibiogramme (Tableau n° 06) on remarque que :

Sur sept antibiotiques utilisés (CN, TE, P, VAN, C, E, AMC), *E. coli* a été sensible uniquement à trois antibiotiques (CN, TE, C) avec un plus grand diamètre d'inhibition pour le Chloramphenol qui est de 33 mm et un pourcentage de la zone d'inhibition de 36,66%, suivi de la Tetracycline avec un diamètre de 26 mm et un pourcentage de la zone d'inhibition de 28,88%, et enfin par la Gentamycine avec un diamètre d'inhibition de 20 mm et un pourcentage de la zone d'inhibition de 22,22%. Cette souche possède une sensibilité intermédiaire vis-à-vis l'Amoxicycline et de la

Vancomycine avec un diamètre d'inhibition de 18mm (20%) pour le premier antibiotique et 11mm (12,22%) pour le second. *E. coli* est résistante aux antibiotiques restants (P et E).

Sur huit antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme (CN, TE, P, VAN, C, E, AMC, CTX), *S. aureus* est sensible à quatre (TE, C, CN, VAN,) avec un plus grand diamètre d'inhibition pour la TE qui est de 38 mm (42,22%) suivi du C avec 26mm (28,88%) , la CN avec 23mm (25,55%) et enfin par la VAN avec 19mm (21,11%). Cette bactérie est résistante à quatre antibiotiques (P, E, AMC, CTX).

Sur six antibiotiques utilisés (LEV, CN, TE, C, VAN, P), *P. aeruginosa* est sensible uniquement à deux antibiotiques qui sont : la LEV avec un diamètre d'inhibition de 24mm (26,66%) et la CN avec un diamètre de 19mm (21,11%). Elle a été sensibilisée intermédiaire pour la TE avec un diamètre de 16mm (17,77%), le C avec 13 mm (14,44%) et le VAN avec un diamètre d'inhibition de 9 mm (10%). Cette souche est résistante à un seul antibiotique: le P.

➤ L'aromatogramme des souches testées

Les résultats de l'aromatogramme sont résumés dans les figures. Il a été remarqué que :

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*, suivi d'*E. coli* et enfin *P. aeruginosa*.

L'activité antibactérienne de l'HE du laurier Tunisien (brute , et avec ses cinq dilutions) est bien meilleure que celle du Laurier Algérien et ce pour les trois souches testées.

L'effet antibactérien des deux huiles utilisées diminue avec la diminution de la concentration en HE. Il est à son maximum quand cette dernière est sous l'état brut.

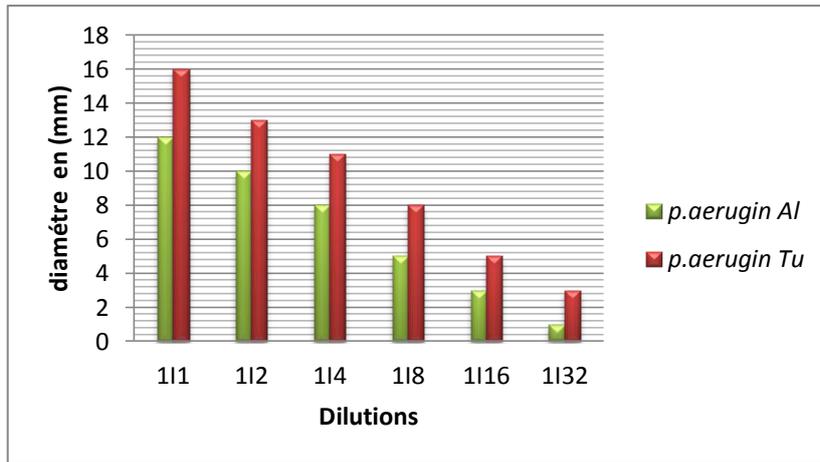


Figure 24: Représentation graphique des tests de l’aromatogramme sur *P.aeruginosa*

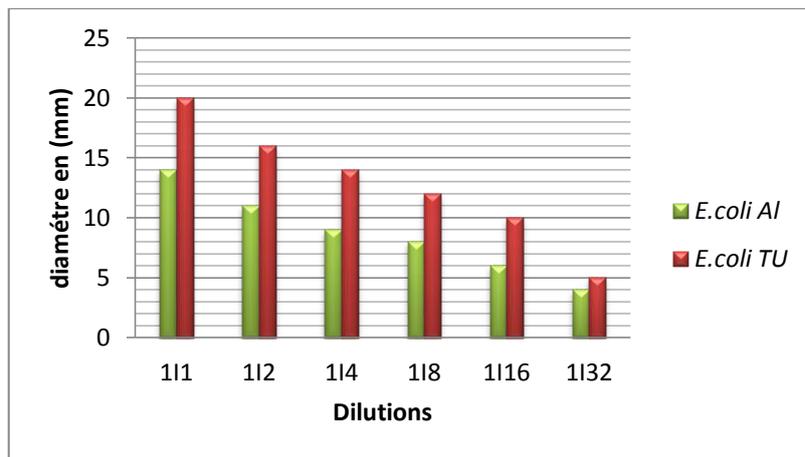


Figure 25 : Représentation graphique des tests de l’aromatogramme sur *E.coli*

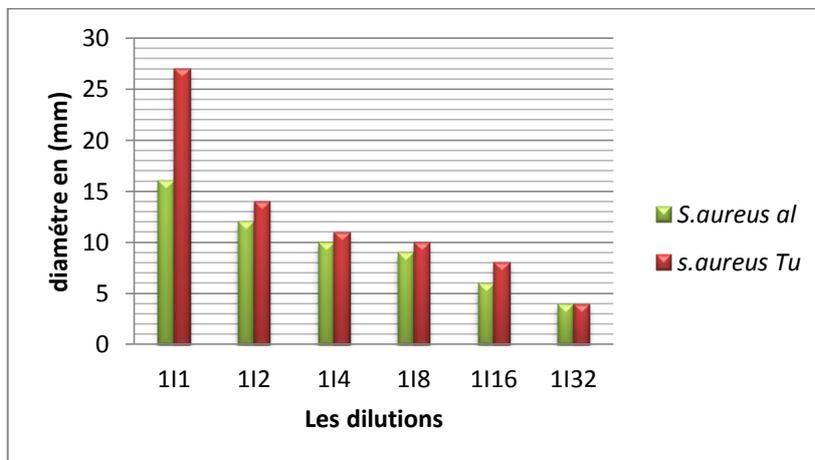


Figure 26: Représentation graphique des tests de l’aromatogramme sur *S. aureus*

➤ **Comparaison entre l'activité antibactérienne des huiles essentielles du laurier et des antibiotiques**

Les figures 40, 41 et 42 sont un récapitulatif de l'activité antibactérienne des huiles essentielles brutes et des antibiotiques testés respectivement sur les trois souches (*E. coli*, *S. aureus* et *P.aeruginosa*).

Il a été remarqué que :

- *E. coli* a une forte sensibilité uniquement, vis-à-vis des 3 antibiotiques (C, TE et CN) par ordre décroissant en % d'inhibition et que l'effet antibactérien de l'HE du laurier Tunisien se rapproche de celui de la CN.
- *S.aureus* est sensible à seulement 4 antibiotiques par ordre décroissant de pourcentage d'inhibition (TE, C,CN et VAN). L'HE du laurier Tunisien a une activité antibactérienne supérieure aux 3 derniers antibiotiques.
- *P. aeruginosa* a été sensible uniquement vis-à-vis de deux antibiotiques par ordre décroissant de % d'inhibition (LEV et CN). L'effet antibactérien de l'HE du laurier Tunisien se rapproche de celui de la CN et est équivalent à celui du TE (sensibilité intermédiaire).

➤ **La CMI**

Les résultats de la CMI montrent que :

- Concernant la souche *Pseudomonas aeruginosa*, la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* Tunisien et celle du *Laurus nobilis* Algérien sont égales et sont de 10 mg.ml^{-1} .
- Pour *E. coli*, la CMI de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* Tunisien est de 20 mg.ml^{-1} tandis que celle de l'Algérien est 5 mg.ml^{-1}
- Enfin pour la dernière souche *Staphylococcus aureus* la CMI de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* est de 10 mg.ml^{-1} pour l'huile Tunisienne et 5 mg.ml^{-1} pour l'Algérienne.

➤ **La CMB**

Les résultats de la CMB des deux types d'huile essentielle testées sur toutes les souches étudiées ont montré que :

L'huile essentielle de Tunisie a une CMB plus élevée que celle de l'huile Algérienne et ceci pour toutes les souches bactériennes utilisées (voir Fig37,38,39).

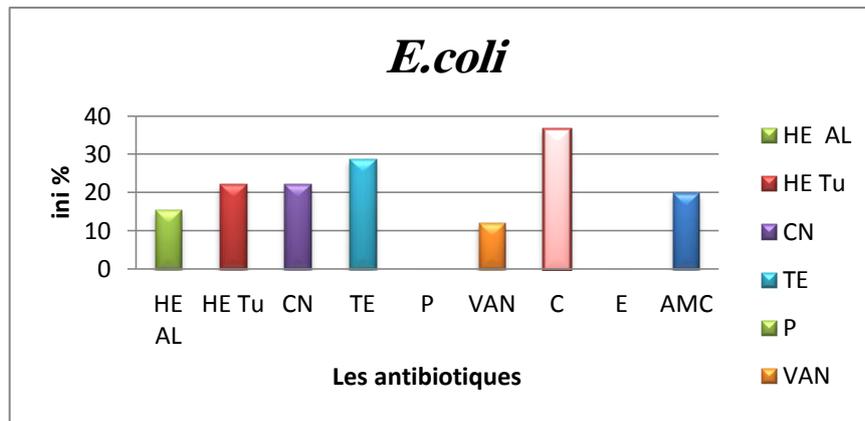


Figure 40 : Représentation graphique des tests de l’antibio- et l’aromatogramme sur *E.coli*.

