

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biotechnologie Végétale

Présente par : GOUMNI Zahira

SALHI Asma

Thème

*ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE
EXTRAIT DE LA PLANTE LAURUS NOBILIS L.*

Soutenu publiquement

Le : 25/06/2013

Devant le jury :

Mme OULD ELHADJ- KHELIL Aminata.	Pr	Président	UKM Ouargla
Melle SALHI Nesrine.	M.C. (B)	Encadreur	UKM Ouargla
Mme MEHANI Mona.	M.A. (A)	Co-encadreur	U Ghardaïa
Melle HADJADJ Soumia.	M .A. (B)	Examineur	UKM Ouargla
Melle HAMMOUDI Roukia.	M.A. (B)	Examineur	UKM Ouargla

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Tous nos remerciements vont d'abord à notre **DIEU** le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience. **فاللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك.**

Ce travail a été entièrement réalisé au laboratoire de Bioressources sahariennes:

Préservation et valorisation de université **KASDI MERBAH Ouargla**. Nombreux sont ceux qui ont contribué d'une façon ou d'un autre à l'aboutissement de ce travail. Nous remercions en particulière à: **D CHAHMMA ABD ALMEDJID**, **Dame IDER SAIDA**, **Dame KASI SAFIA** et **Melle REOUICHA** pour nous voir accueillie dans leurs laboratoire, guidés et encouragés scientifiquement tout au long de ce travail, nous les remercions vivement pour leurs soutien, leurs conseils précieux et leurs critique qui nous aidés au sein du laboratoire.

Notre remerciement vont à notre encadreur **D SALHI NESRINE** pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de nous profonde reconnaissance, notre immense gratitude et nous grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance ses encouragements.

Il ne nous serait pas possible de présenter ce mémoire sans témoigner de notre profonde gratitude à notre Co-promoteur **Dame MEHANI MONA** pour son aide scientifique et de ses conseils.

Nous sommes agréables de remercier **Melle HADJADJ SOUMAIJA** pour leur encouragement, leur conseils et de nous avoir fait l'honneur d'être Examineur et de participer au jury de ce mémoire avec **Dame OULD EL HADJ-KHELIL AMINATA** et **Melle HAMMOUDI ROUKIA** qu'ils nous les respecter et nous les remercier.

Nous sincères remerciements vont à **M^{elles} TRABELSI Hafida**, **HOUARI KAHINA**, **HANANI AMINA** et nous non oublions pas **M^e BENSIZERARA DJEMEL**, **MENSOUS MOUHAMEDE**, **SLIMANI NOUREDINE**, Professeurs à la Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, Université Ouargla.

Nous agréables d'exprimer notre remerciement à tout notre ami et nos collègues qui nous a aide pour le bon achèvement de ce travail.

Nous dédions ce modeste travail à la mémoire de nos familles qu'ils reposent en paix, notre parent, source de tendresse et de courage, a nos frères, sœurs, nos beaux-frères, nos belles-sœurs, nièces et neveux,

A nos amis de spécialité de biotechnologie végétale qui font notre équilibre, pour leur présence dans notre vie.

Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante *Laurus nobilis* L

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de la plante *Laurus nobilis*.L. L'extraction d'huile essentielle de la partie arienne de *Laurus nobilis* L, a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation. Le test d'activité antimicrobienne sur cinq souches bactériennes (*Klebsilla pneumonie*, *Escherichia col*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloaceai*, *Enterococcus faecalis*), et une souche fongique (*Fusarium sporotrichioide*). Les résultats montrent que l'huile essentielle du *Laurus nobilise* L possède une faible activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition varie entre 7.3 et 10.2 mm en comparaison avec l'activité antifongique qu'elle atteindre une indice d'inhibition de 100 % avec la concentration de 250 µl qu'il représente le CMI.

Mots clés: *Laurus nobilis* L, huile essentielle, activité antibactérien, activité antifongique, inhibition.

دراسة النشاط المضاد للميكروبات لزيت الطيارة المستخلصة من نبات *Laurus nobilis* L

ملخص

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للميكروبات لزيت الطيارة لنبات *Laurus nobilis* L. تم استخلاص هذه الزيوت عن طريق التقطير البخار و اختبار نشاطها المضاد للميكروبات على خمس سلالات بكتيرية, *Klebsilla pneumonie*, *Escherichia col*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloaceai*, *Enterococcus faecalis* و سلالة فطرية *Fusarium sporotrichioide* أظهرت النتائج بأن الزيوت الطيارة لنبات *Laurus nobilis* L تمتلك نشاط ضعيف ضد السلالات البكتيرية بقطر تثبيط يتراوح من 7.3 الى 10.2 مم حسب السلالة البكتيرية و بالمقارنة مع نشاطها ضد السلالة الفطرية النتائج بينت ان نسبة تثبيط وصلت الى 100% عند التركيز 250 µl والذي يمثل التركيز التثبيطي الأدنى.

الكلمات الدالة : *Laurus nobilis* L, الزيوت الطيارة, نشاط ضد البكتيريا, نشاط ضد الفطر, تثبيط.

Study of the antimicrobial activity of essential oil extracted from *Laurus nobilis*.L plant

Abstract

Our work focuses on the study of the antimicrobial activity of essential oil of the plant *Laurus nobilis*.L. The extraction of essential oil of the Arian party of *Laurus nobilis* L, was obtained by hydrodistillation The test of antimicrobial activity performed for five bacterial strains (*Klebsilla pneumonie*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloaceai*, *Enterococcus faecalis*) and a fungal strain (*Fusarium sporotrichioide*).The results indicate that the essential oil of *Laurus nobilise* L has little antimicrobial activity with inhibition diameters between 7.3 and 10.2 mm in comparison with the antifungal activity that reached a value of 100% inhibition with 250 µl who represent the MIC.

Key words: *Laurus nobilis* L., essential oil, antibacterial activity, antifungal activity. Inhibition.

Table des matières

Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	page
Introduction.....	01
Chapitre I : Matériel et méthodes.....	07
I-1-Matériel.....	08
I-1-1- Matériel et produits de laboratoire	08
I-1-2- Matériel végétale.....	09
I-1-3- Matériel biologique.....	10
I-1-4- Milieu de culture.....	11
I-2- Méthodes.....	12
I-2-1- Extraction d' huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L.....	12
I-2-1-1- Dispositif d'extraction.....	12
I-2-1-2- Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	12
I-2-2- Activités antibactériennes.....	13
I-2-2-1- Préparation des disques.....	13
I-2-2-2- Préparation des précultures.....	13
I-2-2-3- Préparation des suspensions bactériennes.....	13
I-2-2-4- Tests de l'activité antibactérienne.....	13
I-2-2-4-1-Principe.....	13
I-2-2-4-2- Ensemencement.....	14
I-2-2-4-3- Lecture.....	16
I-2-2-4-4- Evaluation de zone d'inhibition.....	16
I-2-3- Activité antifongique.....	16
I-2-3-1-Préparation des différentes concentrations.....	16
I-2-3-2-Essai d'activité antifongique.....	16
I-2-3-3 - Evaluation de la croissance mycélienne.....	18
I-2-3-4- Détermination de l'indice antifongique.....	18
I-2-3-5- Détermination des concentrations minimale inhibitrices(CMI).....	18
I-2-3-6- Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC).....	18

I-2-3-7-Observation microscopique.....	18
I-3- Analyse statistique.....	18
Chapitre II : Résultats et discussion.....	19
II-1- Résultats.....	20
II-1-1- Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite.....	20
II-1-2- Activité antibactérienne.....	20
II-1-3- Activité antifongique.....	22
II-1-3-1- Evaluation de la croissance mycélienne.....	22
II-1-3-2- Inhibition de la croissance mycélienne.....	24
II-1-3-3- Indice antifongiques (IA).....	25
II-1-3-4-Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium sporotrichioides</i>	26
II-1-3-5- Observation microscopique.....	26
II-2- Discussion.....	28
Conclusion.....	32
Référence bibliographique.....	35
Annexes.....	42

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
CMI	Concentration minimal inhibitrice
B	Bactérie
D	Diamètre de la zone de croissance du chaque jour
Da	Diamètre de la zone de croissance de l'essai
Db	Diamètre de la zone de croissance du témoin
EC	<i>Escherichia coli</i>
En	<i>Enterococcus faecalis</i>
Ent	<i>Enterobacter cloaceai</i>
Eph	Eau physiologique
Fig	Figure
HE	Huile essentielle
IA	Indice antifongiques
KL	<i>Klebsilla pneumonie</i>
MH	Muller Hinton
PDA	Potato Dextrose Agar
Pr	<i>Proteus mirabilis</i>
T	Témoin
Te	Temps d'incubation
TIC	Taux d'inhibition de la croissance
VC	Vitesse de la croissance mycélienne

Liste des figures

N ^o de figure	Titre	Page
01	Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> L	09
02	Montage de l'Hydrodistillateur.	12
03	Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri	13
04	Protocole expérimentale de l'essai d'activité antibactérienne d'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L	15
05	Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L	17
06	Effet inhibiteur d'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i> L sur les souches testées	20
07	Effet inhibiteur d'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i> L sur les souches bactériennes testées.	21
08	Diamètre moyenne de la croissance mycélienne	23
09	Effet inhibiteur d'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i> L sur la souche fongique testée.	24
10	Indice antifongique de la croissance mycélienne	25
11	La vitesse de la croissance mycélienne du <i>Fusarium sporotrichioides</i> . sous l'effet de la croissance de la concentration d'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i> L	26
12	Aspect microscopique de <i>Fusarium sporotrichioides</i> avant(T(témoin) et après le traitement par l'huile essentielle du <i>Laurus nobilis</i> L a différent concentration.	27

Liste des photos

N° de photo	Titre	page
01	Dépôt des disques	14
02	Inoculement des disques mycéliennes	16

Liste des Tableaux

N° de Tableau	Titre	Page
01	Matériel de laboratoire	08
02	Valeurs des dilutions utilisées	16
03	Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L	22
04	Croissance mycélienne (mm) de <i>fusarium sporotrichioides</i> en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L	23
05	Indice antifongique (IA)	25

INTRODUCTION

Introduction

La valorisation de la filière des Plantes aromatiques et médicinales (PAM) est devenue indispensable dans un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore.

Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (**ANONYME, 2011**).

Les plantes renferment des composants chimiques qui se répartissent en des grands groupes: les protides, les glucides, les lipides et les acides nucléiques d'une part, les pigments, les tanins, les polymères, les hormones et les essences végétales dites huiles essentielles d'autre part. Les premiers sont les constituants du métabolisme primaire. Il existe en permanence au sein de la plante. Les autres proviennent du métabolisme secondaire et ne sont pas toujours présents chez les végétaux (**BOUAMER *et al.*, 2005**).

Un grand nombre de plante, aromatiques, médicinales des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvant applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture (**MOHAMEDI, 2006**).

Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (**BENKHNIGUE *et al.*, 2011**).

Les plantes aromatiques possèdent des extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faites de façon empirique. De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes aromatiques sont souvent liés aux produits des métabolisme secondaire qui produit des métabolites en faibles quantités, mais dont les applications dans différents domaines, particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance.

Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols (**HADDOUCHI *et al.*, 2008**). ces huiles sont nommé sous différents

noms: essences végétales, essences aromatique, huiles volatiles ou parfums (**BELKOU *et al.*, 2005**).

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologie végétales (**BOUKHATEM *et al.*, 2010**).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides.

Actuellement, leur utilisation en parfumerie et en alimentation est considérablement ; c'est pour quoi certain organisme de normalisation **AFNOR**, (2000) ont donné une définition beaucoup plus précise des huiles essentielles, l'huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Cette définition est restrictive : elle exclut d'une part les produits odorants d'origine animale, et d'autre part les essences obtenu selon d'autre procédés d'extraction (**HAMOUDI, 2008**).

Les huiles essentielles sont des molécules volatiles et odoriférantes, synthétisées grâce à l'énergie solaire, par les cellules sécrétrices (**BELKOU *et al.*, 2005**).

Ils sont constitués principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, Prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes. Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques. Ces essences peuvent être regroupées en cinq classes: les alcools, les aesters, les aldéhydes, les cétones et les lactones (**CHAVES *et al.*, 2008**).

On rencontre les huiles essentielles dans divers famille botanique elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et forment dans le cytoplasme de cellules spécialisée (**BELKOU *et al.*, 2005**).

Ils n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent et en particulier les Apiaceae(Coriandre), Lamiaceae (Menthe), Lauraceae (laurier), Rutaceae(Citron), Zingiberaceae, etc. (**BENKEDA, 1990**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes, par exemple, dans les sommités fleuries (Menthe, Lavande,...), les feuilles (Eucalyptus, Laurier, ...), les rhizomes (Gingembre, ...), les fruits (Agrumes, Badiane, Anis, ...), les écorces (Cannelle, ...)

et les graines (Muscades, ...) (**BOUAMER *et al.*, 2005**). Ils peuvent s'accumuler dans des cellules isolées qui se distinguent des cellules banales par leur teinte plus jaune et leurs parois épaisses, légèrement subérifiées. C'est le cas chez les Lauracées. Elles peuvent former de fines gouttelettes parsemant le protoplasme de cellules épidermiques (épiderme supérieur des pétales de rose). Mais généralement les épidermes des pétales de fleurs odorantes ne contiennent pas de grosses réserves d'essence .

Mais fréquemment les huiles essentielles s'accumulent en forte quantité en dehors du cytoplasme, soit en repoussant la cuticule (cas de nombreux poils glandulaires), soit en se déversant dans la lumière extracellulaire de canaux sécréteurs (Ombellifères, conifères) ou de poche sécrétrices (citrus) (**BINET *et al.*, 1968**).

Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique (**DUNG *et al.*, 2008**).

Dans le règne végétal, les huiles essentielles ont deux fonctions principales:

- Protéger les parties durables des plantes contre les insectes nuisibles et herbivores (protection contre les prédateurs de la plante) et résister aux attaques microbiennes (bactéries et champignons,...).
- Inhiber la germination ou au contraire, favoriser la pollinisation en attirant les insectes pollinisateurs.

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles sont une ressource énergétique et catalytique, facilitant certaines réactions chimiques (**BENKADA, 1990**)

L'extraction des huiles essentielles 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. Des nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction de ces substances telle que l'entraînement à la vapeur d'eau, extraction par solvant organique, l'hydrodistillation (**SALLE, 2004**), le principe de cette dernière basé sur l'immersion directe de matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**BELYAGOUBI, 2006**).

Les bactéries appartiennent au vaste ensemble des microorganismes qui comprennent également les virus, les champignons, les parasites. Les bactéries pathogènes pour l'homme sont à l'origine de multiples maladies infectieuses. En 1995, les maladies infectieuses ont été

responsables d'un tiers des décès dans le monde. Dans les pays développés, les antibiotiques et les vaccins ont permis de juguler ce fléau (NATHALIE, 2006).

Certaines espèces microbiennes pathogènes, sont de moins en moins sensibles aux antibiotiques et développent des résistances multiples est à l'ordre du jour. L'usage des huiles essentielles, grâce à leur forte action antimicrobienne développé depuis plus d'une vingtaine d'années, constitue un sérieux substitue au traitement par les antibiotiques dans les pathologies infectieuses (PIBIRI, 2006).

Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles ainsi que les effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes a mené les chercheurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (GARNERO, 1991).

Les constituants des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons.

Parmi les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux *Abiaceae* (Origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle) sont d'autant des plantes aromatique à huiles essentielles riche en composés phénolique comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (PAULI, 2001).

BELLETTI *et al.*(2004), ont démontré que les huiles essentielles de *citrus* sont efficaces contre les bactéries pathogènes, les spores bactériennes, mais également sur certaines bactéries responsables de toxi-infection alimentaire telles que: *Mycobacterium jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *E.coli O157:H7*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyphimurium*, et *Acrobacter butzleri*.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (OURAINI *et al.*, 2005) et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure), *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (TEIXEIRADUARTE, 2005). Des travaux similaires ont été réalisés par MOHAMMEDI, (2006) sur l'huile essentielle de *cistus ladaniferus* contre sept moisissures: *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Pencillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*; ont démontré que les huiles essentielles de thym, de la sarriette et du clou de girofle présentent une activité antifongique «in vitro» contre *Aspergillus flavus*.

Les huiles essentielles de *citrus*: d'orange douce, de citron, de mandarine et, pamplemousse montrent une activité antifongique contre *Aspergillus niger*, *A.flavus*, *penicillium chrysogenum* et *P.verrucosum* (**HELLAL, 2011**).

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité biologique d'huile essentielle extraire de la plante *Laurus nobilis* L qu'elle est un épice utilisé surtout dans la cuisson des aliments ou pour l'assaisonnement et elle possède différentes caractéristiques aromatique culinaire et médicales.

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

I- Matériel et méthodes

L’objectif de ce travail est de mettre en évidence un éventuel effet antimicrobien d’huile essentielle extrait à partir de l’espèce *Laurus nobilis* L.

I-1- Matériel

I-1-1- Matérielles et produits de laboratoire

Les verreries et l’appareillage, les milieux de culture ainsi que le solvant utilisé au cours de la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau n° 01:

Tableau n° 01: Matériel et produits de laboratoire

verreries et appareillage	milieux de culture	solvant utilisés
Ampoule à décanter	Gélose Mueller Hinton	Eau distillée
Autoclave	(MH)	Eau physiologique
Bain marie	Gélose pomme de terre	
Balance analytique	glucosée et gélosée (PDA)	
Béchers		
Boîtes de pétri		
Erlenmeyer		
Etuve de 37°C et 20°C		
Hydrodistillateur		
La hotte		
Lames et lamellés		
Microscope optique		
Pipettes pasteur		
Réfrigérateur		
Tubes à essai		

I-1-2- Matériel végétale

Laurus nobilis L. appartient de la famille de Lauraceae. Est une plante spontanée ou cultivée, arbres ou arbuste originaire d'Asie mineure répandu sur le pourtour méditerrané.

(HADDOUCHI *et al*, 2008).

C'est une plante aromatique à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut. Ses feuilles sont alternés, coriaces, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large, persistantes vert foncé et glacés sur leur face supérieure et plus pâle en dessous. Les fleurs sont petites dioïques, jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles. Le fruit est une petite baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité Les feuilles de cette plante ont été utilisées pour traiter l'épilepsie, neurologie et parkinsonisme. L'huile obtenir a partir des feuilles de cette plante a été utilisé pour soulager les douleurs des hémorroïdes et rhumatismales (YAKHLEF, 2010)

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

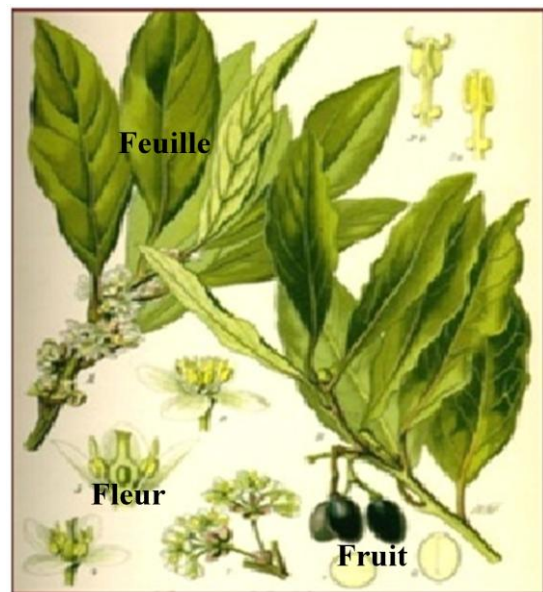


Fig. n°01 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (BELOUED, 2005).

La plante utilisée dans ce travail a été achetée au marché local de Ouargla qu'elle été introduit de la wilaya de Annaba à l'état frais au mois de mars. Parmi les critères de choix de cette espèce : son importance majeure en médecine et dans l'usage quotidien dans en cuisine Algérienne d'une part, et le manque de travaux de recherche sur les propriétés biologiques, en particulier le pouvoir antimicrobien de leur huile essentielle d'autre part.

I-1-3- Matériel biologique

Les souches utilisées dans notre étude font partie de deux groupes des microorganismes, qui sont des microorganismes pathogènes et microorganisme contaminant. Les tests sont réalisés sur cinq souches bactériennes et une souche fongique.

Dans notre travail nous avons retenu les espèces suivantes :

1. Cocci à Gram positif

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Bactérie commensale à Gram positif de la famille Enterococcaceae, elle se trouve dans le tube digestif humains et d'autres mammifères, causer des infections mortelles chez l'homme et le singe, particulièrement dans un environnement hospitalier. Elle peut aussi déclencher des inflammations chroniques de l'intestin.

2. Bacilles à Gram négatif

- *Escherichia coli* ATCC 25922

Bacille à Gram négatif appartenant à la famille des Entérobactériaceae (HART et SHEARS, 2002), hôte normale du tube digestif de l'homme et des animaux (CHAKOU *et al*, 2007), responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites (HART et SHEARS, 2002).

- *Enterobacter cloacae* ATCC 13047

Bacilles à Gram négatif de famille Enterobacteriaceae, mobiles, non sporulés présent dans l'environnement mais il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et des animaux, responsable de l'infection urinaire, bactériémie, infection respiratoire, suppurations diverses et l'infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à *Bacillus cereus* (DANIELLE CLAVE, 2011).

- *Klebsilla pneumonie* ATCC 700603

Genre de bactérie, non mobiles de famille Enterobacteriaceae, capsulés avec des colonies à aspect de muqueuses. (GARBONNELLE *et al*, 1987). Il se trouve dans les matières fécales de l'homme et des animaux, elle provoque les bronchites, broncho-pneumonies, pleurésies, infections urinaires et septicémies. (NATHALIE, 2006).

- *Proteus mirabilis* ATCC 49452

Bacilles à Gram négatif, mobiles de famille Enterobacteriaceae, trouvant dans le sol, l'eau d'égouts et font partie de la flore fécale normale provoquent des infections urinaires, plaies, méningites, septicémies (BEERNESH *et al.*, 1996).

3. *Fusarium sporotrichioide*

C'est une souche fongique de la famille Hypocreaceae productrice de mycotoxine caractérisé par la présence des Mycélium aérien, *Sporodochia* et des Chlamydospores. (ANONYME, 2008).

Le *Fusarium sporotrichioide* est très répandue sur les plantes et dans le sol dans les régions froides et fraîches du monde (KULIK *et al.*, 2004), peuvent infecter les épis, les tiges et les racines du maïs du semis à la récolte. Entraînent des pertes de rendement et contaminent la récolte avec des substances toxiques.(DORN.D *et al.*, 2007).

I-1-4- Milieu de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieux de culture les suivants:

* Pour tester l'activité biologique des souches bactériennes nous avons utilisé le milieu gélose Muller Hinton (MH) ; Ce milieu est composé de:

- 2 g d'infusion de viande de bœuf.
- 17,5 g de peptone de caséine.
- 1,5 g d'amidon.
- 17 g d'agar.

Ces compositions sont fondues dans 1L d'eau distillée (HELLAL, 2011).

*Pour évaluer l'activité antifongique, nous avons utilisé le PDA (Potato Dextrose Agar ou pomme de terre glucosée et gélosée) ;Ce milieu est composé de:

- 200 g de pommes de terre pelées
- 1L d'eau distillé .
- 20 g de glucose
- 15 à 20 g de gélose. (DAVET et ROUXEL, 1997).

I-2- Méthode

I-2-1- Extraction d' huile essentielle de *laurus nobilis* L.

I-2-1-1-Dispositif d'extraction

L'extraction d'huile essentielle à été effectuée par hydrodistillation (Figure n° 02), il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée.

La matière végétale (dans notre cas *Laurus nobilis*.L) est immergée directement dans un ballon rempli d'eau, placé sur une source de chaleur (Chauffe-ballon), le tout est en suite porté à l' ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant puis elle récupérées dans une ampoule à décanter et l'huile essentielle se séparé de l'hydrolat par simple différence de densité (HELLLAL, 2011).

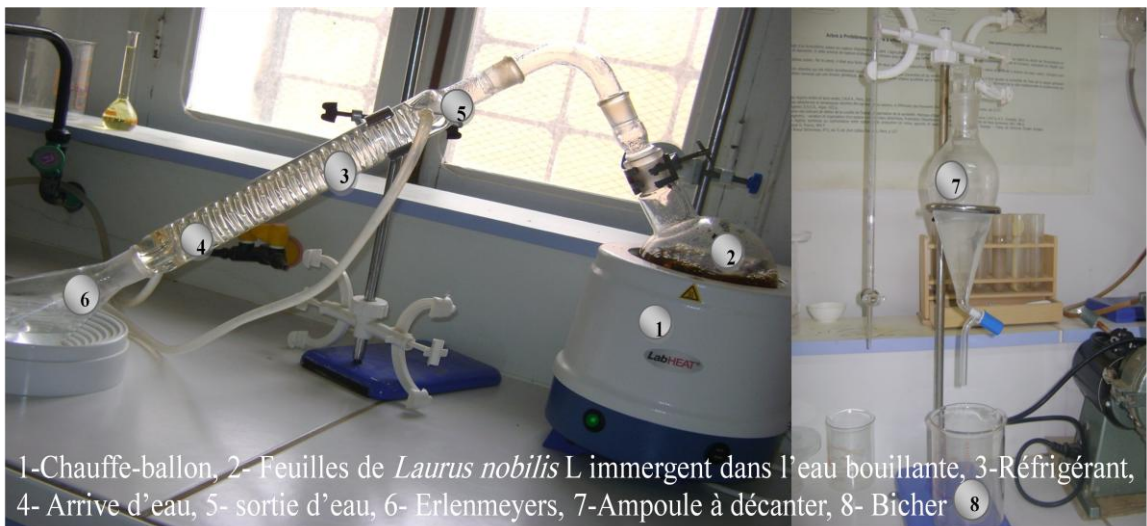


Fig n° 02 : Montage de l'Hydrodistillateur .

I-2-1-2- Conservation de l'huile essentielle obtenue

L'huile essentielle extrait est conservée dans un tube en verre fermés hermétiquement et mise à 4°C. Nous avons déshydraté l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. par la méthode de congélation d'eau sans congélation d'huile. Ensuit l'huile prélever et le conservée à une basse température dans un tube en verre fermé hermétiquement et couvrez par un papier d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière.

I-2-2- Activités antibactériennes

I-2-2-1- Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir du papier wattman N3 de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 15 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé)

I-2-2-2- Préparation des précultures

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37°C afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

I-2-2-3- Préparation des suspensions bactériennes

A l'aide d'une pipette Pasteur nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée et laissée sur la paillasse pendant 30 minutes (OMS, 2005).

I-2-2-4- Tests de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne est effectuée par diffusion ou de chromatogrammes

I-2-2-4-1- principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. (HELLAL, 2011).

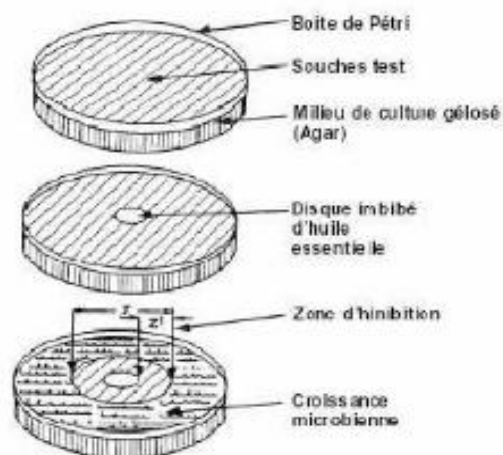


Fig. n° 03: Illustration de la méthode des chromatogrammes sur boîte de Pétri (ZAIKA, 1988)

L'évaluation de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle du *Laurus nobilis* L à été faite sur 5 souches bactériennes.

Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de huile essentielle (PONCE *et al.*, 2003).

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm .

Sensible (+): diamètre entre 9 à 14mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm .

Extrêmement sensible (+++): diamètre >20mm .

I-2-2-4-2- Ensemencement

15 ml de la gélose MH est coulé dans des boîtes de Pétri. Après le refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paillasse, 300µl de suspension bactérienne à tester sont étalés en surface de gélose pour chaque boîte par la méthode de versement d'une tapis puis on laisse sur la paillasse pendant 30 minute .Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques imbibés par l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. sont déposés sur le gélose (3disques/boîte) et pour le témoin on a mite des disque sans huile (1disques/boîte) (photo n°1). Les boîtes sont ensuite fermées et incubée à température de 37°C pendant 18 heures (figure n°4).

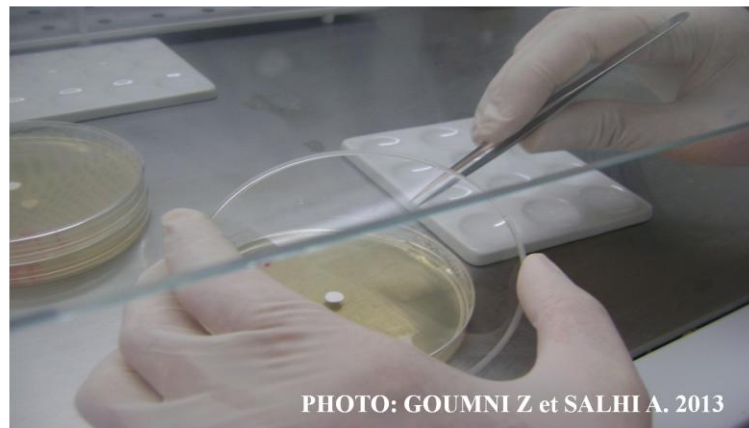
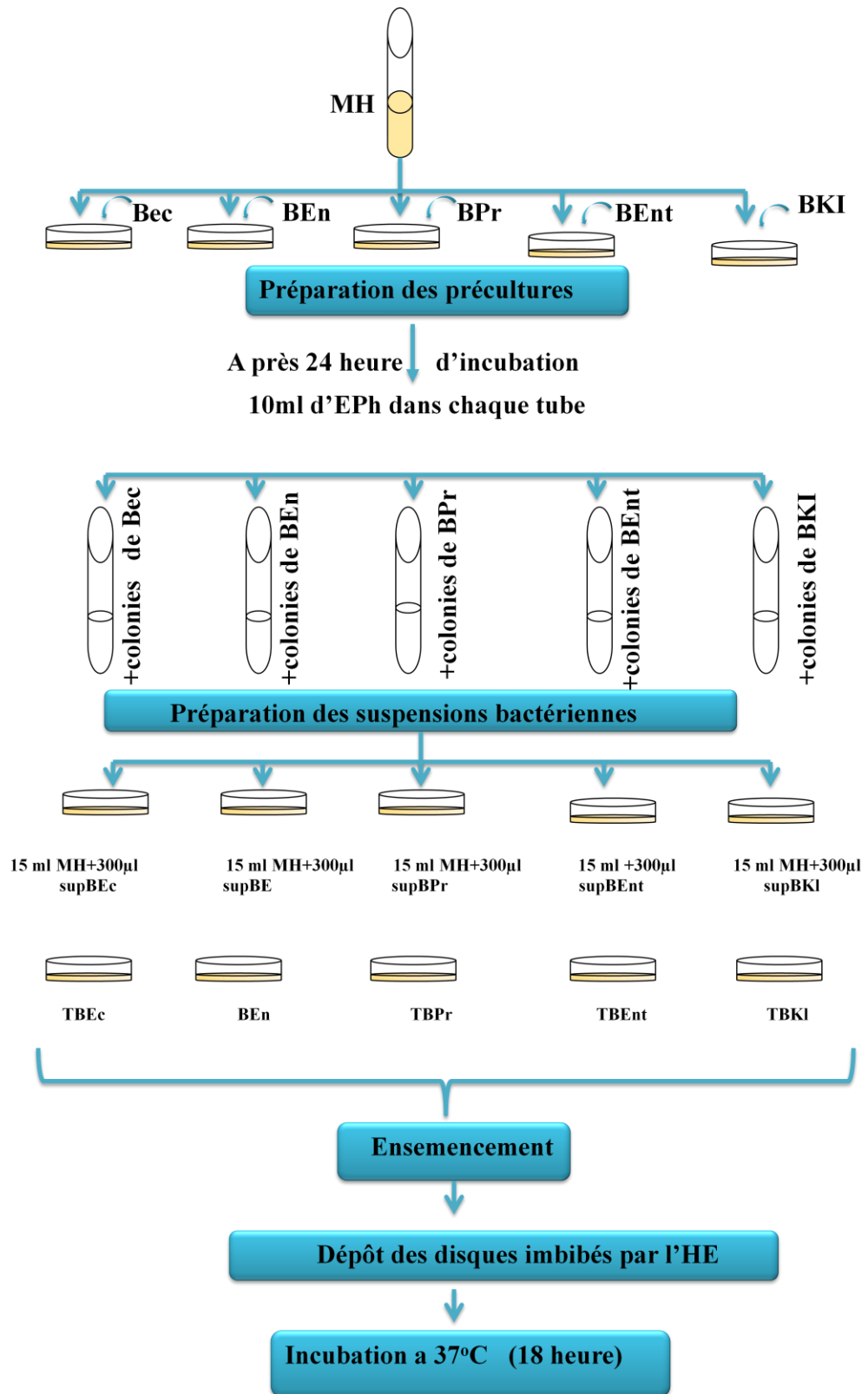


Photo n° 01 : Dépôt des disques



B : bactérie, *T* :Témoin *Ec* : *Escherichia coli* (ATCC25922), *En* :*Enterobacter cloaceai* (ATCC13047),*Pr* :*Proteus mirabilis*(ATCC49452), *En* :*Enterococcus feacalis*(ATCC29212), *Kl* : *Klebseilla pneumonie*(ATCC700603). *Eph* : Eau physiologique, *sup* : suspension

Fig. n°04 : Protocole expérimentale de l'essai d'activité antibactérienne d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

I-2-2-4-3- Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm.

I-2-2-4-4- Evaluation de zone d'inhibition

La zone d'inhibition a été évaluée après 18 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche.

I-2-3- Activité antifongique

Pour la réalisation de l'activité antifongique on a adopté la méthode de contacte direct

I-2-3-1- Préparation des différentes concentrations

Pour préparer les différentes concentrations on prélève des quantités d'huile essentielle (HE) du *Laurus nobilis* L (25, 125 et 250 µl) et ajuster a 50 ml par PDA puis on agite pendant 5 minute pour homogènes le milieu de PDA avec l'huile essentielle (Tableau 02).

Tableau 02: Valeurs des dilutions utilisées

Rapport de dilution (HE /PDA)	0	1/2000	1/400	1/200
µl HE/50mlPDA	0	25	125	250
Concentrations d'HE(%)	0	0.05	0.25	0.5

I-2-3-2- Essai d'activité antifongique

15 ml de mélange (PDA + HE) a été coulé dans des boites de Pétri, Après le refroidissement et la solidification de cette mélange sur la paillasse des disques mycélien de diamètre de 5mm de diamètre issue de la marge d'une culture âgée de *Fusarium sporotrichioides* ont été prélevée avec un emporte pièce et inoculé au centre de chaque boite (1disque/boite) (Photo 02). Chaque concentration est répéter trois fois. Les boites sont incubées dans d'obscurité à température de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$; Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans huile essentielles et les mesures sont prélevées après 72 h d'incubation (figure 05).