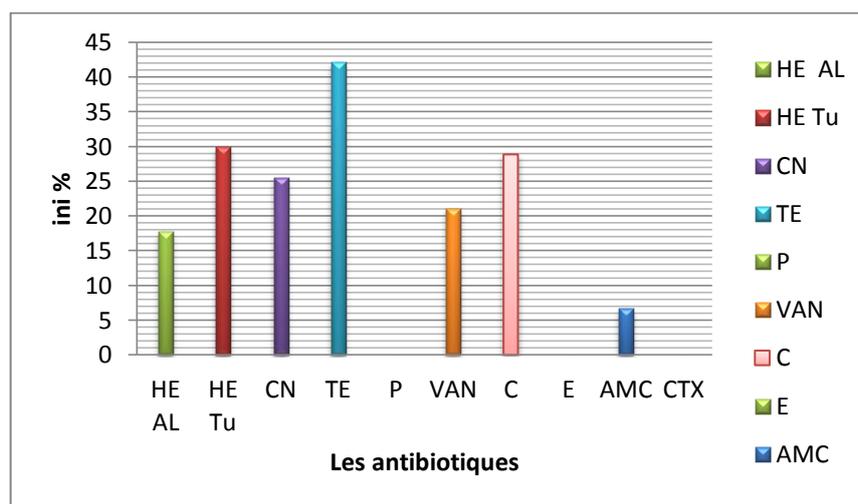


Fig n 41 : Représentation graphique des tests de l’antibio- et l’aromatogramme sur *S.aureus*

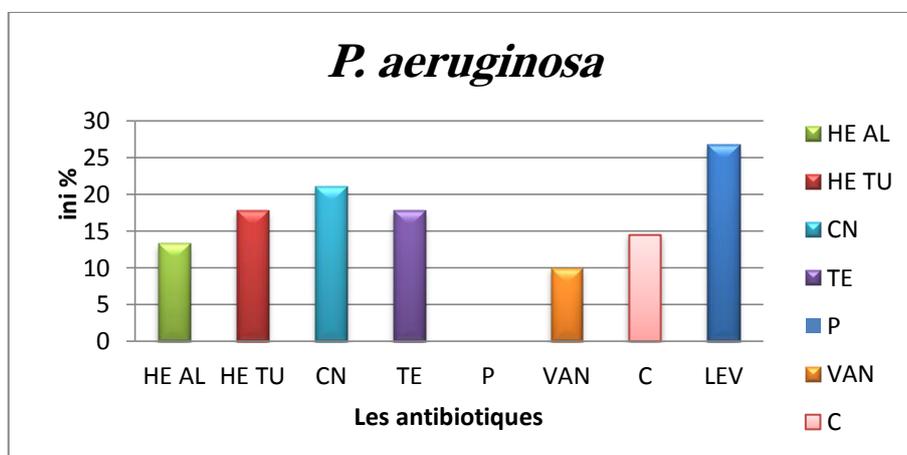


Fig n 42 : Représentation graphique des tests de l’antibio- et l’aromatogramme sur *Pseudomonas aeruginosa*.