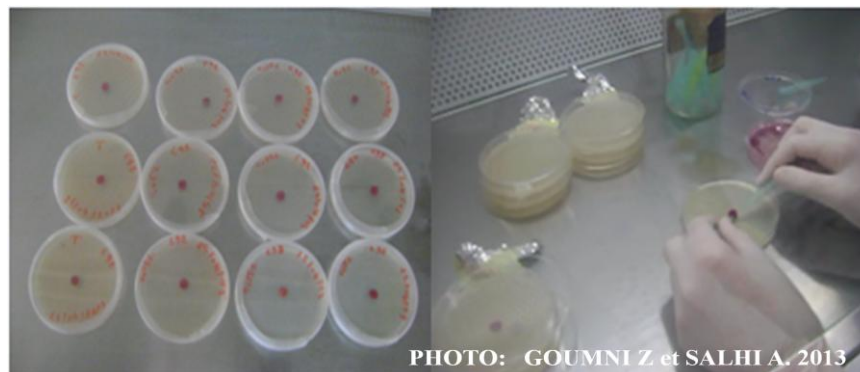


Photo n°02: Inoculation des disques mycéliennes

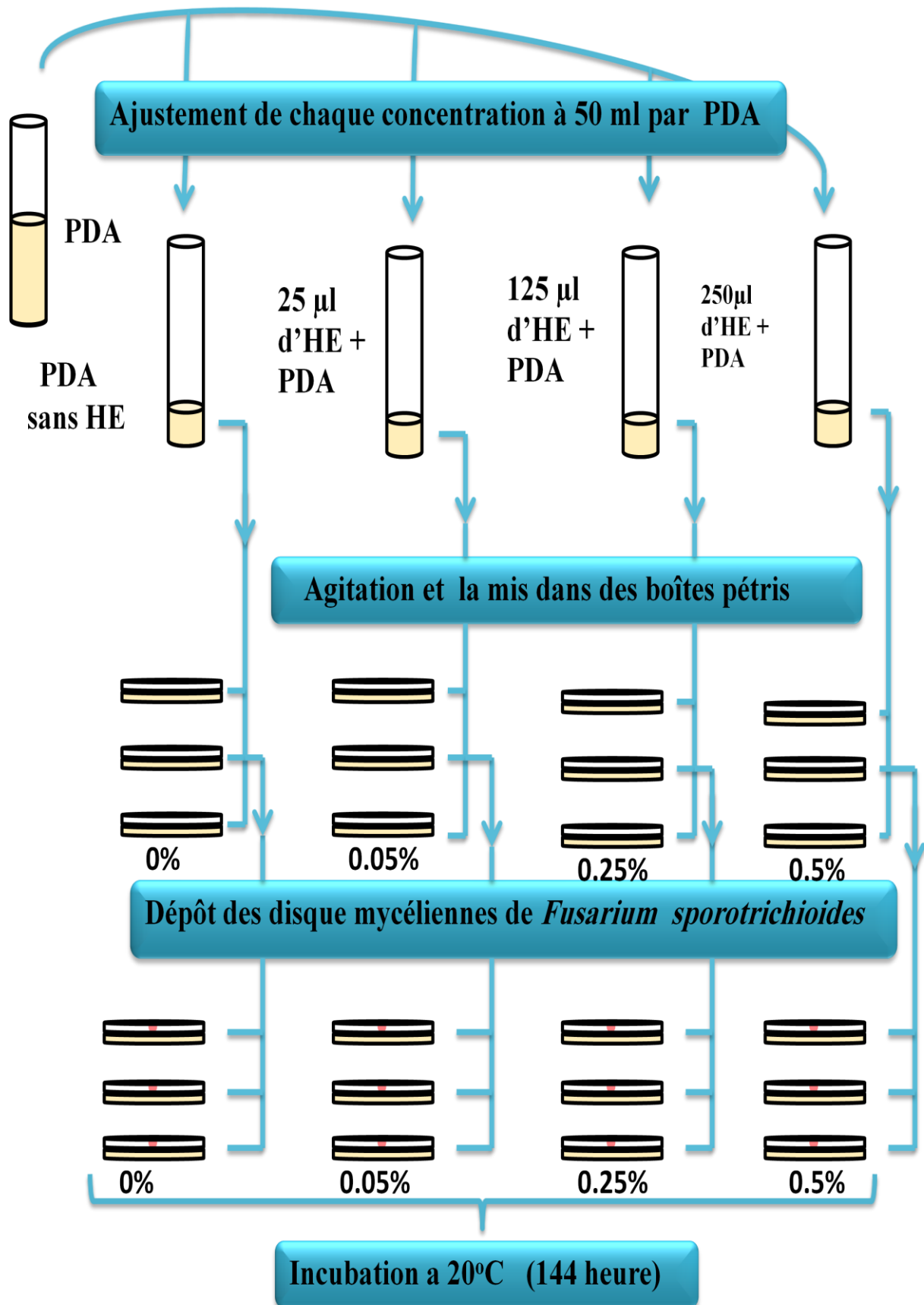


Fig. n°05 : Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

I-2-3-3- Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle.

Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils ont démarré le même jour et dans les mêmes conditions.

Toute pousse même légère de champignon sera considérée comme action négative c'est à dire que l'huile essentielle en question n'est pas inhibitrice vis-à-vis de la croissance fongique.

I-2-3-4- Détermination de l'indice antifongique

Après l'incubation en tenant compte de la croissance de témoin, on calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule (CHANG *et al.*,1999):

$$IA = (1 - Da/Db) \times 100$$

Da: diamètre de la zone de croissance de l'essai.

Db: diamètre de la zone de croissance du témoin.

I-2-3-5- Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI)

Il s'agit en parallèle d'évaluer la plus petite concentration pour laquelle aucun développement n'est visible à l'œil nu.

I-2-3-6- Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

La vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule:

$$VC = [D_1/Te_1] + [(D_2 - D_1)/Te_2] + [(D_3 - D_2)/Te_3] + \dots + [(D_n - D_{n-1})/Te_n]$$

D: diamètre de la zone de croissance du chaque jour.

Te: temps d'incubation.

I-2-3-7- Observation microscopique

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une anse stérile on prélève un échantillon mince de la marge des *Fusarium sporotrichioides* obtenu pour chaque concentration et mis dans un goutte d'eau distillé entre lame et lamelle et l'on observe à l'aide de microscope optique.

I-3- Analyse statistique

L'analyse statistique (tableaux, histogrammes, courbe) des données traitées par un logiciel Excel stat 2007 pour la détermination de la signification des résultats.

CHAPITRE II

RÉSULTATS ET DISCUSSION

II- Résultats et discussion

II-1- Résultats

II-1-1- Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite

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

II-1-2- Activité antibactérienne

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L vis-à-vis de cinq souches bactériennes.

Les résultats sont vérifiés par le test statistique (tableau 02Annexe 02) à l'aide de l'analyse de la Variance révèlent que les diamètres des zones d'inhibition est significatif entre la différente souche testées ($P \leq 0.05$).

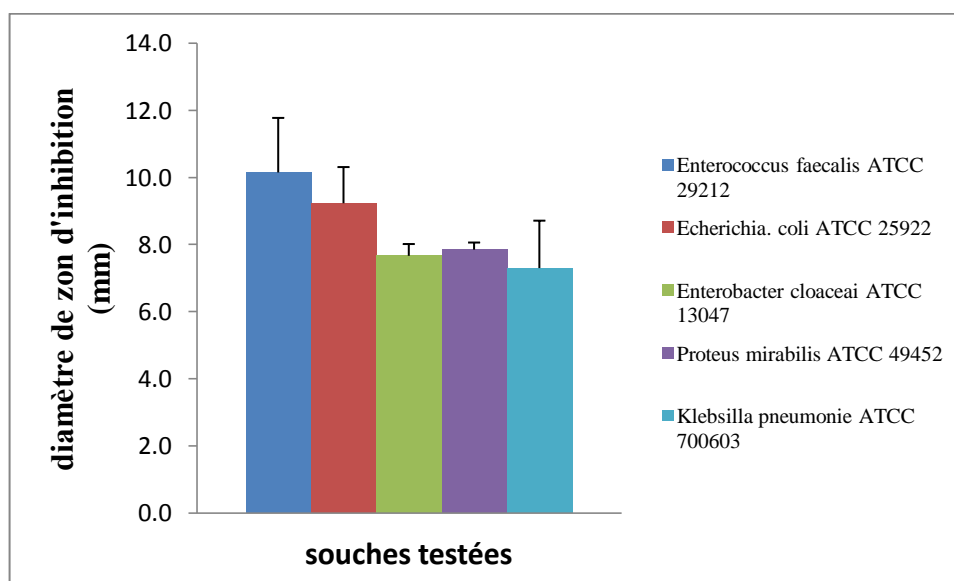
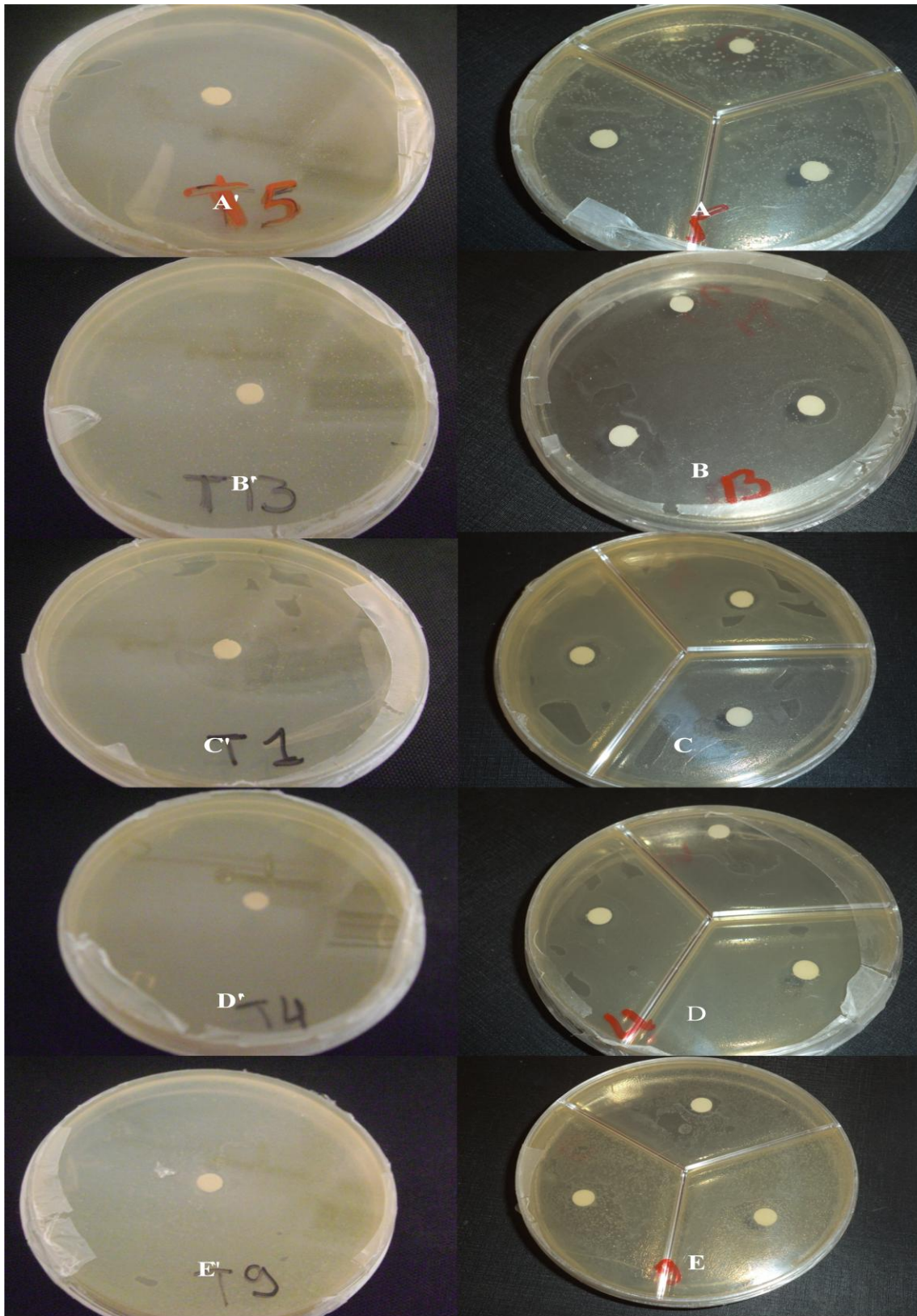


Fig. n°06: Effet inhibiteur d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L sur les souches testées

D'après la figure n°06 et 07 nous constatons facilement que l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L est présentée une certaine activité modérée dont les diamètres des zones d'inhibition n'ont dépassé 10.2 mm



A: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, A': Témoin *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, B: *Escherichia coli* ATCC 25922, B': Témoin *Escherichia coli* ATCC 25922, C: *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, C': Témoin *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, D: *Proteus mirabilis* ATCC 49452, D': Témoin *Proteus mirabilis* ATCC 49452, E: *Klebsilla pneumoni*e ATCC 700603, E': Témoin *Klebsilla pneumoni*e ATCC 700603

Fig. n°7: Effet inhibiteur d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L sur les souches bactériennes testées.

On observe que les différentes souches bactériennes étudiées réagissent différemment à l'huile essentielle testée, même s'il s'agit de deux souches d'une même famille bactérienne telle qu'*Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacei* ATCC 13047, *Klebsilla pneumonie* ATCC 700603, *Proteus mirabilis* ATCC 49452.

Les résultats du test de sensibilité microbienne à l'huile essentielle sont regroupés dans le tableau n° 03. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

Tableau n° 03: Diamètres (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L

les souches testées	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité à l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> L
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10.2 ± 1.6	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9.2 ± 1.1	+
<i>Enterobacter cloacei</i> ATCC 13047	7.7 ± 0.4	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 49452	7.9 ± 0.2	-
<i>Klebseilla pneumonie</i> ATCC 700603	7.3 ± 1.4	-

(+) sensible, (-) résistant

Le pouvoir antibactérienne d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L le plus élevé a été observé contre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Escherichia coli* ATCC 25922 dont le diamètre est de quelque millimètres, d'environ 10.2 et 9.2 mm respectivement, les autres souches : *Enterobacter cloacei* ATCC 13047, *Proteus mirabilis* ATCC 49452 et *Klebseilla pneumonie* ATCC 700603 ont des diamètres des zones d'inhibitions moins de 8 mm (7.7, 7.9 et 7.3 respectivement).

II-1-3- Activité antifongique

II-1-3-1- Evaluation de la croissance mycélienne

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Le test de l'analyse de Variance (tableau 03Annexe 02) montré que l'effet de concentration a une différence très hautement significatif ($P \leq 0.001$) sur la croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioides*.

Les résultats de diamètre de l'activité antifongique d'huile essentielle de *Laurus nobilis* L sont présentés dans le tableau n° 04. Elles varient entre 0 et 85 mm (y compris le diamètre de disque).

Tableau n°04: Croissance mycélienne (mm) de *Fusarium sporotrichioides* en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

	72 h	96 h	120h	144h
Témoin	55	68	84	85
0.05%	19	24	31	39
0.25%	0	4	13	18
0.5%	0	0	0	0

Avec les différentes concentrations d'huile essentielle extraite, on observe que la croissance mycélienne est remarquable après 72 h pour le témoin et la concentration 0.05% et il est démarre après les 96 heures pour la concentration de 0.25%, au-delà de cette concentration on n'observe aucune croissance.

En montrant qu'il y a une augmentation de la croissance mycélienne avec le temps d'incubation à l'exception de la concentration 0.5% qu'il ne présente aucune croissance mycélienne.

L'analyse statistique montre que le témoin présente une différence de croissance mycélienne du 72 h à 144 h.

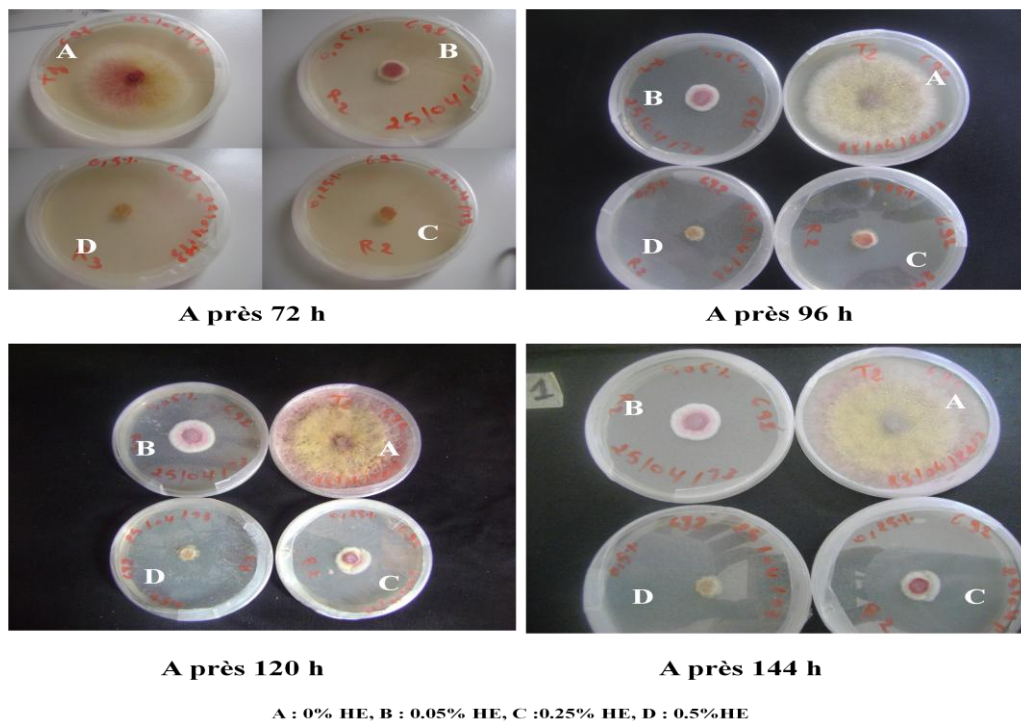


Fig. n°8 : Diamètre moyenne de la croissance mycélienne

D'après la figure 08 on peut noter qu'il ya un changement morphologique de la couleur des mycéliums qu'il est variée de jaune, blanc, rouge.

Par comparaison au témoin (0% huile essentielle) qu'il présent un couleur de base des colonies de couleur jaune ayant micelles gonflées et un aspect poudreux, comme du coton, tourné du rouge après 96 h. A la fin de cette période, la taille de la colonie atteint 85mm, dans la concentration 0.05% la couleur de base des colonies de couleur blanc tourné du rouge après 96 heure, la concentration 0.25% présente seulement un couleur de base des colonies de couleur blanc, tandis que dans la concentration 0.5% où on a aucun croissance mycélienne mais la couleur de disque lui même est transformer en jaune.

II-1-3-2- Inhibition de la croissance mycélienne

La figure n° 09 montre que la croissance mycélienne est réduit par l'augmentation de la concentration d'huile essentielle jusqu'à 0.5% où aucune croissance n'est observées.