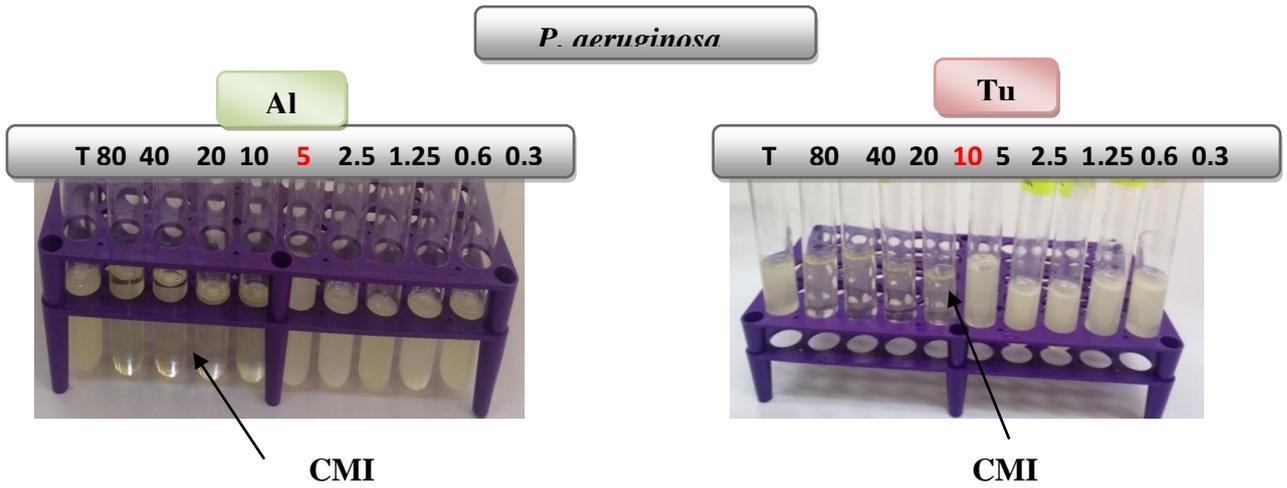


Figure 34 : résultat de la CMI sur *P. aeruginosa*

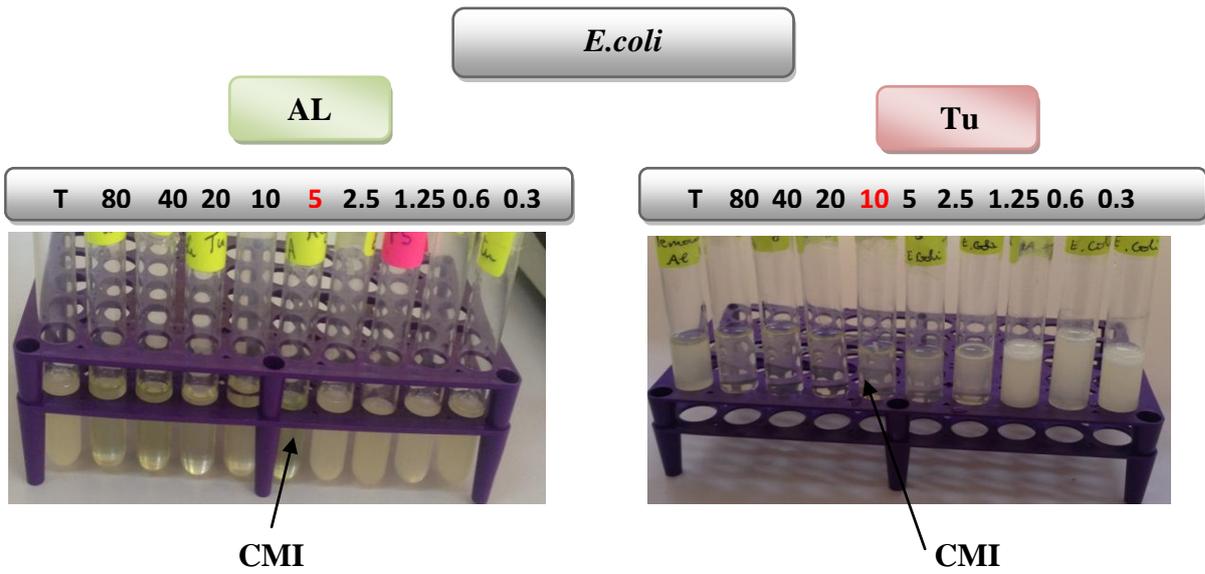


Figure 35 : résultat de la CMI sur *E.coli*

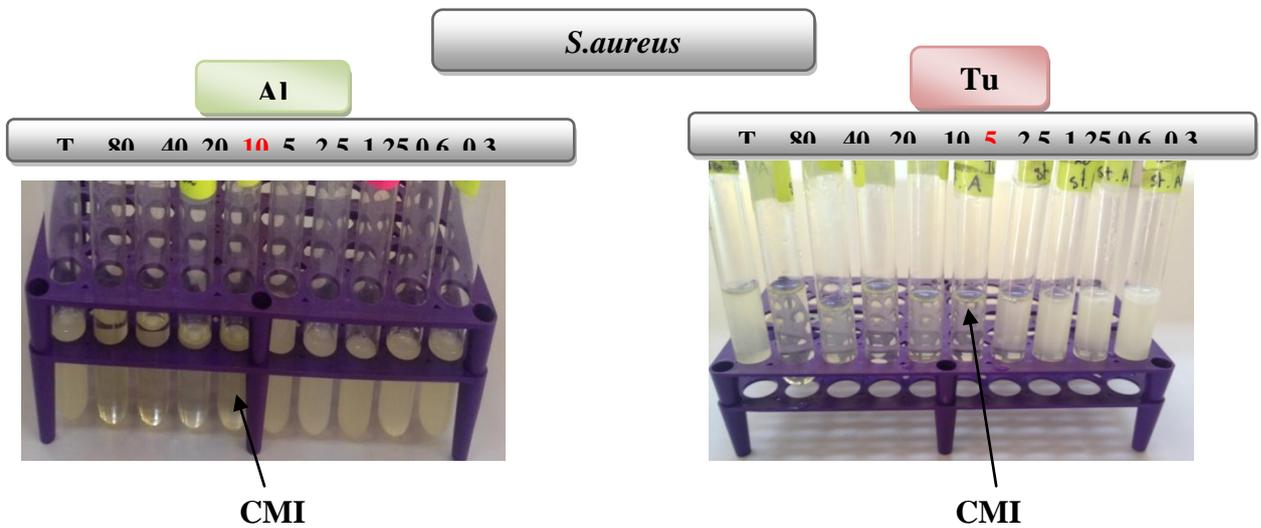


Figure 36 : résultat de la CMI sur *S.aureus*

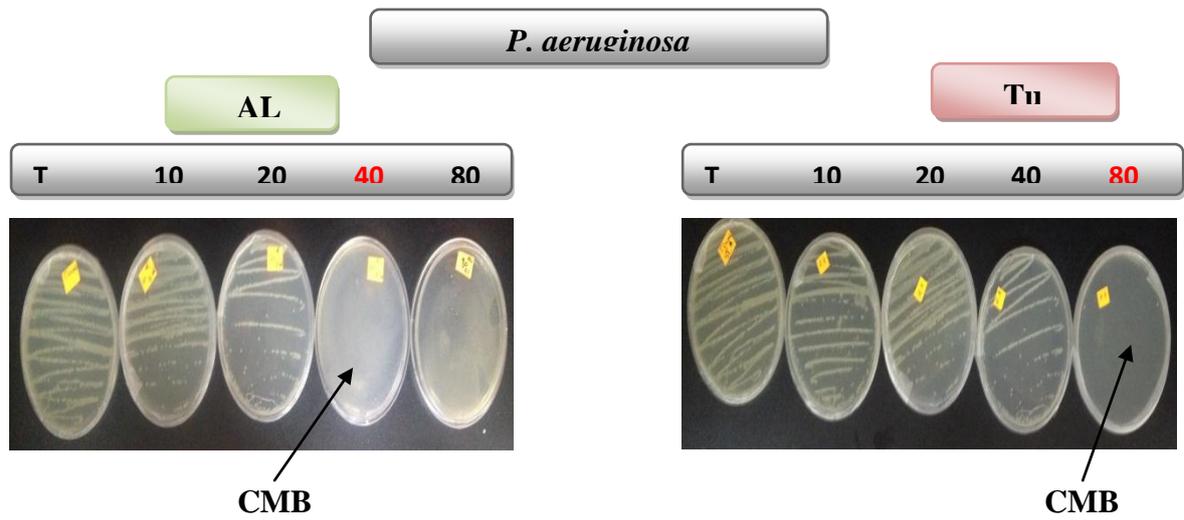


Figure 37 : résultat de la CMB sur *P. aeruginosa*

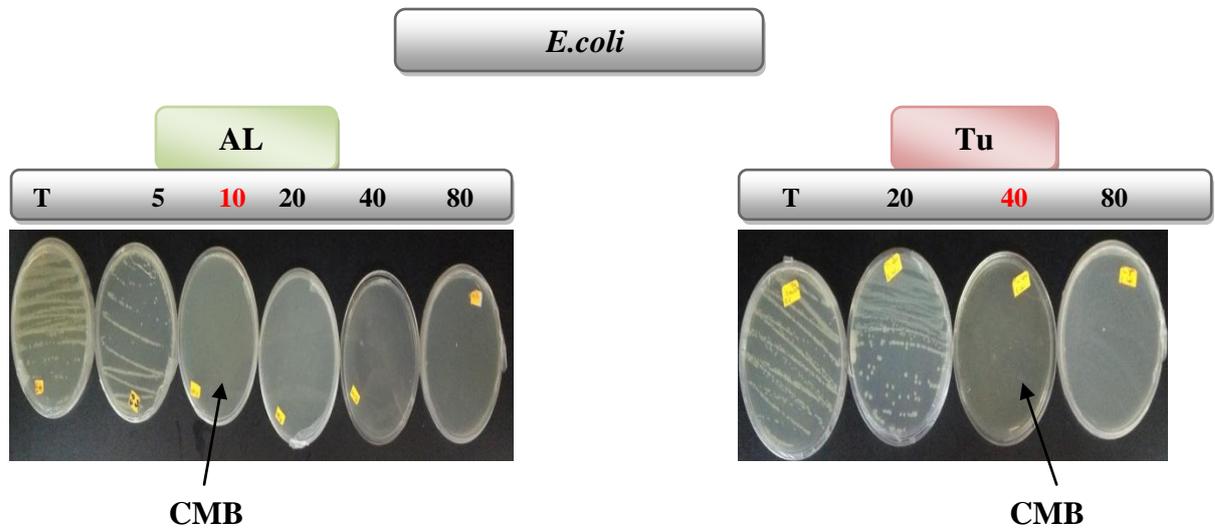


Figure 38 : résultat de la CMB sur *E.coli*

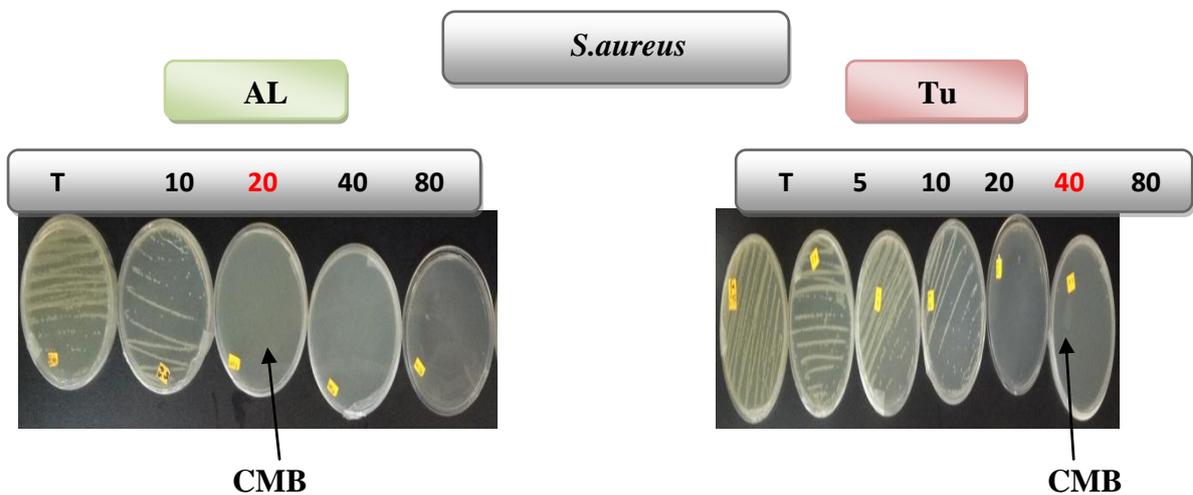


Figure 39: résultat de la CMB sur *S.aureus*

III-1-4 - L'étude anatomique

L'observation des coupes histologiques du *Laurus nobilis* microscope optique au grossissement X10, puis X40 et après avoir sélectionné, quelques photos qui expriment le mieux son histologie, révèle que

2.1.1. La feuille

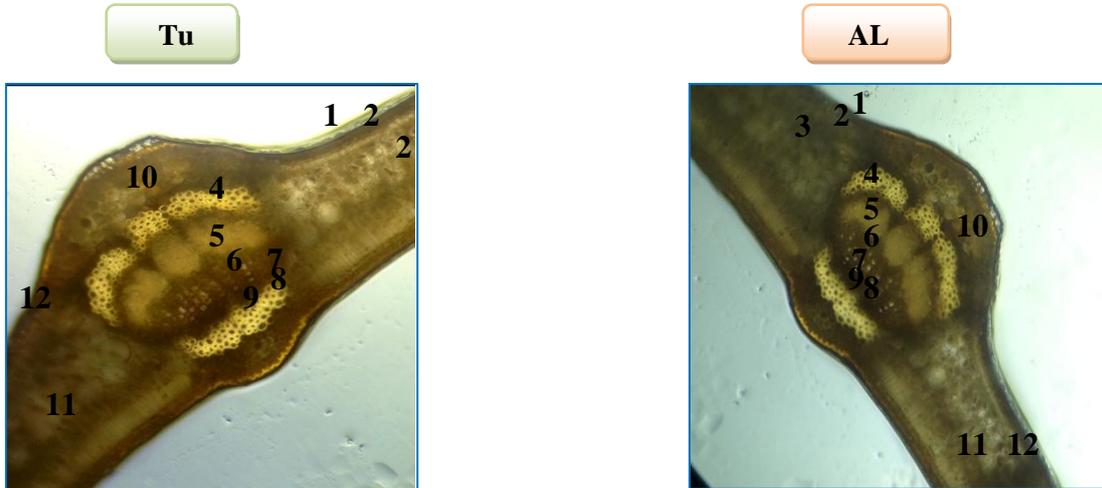


Figure 14 : Anatomie de la feuille vue au microscope optique (Gr X10)

1: épiderme adaxial, 2: parenchyme palissadique, 3: parenchyme lacuneux, 4: sclérenchyme périfasciculaire
5: phloème primaire, 6: phloème secondaire 7: cambium libéro-ligneux, 8: xylène secondaire, 9: xylène primaire, 10: collenchyme de la face adaxiale, 11: mésophylle, 12: épiderme adaxial

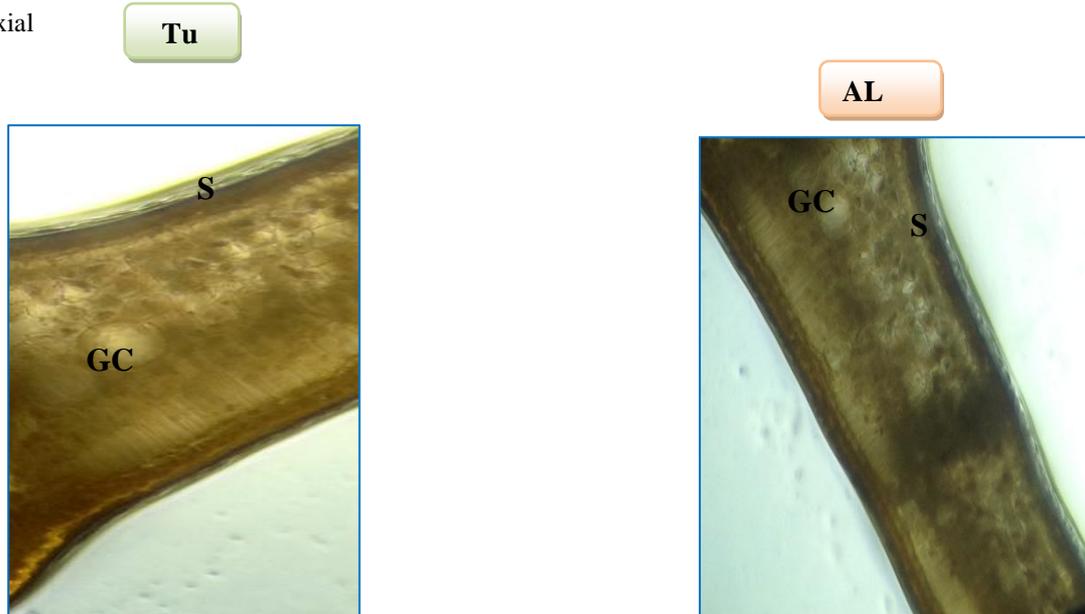


Figure 15 : Détail des cellules sécrétrices vues Au microscope optique (Gr X40)

GC: grosse cellule sécrétrice, S: stomate

A travers cette étude anatomique approfondie, on peut dégager plusieurs caractères anatomiques qui sont spécifiques au Laurier. Les feuilles contiennent au niveau du limbe de grosses cellules à essence dites « cellules sécrétrices » .

On a remarqué que ces cellules sont plus grosses au niveau des feuilles de Laurier Tunisien que celle du Laurier Algérien

Les feuilles du *Laurus nobilis* offrent au microscope des caractères permettant de les différencier facilement. L'épiderme supérieur est formé , de grosse cellules recouvertes d'une cuticule épaisse , caractérisée par une absence complète de poils.

Le parenchyme qui fait suite à cet épiderme est formé de cellules ovalaires , allongées. Les grosses cellules sécrétrices des HE sont de très grandes taille et globuleuses à parois distendues par le produit de sécrétion , une essence responsable de l'odeur caractéristique de ces feuilles .

Il a été remarqué également que la coupe histologique des feuilles du Laurier Tunisien est large que celle du Laurier Algérien , au deux grossissement X10 et X40 qui laisse croire que les feuilles du Laurier Tunisien sont plus larges que celle du Laurier Algérien .

III-1-5- Contrôle de la pommade antiseptique:

➤ Examen des caractéristiques macroscopiques et contrôle de qualité :

Les figures 41, 42 et 43 montrent que :

Les deux pommades antiseptiques à base d'HE des deux types de *Laurus nobilis* (Algérien et Tunisien) sont de couleur jaune et homogène et ont presque le même pH (pH HE Al7,08 est presque égale à pH HE Tu 7,37) qui est ni acide ni basique, ce qui nous permet de dire qu'elles n'auront aucun effet néfaste (irritation) sur la peau .

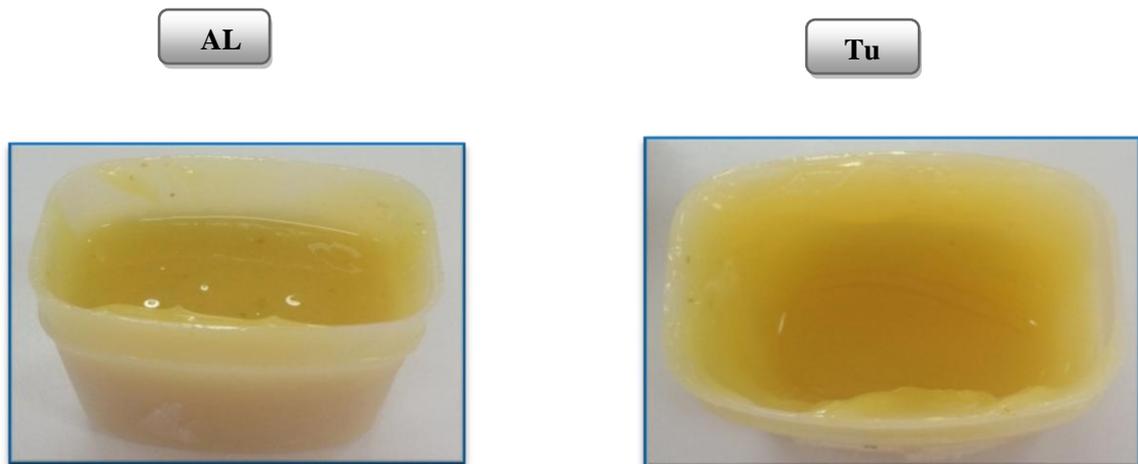


Figure 41 : Pommade antiseptique formulée à partir des deux types d'HE

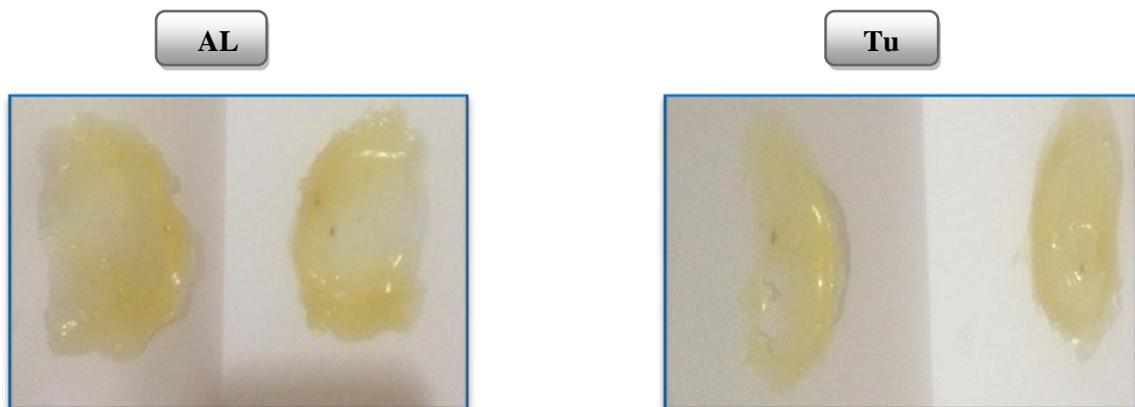


Figure 42 : Pommades antiseptiques étalées



Figure 43 : Mesure du pH des pommades antiseptiques

➤ **Application des deux pommades, à base des deux types d'huile essentielle de *Laurus nobilis* sur les lapins :**

Les figures 44 et 45 montrent qu'après 72 h de contact avec les deux pommades à base d'huile essentielle de laurier, et en comparaison avec les lapins témoins dont les plaies sont infectées par la bactérie (*Staphylococcus epidemidis*), les scarifications et le pus sur les dos des lapins commencent à disparaître (le résultat est presque identique pour le lapin traité par la pommade à base d'HE du laurier Algérien et celui traité par la pommade de l'huile essentielle du laurier Tunisien).

T



LTu



T : Témoin, LTu : Lapin traité par la pommade à base d'HE de *Laurus nobilis* Tunisien, LAI : Lapin traité par la pommade à base d'HE de *Laurus nobilis* Algérien

Figure 44 : Lapin traité par la pommade à base d'HE du *Laurus nobilis* Tunisien

T



LAI



Figure 45 : Lapin traité par la pommade à base d'HE de *Laurus nobilis* Algérien

III-2 Discussion

Notre étude nous a permis en premier lieu d'identifier les principaux groupes chimiques présents dans les feuilles du *Laurus nobilis* des deux régions (Algérie et Tunisie). En effet, on y retrouve la quasi-totalité des principes actifs (Alcaloïdes, Coumarines, Mucilages , Saponosides, Terpenes, Iridoides, Flavoinoides, et Tanins) avec une très petite différence de quantité entre les deux types de laurier. Cette richesse en composants bioactifs dotés de propriétés thérapeutiques intéressantes, a été mentionnée par plusieurs auteurs dont (auteur et année) ce qui souligne l'intérêt du choix de cette plante. Après extraction de l'huile essentielle des feuilles du laurier Tunisien et Algérien, il a été remarqué que le rendement en huile extraite des feuilles du type Tunisien est bien meilleur et que ce dernier variait selon la période de récolte ce qui concorderait avec les résultats de **Kellen et Tabe (2008)**. En effet, selon (...auteur .et année), le rendement est à son maximum en période de floraison . Le climat, la zone géographique, la génétique de plante, l'organe utilisé de la plante, le degré de fraîcheur, la période de séchage et la méthode d'extraction employée, etc..., sont aussi des facteurs, pouvant avoir un impact directe sur le rendement en HE (**Kellen B, Tabe M.,2008**). L'étude anatomique des feuilles des deux types de laurier aux deux grossissements x10 et x40 pourrait également expliquer la différence de rendements en huile essentielle de ces derniers . En effet, il a été remarqué que la taille des coupes des feuilles du laurier Tunisien est supérieure à celle du laurier Algérien avec des cellules sécrétrices d'huile essentielle qui sont plus volumineuses, ce qui conduit logiquement à une quantité supérieure d'huile essentielle.

L'activité antibactérienne des deux types d'huiles essentielles de *Laurus nobilis* (Algérien et Tunisien), extraits à partir des feuilles, a été testée sur trois souches de références : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Les résultats semblent être positifs avec un effet plus marqué pour *S. aureus* , suivit d'*E. coli* et enfin *P. aeruginosa*. Ce résultat concorde avec celui de (**Zimmermann , 1998; Kalemba et Kunicka, 2003; Yakhlef, 2010**) et (**Goumni Zahira et al ,2013**), qui ont testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la même plante sur les mêmes souches. Il est à noter que l'activité antibactérienne de l'HE du laurier Tunisien (brute , et avec ses cinq dilutions) est bien meilleure que celle du Laurier Algérien. Ce résultat pourrait être expliqué par la différence des constituants des deux huiles essentielles qui pourrait être due à une différence du climat et du sol

(Algérie : Guelma et Tunisie : Ain Drahem) (**Oussalah et al., 2006**). L'effet antibactérien des deux huiles testées diminue avec la diminution de la concentration en HE utilisée. En effet, plus l'huile essentielle est pure (brute), plus elle agit sur les bactéries.