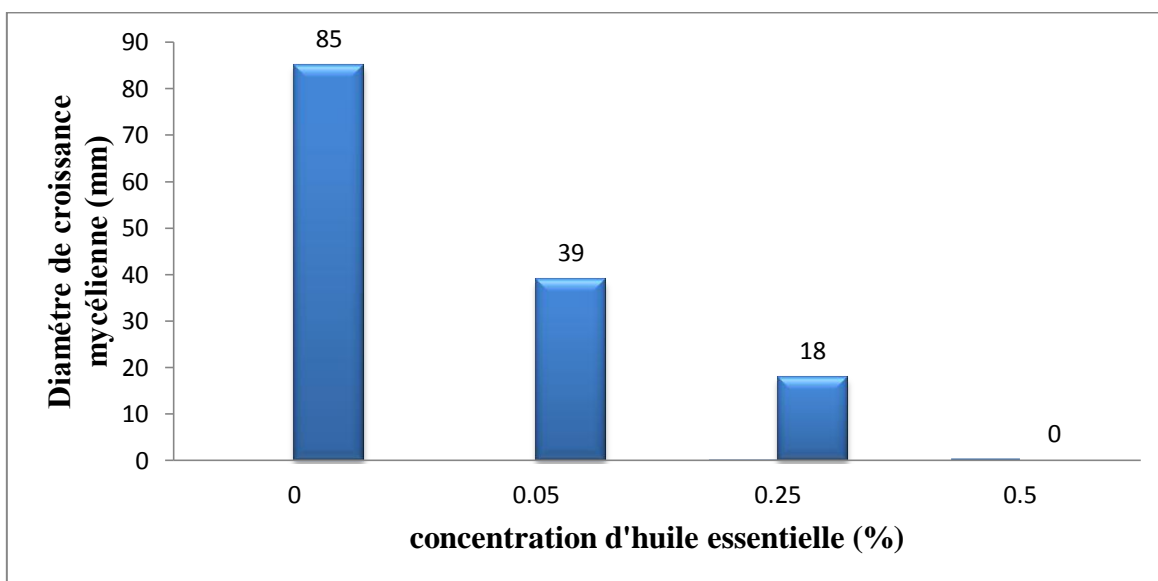


Fig. n° 09: Effet inhibiteur d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L sur la souche fongique testé.

Le plus grand diamètre de croissance mycélienne a été enregistré à la concentration qu'il correspond l'absence d'huile essentielle (témoin) avec un diamètre de croissance de 85mm ensuite la concentration 0.05% avec un diamètre de croissance de 39 mm puis la concentration 0.25% avec un diamètre de croissance de 18 mm et en fin la concentration 0.5% qu'il non présent aucun croissance mycélienne.

II-1-3-3- Indice antifongiques (IA)

L'indice antifongique est la concentration qui inhibe 50% la croissance mycélienne, à l'aide de l'analyse de la Variance (tableau 04Annexe 02), on peut constater que l'indice antifongique est très hautement significatif ($P \leq 0.001$) pour les différentes concentrations.

En remarquant que toutes les concentrations d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L appliquées ont empêché, partiellement (0.05%, 0.25%) ou complètement (0.5%), la croissance des souches fongiques testées.

Les indices ont été déterminés graphiquement (figure n° 10) et sont récapitulés dans le tableau n°05.

Tableau n°05: indice antifongique (IA)

IA %	72 h	96 h	120 h	144h
0.05	65.3	64.3	62.6	54.4
0.25	100	93.8	84.1	79.1
0.5	100	100	100	100

Les indices antifongiques sont augmentés avec l'augmentation de la concentration d'huile essentielle, il dépasse 50% dans toutes les concentrations et varie entre 54.4% et 100% qu'il a été remarqué par l'application d'une concentration d'huile essentielle de 0.5%.

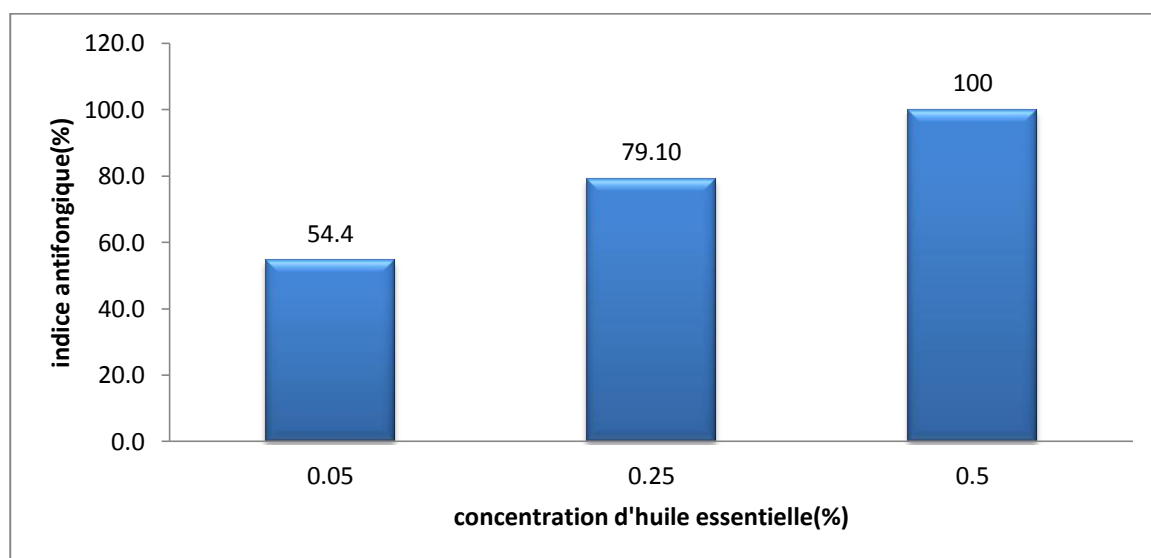


Fig. n°10: Indice de la croissance mycélienne

La figure n° 10 et le tableau n° 05 montrent que la concentration minimale inhibitrice est de l'ordre de quelques pourcents avec une bonne efficacité antifongique manifestée par l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. En effet, pour cette dernière la CMI est de 0.5%.

II-1-3-4- Vitesse de la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichioides*

Les résultats sont vérifiés par le test statistique (tableau 05Annexe 02) à l'aide de l'analyse de la Vitesse de la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichioides*, qui révèlent que les traitements d'indice antifongique est non significative ($P>0.05$).

Les résultats de figure n° 11 montrés que la vitesse de la croissance mycélienne est décroître par l'augmentation de la concentration d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

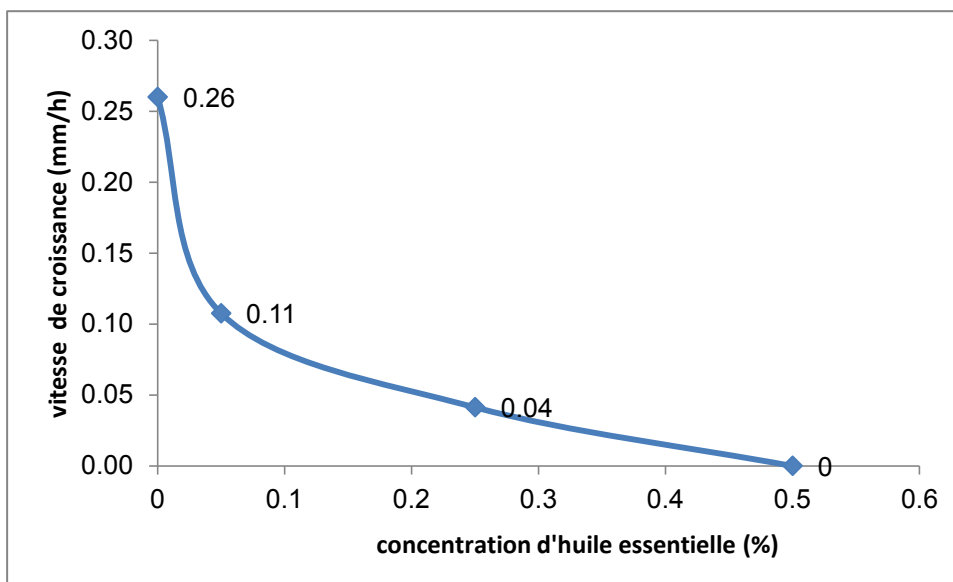


Fig. n°11: La vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioides* sous l'effet de la croissance de la concentration d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L

La plus haute vitesse de croissance mycélienne est enregistrée à 0% en absence d'huile essentielle avec une vitesse de 0.26 mm/h puis la vitesse est décroître jusqu'à l'inhibition totale (0mm/h) dans la concentration 0.5% d'huile essentielle.

II-1-3-5- Observation microscopique

L'observation microscopique est par comparaison au témoin montre une diminution dans les diamètres, les tailles et le nombre de mycélium (Témoin >0.05%>0.25%>0.5%), déchirure (0.5%) ou commencement d'une déchirure (0.05% et 0.25%) de mycélium ainsi que la couleur (figure n°12).