Afin de comparer les résultats des deux types d'huiles essentielles de *Laurus nobilis* sur les 3 souches (*E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*), avec l'effet antibactérien des antibiotiques, une gamme de ces derniers a été choisie et testée sur ces mêmes bactéries. Les résultats montrent que : *E. coli* est sensible à 3 antibiotiques (C, TE, et CN) avec une similarité de l'effet antibactérien de l'HE du laurier Tunisien avec celui de la CN. *S. aureus*, a été sensible à 4 antibiotiques (TE, C, CN et VAN) dont les 3 derniers antibiotiques ont une activité antibactérienne plus faible que celle de l'HE Tunisienne. *P. aeruginosa* a été sensible uniquement vis-à-vis de deux antibiotiques (LEV et CN). L'effet antibactérien de l'HE du laurier Tunisien se rapproche de celui de la CN et est équivalent à celui du TE (sensibilité intermédiaire). En résumé, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du laurier Tunisien semble être équivalente ou même supérieure à celle des antibiotiques testés surtout concernant *S. aureus*. Il est bien connu que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'huile essentielle que les bactéries à Gram négatif **Pool., (2001)**. La méthode de diffusion en disque a nettement fait ses preuves malgré les quelques inconvénients suivants : la diffusion de l'huile essentielle dans la gélose peut être limitée par son caractère hydrophobe et volatile. Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne. La capacité d'absorption des disques représente elle aussi un obstacle majeur (**Southwell et al., 1993 ; Benzeggouta., 2005**).

La CMI ou concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus petite concentration du produit (HE) pour laquelle aucune colonie bactérienne n'est visible à l'œil nu ; C'est-à-dire la plus petite concentration inhibant la croissance bactérienne, alors que la CMB ou concentration minimale bactéricide est la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum bactérien initial. Pour chaque souche testée, la CMB des deux huiles essentielles du laurier est supérieure à la CMI, ce qui veut dire qu'à des concentrations élevées, les huiles testées sont bactéricides tandis qu'à des concentrations plus faibles elles sont bactériostatiques. En effet, nos résultats confirment cela : plus la concentration en huile est forte plus l'effet antibactérien est élevé et plus elle est faible plus l'effet diminue.

Pour valoriser encore plus ce travail, une étude *in vivo* de l'activité antibactérienne des deux types d'HE a été réalisée sur des lapins albinos de race neozélandaise. Deux pommades à pH neutre, non irritantes, constituées chacune respectivement d'HE Algérienne et Tunisienne ont été testées sur leur dos scarifié et infecté par *S. epidermidis*. On note avec intérêt la disparition quasi-totale de l'infection avec une cicatrisation des plaies. Ce résultat est identique à celui de **(Guedouari Ratiba., 2012)**.

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin et de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Notre travail a porté sur l'étude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites des feuilles de deux types de *Laurus nobilis* (Algérien et Tunisien). Selon les résultats trouvés on peut conclure que :

- L'efficacité et le rendement de l'HE du laurier Tunisien sont bien meilleurs que ceux de l'Algérien.
- Plus la concentration en HE est élevée, plus l'activité antibactérienne est élevée.
- Aux concentrations élevées, les HE utilisées sont bactéricides et aux faibles concentrations, elles sont bactériostatiques.
- L'efficacité des HE testées, a été également prouvée *in vivo*.

Perspectives

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait intéressant de :

- Déterminer la composition chimique précise de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* par CPG-SM, pour mieux comprendre son mécanisme d'action.
- Etudier l'activité antibactérienne d'autres extraits de *Laurus nobilis*
- Elargir la gamme d'espèces bactériennes testées. Il est également intéressant d'utiliser des champignons et des virus.
- Utilisation d'autres techniques d'extraction des HE.

Tester l'effet antibactérien des constituants de l'HE du laurier, seuls ou en synergie.

Références bibliographiques

AFNOR. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. , 1986,P57.

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

Arpino P., Prevot A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Wittier P.Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris, 1995.

Ballabio R, Goetz P . Huile de graine/fruit de laurier *Laurusnobilis L.,Laurusazorica (seub.) Franco, Laurusnovocanaiensis Rivas Mart., Lous ã, Fern .prieto, E. Dias, j.c. Costa et C.A guiar- Phytothérapie. Vol.8.pp.141-144, France. 2010.*

Baltimore, Berk, Darnell ,Lodish et Matudaira. Biologie moléculaire de la cellule, Paris,1344 , De Boek,2000.

BAUER. A. W., KIRBY. M. M., SHERRIS.J .C, TRUCK. M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 493, 1966.

BENAYADA .N. les huiles essentielles extraites de plantes médicinales marocaines moyenne efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair, département de chimie, faculté des sciences de Rabat, 2008, P7-15.

BENKADA, isolation des huiles essentielles de la menthe suaveolens, ehrh (Bous Domrane) de la région de Tlemcen et leur analyse par différents méthodes chromatographique mise en évidence du composé majoritaire « la pulégone », Thèse Magister.Unive.Tlemcen, 1990, pp 42,76.

BezangerL ,Pinkas M, TorckM,Trotin F- Plantes médicinales des régions tempérées - 2^{ème} édition. MALOINE. p.101. Paris , France. 1990.

BOTTON.B., BERTRON .A., FEVERE. M., GAUTHIER.S., GUPH .D., LARPENT .J.P., REYMOND .P., SANGLIER.J.J., VAYSSER .Y.,VEAU S. Moisissures utiles et nuisibles importance Industrielle, 2^{ème} édition, Masson collection biotechnologies, p 5-10,1990.

BOUANANE N, BOUSSEHEL N, contribution agroécologique aux essais d'introduction de la menthe poivrée (menthe piperata L) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation des ses huiles essentielles en thérapie ; mémIng.Univ. Ouargla 2005- p22-23 ; 28

BRUNETON J. Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » médicinales 3^{ème} éd, Tec et Doc, Paris 1999- pp 484-540.

BRUNETON. J .Pharmacognosie;Phytochimie et plantes médicinales. 2^{ème} édition Lavoisier,Paris, (1993) , pp 363-364-467-474.

BRUNETON J, pharmacognosie, Phytochimie des plantes médicinales. Edition Technique et documentaire ,3^{ème} édition. 1993.

CASFM..comite de l'antibiogramme de la société française de microbiologie recommandations, édition de janvier 2010.

Chambers H. F. Methicillin resistance in staphylococci : molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* 10. 2003 P: 781.

Chantal, B, Huguette B. Microbiologie et immunologie. Porphyre. France.2005

Christel F.Contribution à l'étude phytochimique de laurusnobilis(Lauraceae) - Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse, France. 1996.

Claude Martin. Principes de réanimation chirurgicale. Arnette. France. 1425p.2005.

Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Ddegirmencioglu A. Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. Biosystems Engineering,2004 p325-335.

DORMAN. H. J. D., DEANS S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*88: 308-316, 2002.

DUHOU. N., YAMNI. K., TAHROUCH. S. Screening phytochimique d'une plante endémique Ibéro-Marocaine, *Thymelaeaceae*. *Bull SocPhrm. Bordeaux* 142 : 61-78, 2003.

Duke J, Bogenschutz-Godwin M ,Cellier J , Duke . CRC HANDBOOK of Medicinal spices - CRC Press.pp.201-207. 2ème édition, Florida. 2002.

Edeoga H.O., Okwu D. E., Mbaebie B.O. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* ,2005,Vol. 4 (7). P: 685-68.

El Hattab, M., Culioli, G., Piovetti, L., Chitour, S. E. and Valls, R. *Journal of Chromatography A*, Comparison of various extraction methods for identification and determination of volatile metabolites from the brown alga *Dictyosphaeria membranacea*, 1, 2007, 1143

Elmastas M, Gulcin I, Isildak O, Kufrevioglu O, Ibaglu K .Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts- *Journal of the Iranian chemical society*. Vol.3(3).pp.258-266,Turkey. 2006.

Gerald. *Biologie cellulaire et moléculaire*, De Boeck.Moloin.850p,2004

Grosso, C., Ferraro, V., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Coelho, J. A. and Palavra, A. M. *Food chemistry*, Supercritical carbon dioxide extraction of volatile oil from Italian coriander seeds, 111, 2008, 197.

GUENTER E. (1975), *The essential oils* Vol II, III, IV, V, VI, D. Van Nostrand ed. New York USA.

Hachemi, O. *Ruis, Microbiologie clinique*, édition d'office des publications universitaires,173p,2002.

Hallal, Z. Contribution à l'étude des propriétés antibactérienne et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites du Citrus et application à la sardine. Thèse magister biologie: université Mouloud Mammri , Tizi Ouzou, 120p.65-66p , 2011.

Hans,W. 100 plantes aromatiques et médicinales. Terres édition, France ,336p, 2007. Glossaire de bactériologie. Concentration minimale inhibitrice Glossaire de bactériologie. Concentration minimale Bactéricide.

HERNANDEZ-OCHOA L.R. Improvement of shelf life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology, 2005,22,273-292.

Isbilir S, Ozcan H, Yagar H. Some Biochemical properties of lipase from Bay Laurel (*Laurusnobilis* L.) seeds- J Am oil Chem Soc. 2008,Vol.85.pp.227-233.

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

Ivan A. Ross . Medicinal plants of the world, chemical constituents, traditional and modern medicinal uses - HUMANA PRESS. Volume 2. pp.261-264, United states of America,2001.

J.O'M.Bockris et D.A.D.Swinkels,J. Electrochem.Soc., 1965, p111,736

KARUMI. Y., ONYEYILI. P. A, OGUGBUAJA. V. O, Identification of active principes of *M.balsamina* (balsam Apple) leaf extract .J Med Sci 4:179-182, 2004.

Kilic A, Altuntas E- Wood and bark volatile compounds of *laurusnobilis* L.-HolzalsRoh- und Werkstoff, 2006, Vol.64.pp.317-320,Turkey.

Kilic A, Hafizoglu H, Kollmannsberger H, Nitz S - Volatile constituents and key odorants in leaves, buds, flowers and fruits of *laurusnobilis* L.-J Agric. Food Chem. 2004Vol.52.pp.1601-1606,Turkey.

LAIB,I., étude des activités antioxydant et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandulaofficinalis* sur les moisissures des légumes secs, Mémoire présenté

pour l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Alimentaires Option : Technologie alimentaire, Université Mentouri Constantine, 2011, P21-30.

Ledard F., Guinaudeau H. Encyclopédie des plantes et leurs propriétés-AlgoVision, 2004

Madhavid,L. Food antioxidants; Ed: CRC PRESS, **1996**, P: 361- 460.

Mann J., Secondray Metabolism. Secnde edition clarendn press, oxford, 1987, p. 374.

Mébariki ,N.Extraction des huiles essentielles de Thymus et application à la formation d'une forme médicamenteuse antibactérienne. Thèse de magistère Géniedes procédés chimiques et pharmaceutiques :Boumerdes , université MhamedBougara, ,2010, 185p.

Meyer-Warnod, B., Perfumer and Flavorist, Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, 9, 1984, 93.

Misharina T, Polshkov A-Antioxidant properties of essential oils: Autoxidation of Essential oils from laurel and Fennel and of their mixtures with essential oil from coriander- Applied Biochemistry and Microbiology. Vol.41(6).pp.610-618, Russia. 2005

Mnimh , O et Pénélopé. Les plantes médicinales encyclopédie . Sélection du Reader's Digest, Paris,1994.

Nataro J. P., Kaper J. B. Diarrheagenic*E. coli*. *Clin MicrobiolRev.*,1998,. P : 142.

Neffati, A., Thèse de doctorat en Sciences de l'université de Caen, Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie : Pituranthoschloranthus, 2010.

Ochikh O, Chahed S, Ksouri R, Taarit M, Faleh H, Abdelly C, Kchouk M, Marzouk B-The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs-Journal of food composition and analysis. Vol.24.pp.103-110, Tunisia. 2011.

Okmu D.E. Phytchemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int J Mol AdvSci*; 2005, 1 (14). P: 375-381.

Paul, I. Larousse encyclopédie des plantes médicinales .LAROUSSE/VUF.2001.p 299-321.

Philippon A. Quelques bacilles à Gram négatif aérobies stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques. *Lett. Infectiol.* 10. 1997, P : 619.

Prescott., Harley et Klein. Microbiologie.Bruxelles. DeBoeck Université,1995.

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

Rizk, A.M. Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterrapia*, 52 (2),1982, P: 35-42.

ROUX D .Conseil en aromathérapie 2^{ème} Edition, Pro-Officina , 2008,p187 .

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

Sewenderg,P et Paris, F. Guide des plantes médicinales. 3^{ème} édition, Paris , 1977,. p82 ,83.

Simiü M., Kundakoviü T., Kovapeviü N. Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurusnobilis* extracts. *Fitoterapia*, 2003, 74: 613-616.

Skandamis PN. and Nychas GJE. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Applied Microbiol.*, **2001**, 91: 1011-1022.

SPURGEON et PORTER .Biosynthesis of isoprenoïdcompound, 1981,p 1-46.

Strang C. Larousse medical. Ed Larousse,2006.

Tanaka R, Sakano y, Shimizu K, Shibuya M, Ebizuka Y, GodaY .Constituents of *laurusnobilis* L. inhibit recombinant human lanosterol synthase , *J Nat Med.* Vol. 60.pp.78-81, Japan.2006.

Trupo M, Leone G,Sanzo G, Zingarelli G, Adami M- Antifungul activity of the leaf extracts of laurel (*Laurusnobilis* L.),Orange (*citrus sinensisosbeck*) and Olive

(oleaeuropaea) obtained by means of supercritical carbon dioxide technique- Journal of plant pathology. vol.89(3),Italy. 2007.

Vodak ,J et Stodola Jiri. Plantes médicinales. 6^{ème} édition,2000.

Wagner H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und irheinhaltsstoffe, Gustav Fisher Verlag. Sturtgart-New-York,1993, P : 522.

Wichtl M, Anton R. Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique , 2ème édition. Lavoisier. 2003.

WICHTL.M, ANTON. R, plante thérapeutique technique et documentation ,Paris,1999

Wilhelm ,Nultsch. Botanique générale . 10^{ème} édition. P 316. Bruxelles. 1998.

Willem, J. P., Les huiles essentielles, médecine d'avenir, du Dauphin : Paris, 2004.

Annexe I : Composition des milieux de culture en g /l (Benzeggouta., 2005).

Milieux Chapman

Extrait de viande	01 g.
Extrait de levure.....	03 g.
Tryptone.....	05 g.
Peptone bactériologique.....	10 g.
Chlorure de sodium.....	70 g.
Mannitol.....	10 g.
Rouge de phénol.....	0,025 g.
Agar	15 g.

PH=7,4

Gélose Mueller Hinton

Extrait de viande.....	03 g.
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Agar.....	18 g

PH=7,4

Gélose au sang cuit

• **Gélose de base Columbia**

- Poly peptone	17,0 g
- Peptone pancréatique de cœur.....	3,0 g

- Extrait autolytique de levure.....3,0 g
- Amidon de maïs1,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Agar agar bactériologique.....13,5 g

PH=7,3

Mac konckey

- Peptone pancréatique de gélatine17,0 g
- Tryptone.....1,5 g
- Peptone pepsique de viande1,5 g
- Lactose10,0 g
- Sels biliaires.....1,5 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Rouge neutre30,0 mg
- Cristal violet1,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g

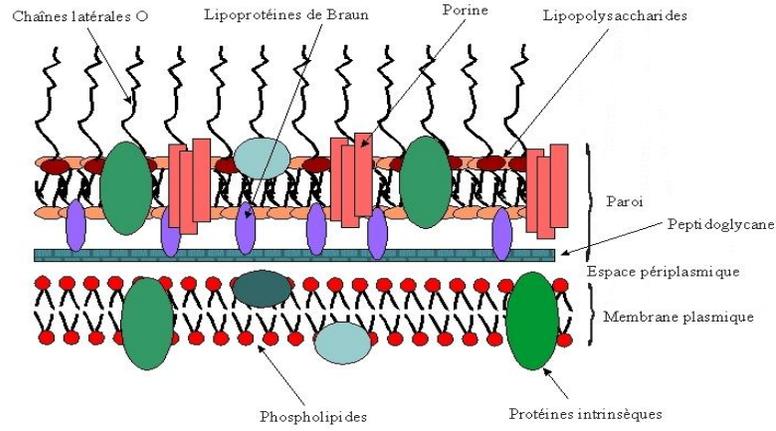
PH=7,1.

King A

- Peptone20 g
- Agar purifié12 g
- K₂SO₄ (anhydre)..... 10 g
- MgCl₂ (anhydre).....1,4 g

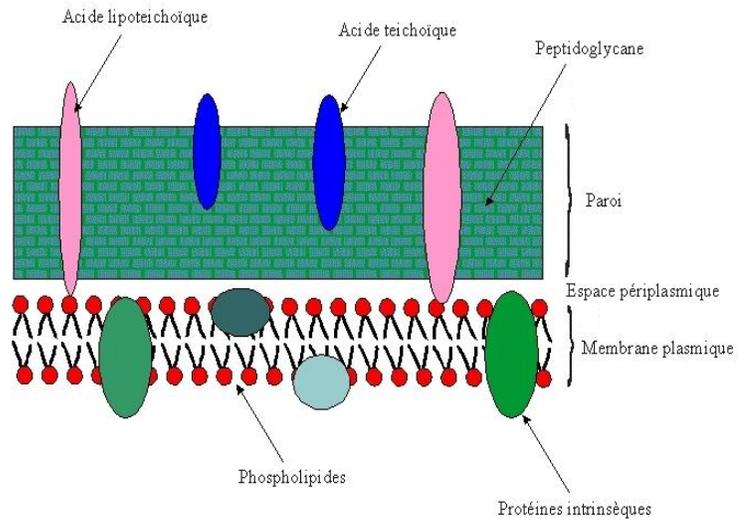
PH=7,1

La paroi des bactéries Gram négatif



Annexe 2: La paroi des bactéries Gram⁻

La paroi des bactéries Gram positif

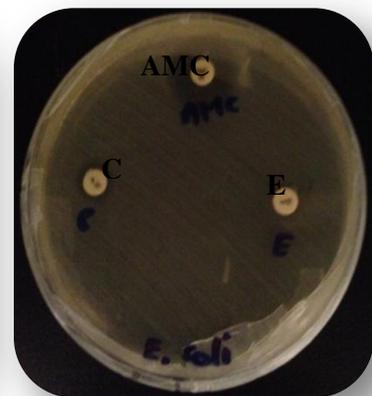
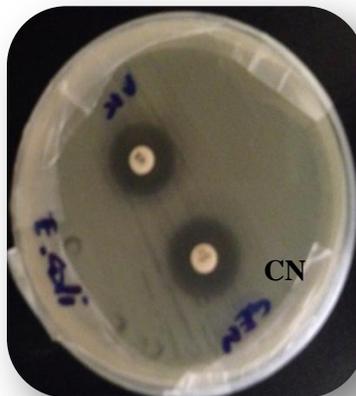
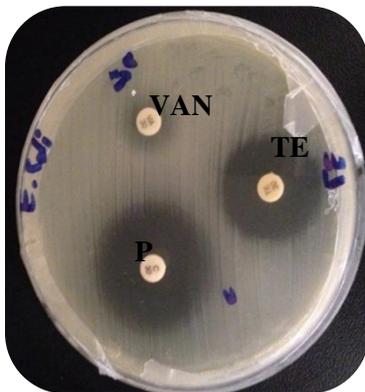


Annexe 3: La paroi des bactéries Gram⁺

Annexe 4: Screening phytochimique de *Laurus nobilis* de deux régions différentes (Algériennes et tunisiennes).

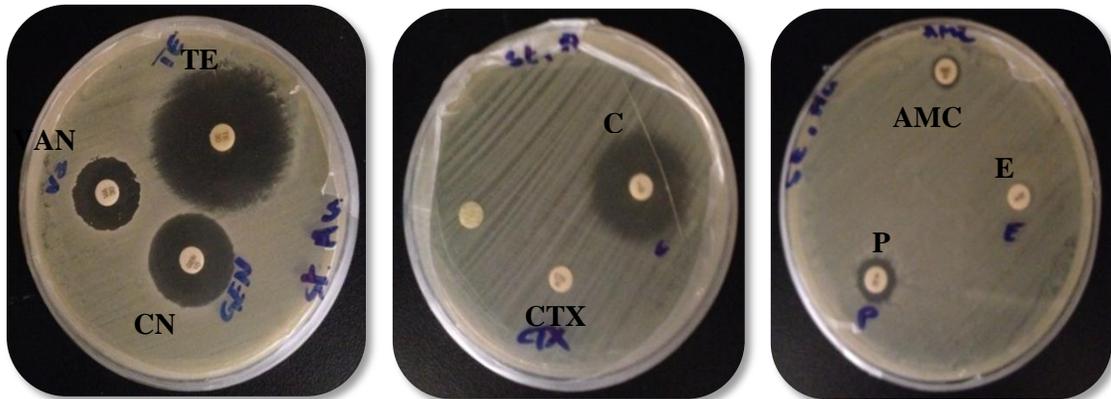
Test								
Plante	Alcaloïdes	Tanins	Flavonoïdes	Saponosides	Mucilages	Coumarines	Terpins et iridoïdes	Glucosides
<i>Laurus Nobilis</i> (Al)	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Laurus Nobilis</i> (Tu)	+	+	+	+	+	+	+	+

E. coli



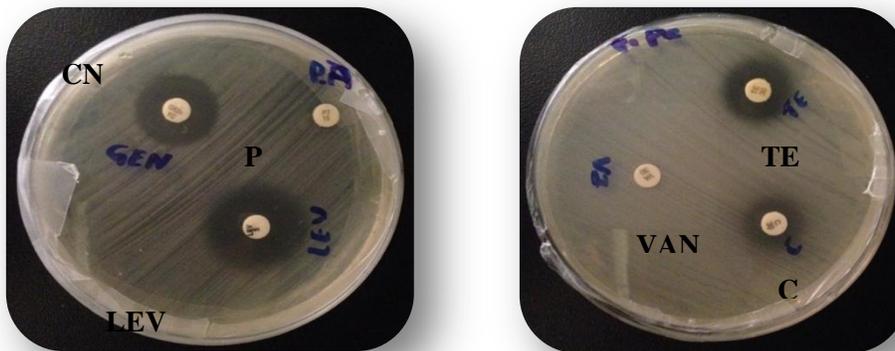
Annexe 4: Résultat de l'antibiogramme sur *E. coli*

S. aureus



Annexe 3: Résultat de l'antibiogramme sur *S. aureus*

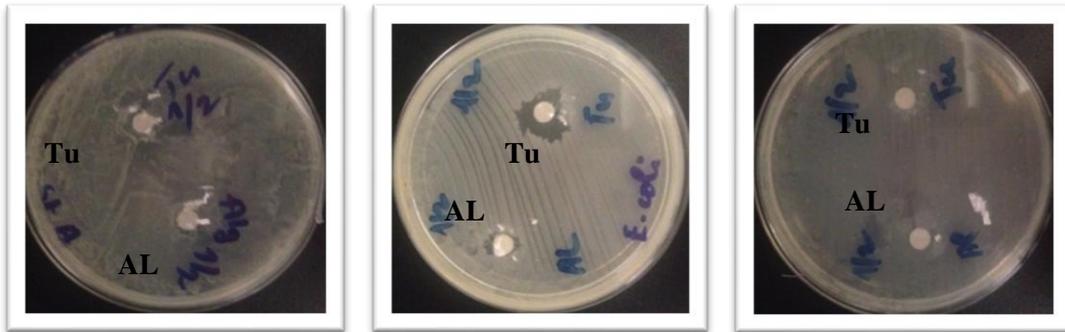
P.aeruginosa



Annexe 4: Résultat de l'antibiogramme sur *P.aeruginosa*



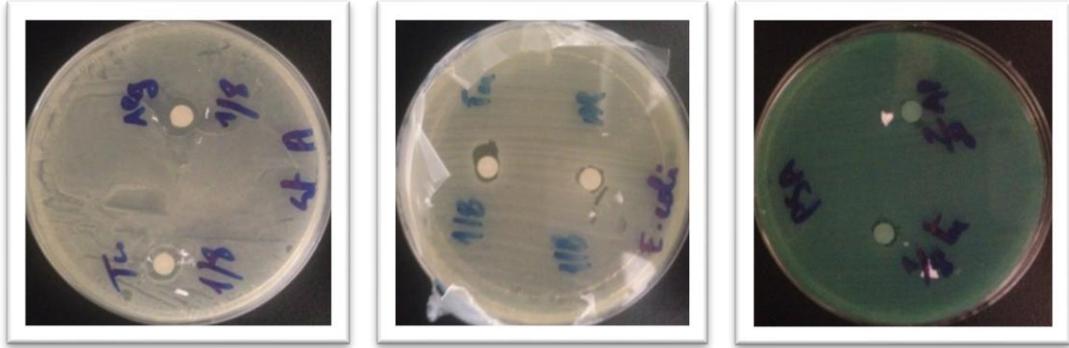
**Annexe 5: Résultat de l'aromatogramme des huiles brutes
(Tunisien (Tu) et Algérien (Al))**



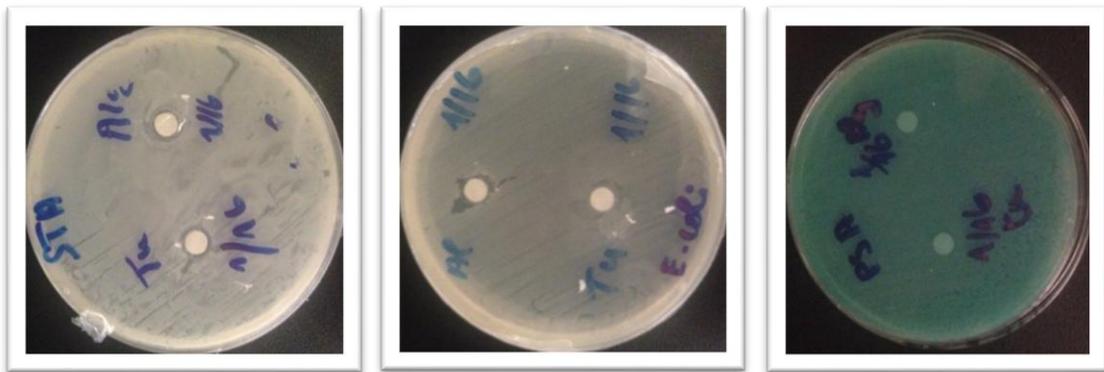
**Annexe 6: Résultat de l'aromatogramme des dilutions 1/2
(Tunisien (Tu) et Algérien (Al))**



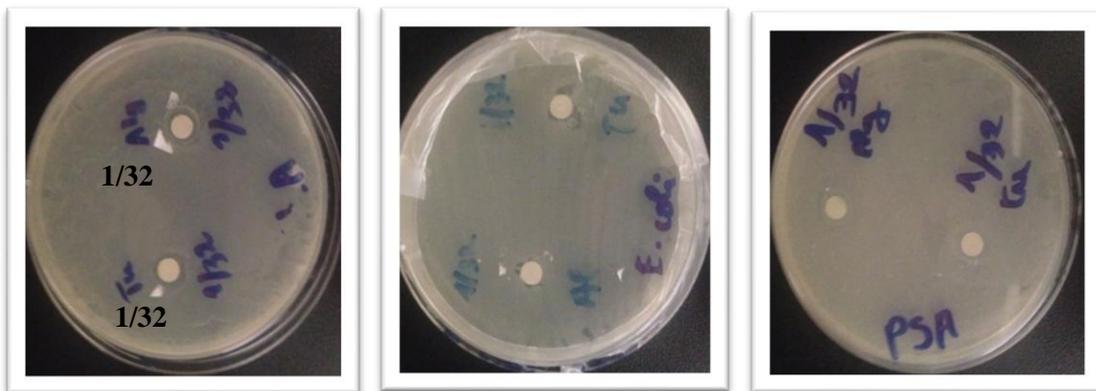
**Annexe 7: Résultat de l'aromatogramme des dilutions 1/4
(Tunisien (Tu) et Algérien (Al))**



**Annexe 8: Résultat de l'aromatogramme des dilutions 1/8
(Tunisien (Tu) et Algérien (Al))**



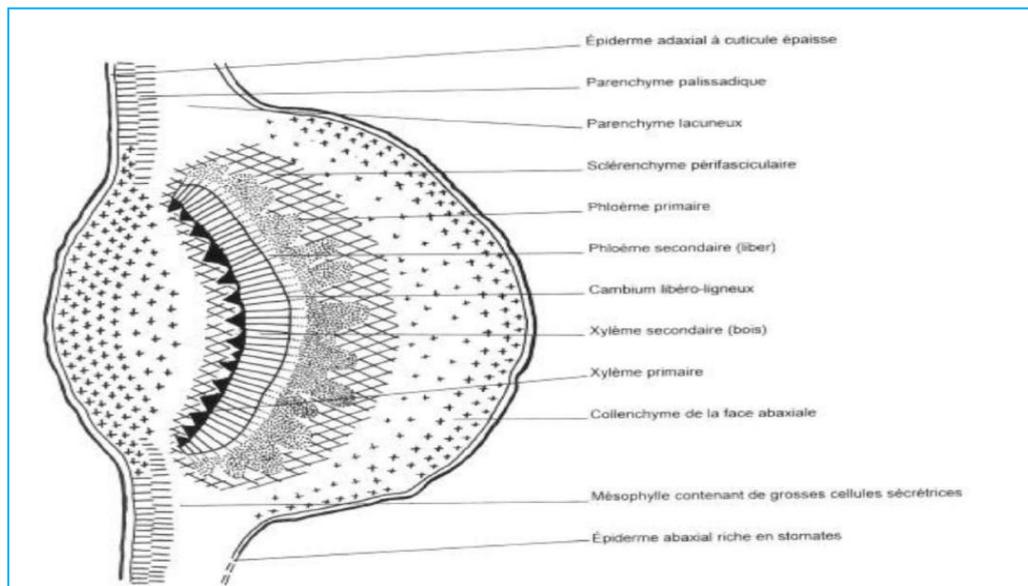
**Annexe 9: Résultat de l'aromatogramme des dilutions 1/16
(Tunisien (Tu) et Algérien (Al))**



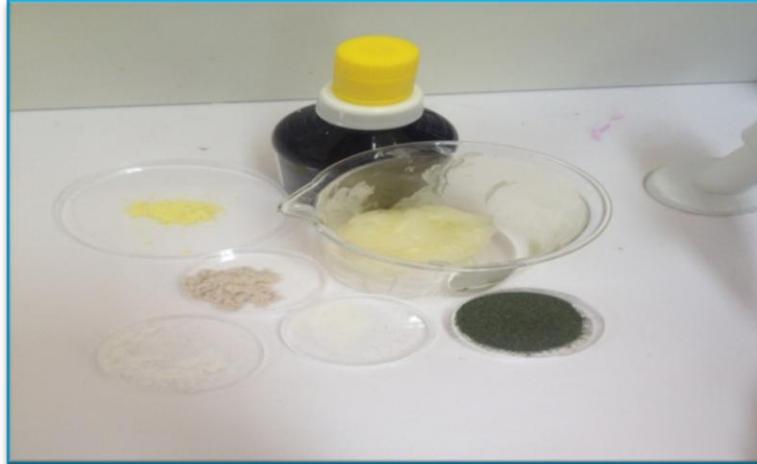
**Annexe 10: Résultat de l'aromatogramme des dilutions 1/32
(Tunisien (Tu) et Algérien (Al))**



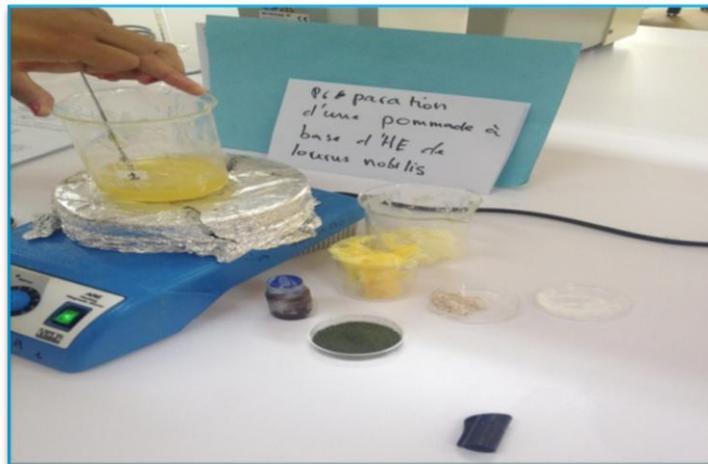
Annexe 11: L'effet du Papier Vierge et DMSO sur les souches testées



Annexe 11:schéma de coupe transversale de feuille de *laurus nobilis*



Annexe 12: composants de la pommade à base d'huile essentielle du *Laurus nobilis*



Annexe 13: Préparation de la pommade à base d'huile essentielle du *Laurus nobilis*



Annexe 14: La pommade à base d'huile essentielle du *Laurus nobilis*

Pommade antiseptique :

Annexe 14 : Formulation d'une pommade antiseptique.

Constituants	Essai (%)
Lidocaïne (Anesthésine)	1
Huile essentielle de laurus nobilis	x
Acide salicylique	1
Tetraborate de Na	1
Streptocide	0,5
Vaseline blanche	60
lanoline	30
Menthe	1,2
Camphre	x
Salicylate de méthyle	3

Résumé :

Le laurier est une plante de la famille des Lauracées. Elle est aromatique donc riche en huiles essentielles.

L'analyse phytochimique de la poudre des deux types de laurier (Algérien et Tunisien) a révélé la présence de quelques groupes chimiques (les tanins, les alcaloïdes.....etc) .Les huiles volatiles ont été isolées par hydrodistillation et les résultats des rendements en huile essentielle sont différents : 1.26% pour laurier Algérien et 1.63 pour laurier Tunisien.

Ainsi, dans cette étude nous avons testé l'activité antibactérienne de ces deux huiles extraites sur des bactéries Gram⁻ (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et des bactéries Gram⁺ (*Staphylococcus aureus* ATCC29213) par la méthode de diffusion en milieu solide

Les diamètres d'inhibition varient d'une souche à une autre : *Staphylococcus aureus* est la plus sensible à l'huile essentielles brut des deux types Tunisien et Algérien avec des diamètres qui sont respectivement 27mm et 16mm suivie d'*Escherichia coli* avec un diamètre 25mm pour laurier Tunisien et 14mm pour laurier Algérien et enfin *Pseudomonas aeruginosa* 16mm et 12mm respectivement Algérien et Tunisien .

A partir de ces dilutions d'aromatogramme nous avons déterminé la CMI voire même la CMB de deux huiles .

Finalement et après avoir s'assurer de la bonne qualité de la matière première, il a été procédé à la formulation des deux pommades antiseptique à base de l'huile essentielle des feuilles de deux types *laurus nobilis*. Les tests macroscopiques, l'homogénéité et le pH des pommades ont été déterminés. Les résultats de teste de tolérance des pommades préparés ont révélé non irritante.

Mots clés : *Laurus nobilis* , huile essentielle, activité antibactérienne, CMI, pommade

Summary:

The laurel is a plant family of Lauraceae. It is rich in aromatic essential oils.

The phytochemical analysis of the powder of both types of laurel (Algeria and Tunisia) revealed the presence of some chemical groups (tannins, alkaloids ... etc). The volatile oils were isolated by steam distillation and yields results essential oil is different: 1.26% to 1.63 for Algerian and Tunisian bay laurel.

Thus, in this study we tested the antibacterial activity of these two oils extracted on Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC29213) by the solid medium diffusion method

The inhibition diameters vary from one strain to another: *Staphylococcus aureus* is the most sensitive raw essential oil of both types Tunisian and Algerian with diameters which are respectively 27mm and 16mm followed by *Escherichia coli* with a 25mm diameter for laurel Tunisian and Algerian 14mm for laurel and finally *Pseudomonas aeruginosa* respectively 16mm and 12mm Algeria and Tunisia.

From these dilutions aromatogramme we determined the MIC or even CMB two oils.

Finally and after ensuring the quality of the raw material, was taken to the formulation of the two antiseptic ointments based essentially on oil leaves two types *Laurus nobilis*. Macroscopic tests, homogeneity and the pH ointments were determined. The results of tests of tolerance prepared ointments revealed non-irritating.

Keywords: *Laurus nobilis*, essential oil, antibacterial, CMI, ointment

الغار هو من العائلة النباتية الغارية فهي غنية بالزيوت العطرية الأساسية
بين التحليل الكيميائي النباتي لمسحوق كلا النوعين من الغار (الجزائر وتونس) وجود بعض المجموعات الكيميائية
(العفص وقلويدات ... الخ) تم عزل الزيوت الطيارة عن طريق التقطير بالبخار وجاء مردود هذه العملية من الزيوت
الأساسية مختلف: 1.26% بالنسبة للغار الجزائري و 1,63% بالنسبة للغار التونسي

في هذه الدراسة اختبرنا النشاط المضاد للبكتيريا من هذه الزيوت المستخرجة على اثنين سلبية الغرام البكتيريا المكورات العنقودية الذهبية والبكتيريا موجبة الجرام (ATCC 27853 ، الزائفة الزنجارية ATCC25922) (الإشريكية القولونية من خلال طريقة الانتشار في وسط صلب. (ATCC29213) أقطار التثبيط تختلف من سلالة إلى أخرى: المكورات العنقودية الذهبية هي الأكثر حساسية بالنسبة لهذه الزيوت الأساسية لكلا

25mm تليها الإشريكية القولونية مع قطرها 16mm النوعين التونسي والجزائرية بأقطار التي هي على التوالي 27 لالغار

والجزائر وتونس 12MM التونسي والجزائري لوريل وأخيرا الزائفة الزنجارية على التوالي 16MM 14

و انطلاقا من هذه التحليلات لمقياس الروائح استطعنا تحديد و حتىلهدين الزيتين.

و في النهاية وبعد التأكد من النوعية الجيدة للمادة الاولية قمنا بتشكيل نوعين من المراهم المطهرة التي تحتوي عل الزيت الاساسي لاوراق لكلا النوعين.

الغار الزيوت الطيارة نشاط المضاد البكتيريا مرهم كملت البحث