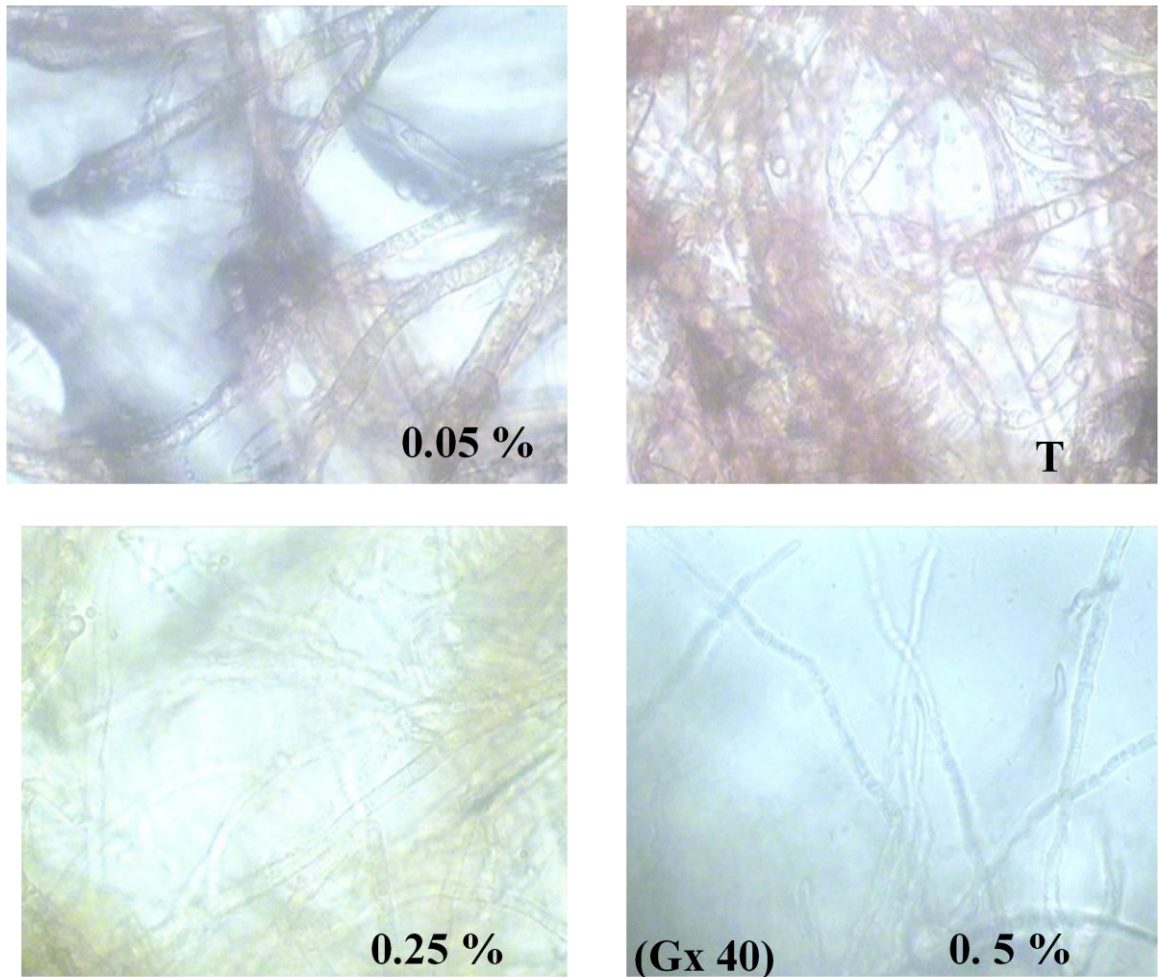


Fig. n°12: Aspect microscopique de *Fusarium sporotrichioides* avant(T (témoin) et après le traitement par l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L a différent concentration.

Les mycéliums ayant une apparence d'aiguille, structures transparentes avec des endroits rouges et jaunes pour le témoin et la concentration 0.05% et jaune pour la concentration 0.25%, la concentration 0.5% non présentant aucun couleur (transparente).

II-2- Discussion

Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne, ceci a été déjà rapporté par **SOUTHWELL et al. (1993)**.

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L vis-à-vis des bactéries testées. Les résultats indiquent que l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L représente un certain degré d'activité contre les souches testées ce qui est confirmé par les travaux de **ZIMMERMANN (1998)**.

Selon la classification de **PONCE et al. (2003)**, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Escherichia coli* ATCC 25922 présentant une sensibilité non négligeable à l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L.

L'huile essentielle du *Laurus nobilis* L n'a pas montré une activité antibactérienne intéressante ce résultat est comparable à celle de travaux de **YAKHLEF, 2010** sur l'extrait de feuille du *Laurus nobilis* L, il trouve que les extraits du *Laurus nobilis* possèdent une capacité antimicrobienne mais faible en comparaison avec les extraits du *Thymus vulgaris*. Cette faible efficacité est semblable due probablement à la perte des composés volatils d'huile essentielle durant l'extraction. Donc, il serait rentable d'essayer un autre procédé d'extraction pour obtenir d'huile essentielle efficace du point de vue de l'activité antibactérienne. Cette faible efficacité pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.

Les données indiquent que les deux souches *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Escherichia coli* ATCC 25922 étant les souches les plus sensibles à l'huile essentielle du *Laurus nobilis* avec un diamètre de 10.2 et 9.2 mm respectivement par rapport aux autres souches *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Proteus mirabilis* ATCC 49452 (7.9mm) et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, qui présentent une résistance à cette huile essentielle avec des diamètres de 7.7, 7.9, et 7.3 mm respectivement la dernière diamètre est proche de celui obtenu par **DERWICH E et al(2009)**.

L'huile essentielle du *thymus fontanesii* à une activité inhibitrice de 33 mm sur la bactérie *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (**MEBARKI, 2010**) par rapport à notre huile qui présente une activité inhibitrice de 9.2 mm sur la même souche.

Escherichia coli par leur diamètre de sensibilité (10 mm) de notre huile essentielle est proche de ce que les travaux de **HADDOUCHI et al., (2008)** avec un diamètre de 8 à 9 mm et qu'il

est trouvé que cette huile à une activité faible par rapport l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* avec un diamètre de 20 mm.

D'après l'essai de **MOHAMMEDI (2006)** l'activité d'huile essentielle des plantes testées la bactérie, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 présente une sensibilité différente sur ces huiles qu'il est plus haut que notre huile essentielle (7.3 mm) concernant les deux espèces *Thymus fontanesii* (88mm) et *Cistus ladaniferus* (33 mm) par contre l'huile essentielle du *Smyrium alusatrum* qu'il a aucun effet sur cette germe.

A partir de ces comparaisons on peut dire que l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L à une faible activité antibactérienne contre ces souches testées, ainsi que nous prouvons constater que l'activité antibactérienne dépend de la qualité d'huile essentielle d'un part est dans un autre part de la souche bactérienne elle-même. Plusieurs études testant l'activité inhibitrice d'huile essentielle confirment ce résultat telle que **KALEMBA et KUNICKA (2003)**, qu'ils ont constaté que la sensibilité d'un microorganisme à l'huile essentielle dépend des propriétés de l'huile essentielle et le microorganisme elle-même.

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**).

A l'inverse, **CELIKEL et KAVAS (2008)** ont souligné, que l'action d'huile essentielle volatiles a peu d'influence sur l'inhibition de la croissance de bactéries à Gram négatif peu d'influence sur l'inhibition de la croissance de bactéries à Gram positif ce pendant, quelque huile essentielle semblent être spécifiques, et exercent une importante activité inhibitrice contre les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif.

D'après ces deux points de vue notre résultat est comparable avec la première lorsque en comparait la souche *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 à Gram positif (10.2 mm) avec les autres souches Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922 (9.2), *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 (7.7mm), *Proteus mirabilis* ATCC (7.9 mm) 49452, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603(7.3 mm).

Selon (**BURT., 2004**) la grande résistance des bactéries Gram négatif à l'huile essentielle liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram positif.

Selon **OUSSALAH et al., (2006)**, l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre les composants.

Les propriétés antibactériennes de ces composés sont en partie liées à leurs caractères lipophiles menant à l'accumulation au niveau des parois bactériennes, perturbant ainsi le fonctionnement et la perméabilité des membranes cellulaires, dégradation de la paroi cellulaire (HELANDER *et al.*, 1998), dommages de la membrane cytoplasmique, dommages des protéines membranaires, fuites du contenu des cellules (HELLAL, 2011).

Le principal composé de *Laurus nobilis* L, c'est le 1,8-cinéole DERWICH E *et al.*, (2009) a été connu pour présenter une activité antimicrobienne contre les souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Bacillus subtilis*) (Sivropoulou *et al.*, 1997).

La technique de contact direct consiste à mettre en contact l'huile essentielle et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. L'huile essentielle du *Laurus nobilis* L a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis du champignon *Fusarium sporotrichioides*, les diamètres, la vitesse et l'indice antifongique de la croissance de mycélium sont diminués chaque fois qu'on augmente la concentration d'huile essentielle jusqu'à la non germination du disque atteinte au CMI (0.5%) ce qui est confirmé par les travaux de (GACEM MA, 2011) sur l'extrait méthanolique et aqueux appliqué sur *Aspergillus fumigatus*.

L'étude de l'effet inhibiteur d'huile essentielle d'*Artimesia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum* et *F.sp* par KOLAI N., *et al* (2012) montre que l'activité antifongique est due uniquement aux substances renfermées dans les extraits de l'huile essentielle d'*Artimesia herba alba*.

La difficulté de développer une molécule antifongique est liée, d'une part à l'ultrastructure de la cellule fongique qui présente trois barrières: la paroi cellulaire chitineuse, les ergostérols membranaires et le noyau eucaryote (CHAMI, 2005) et d'autre part, les molécules antifongiques elles-mêmes qui peuvent engendrer des résistances PRASAD et KAPOOR, (2004).

Le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L pourrait être attribué à la présence de composants antifongiques classés dans la liste des constituants à activité antifongique de (DUKE, 2009) tels que: le myristicine, le curcumène, le caryophyllène, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions. De même CHU et KEMPER (2001) signalent que le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Lavandula stoechas* est lié aux: β -pinène, *p*-cimène, 1,8 cinéole et α -pinène. Les composés majoritaires ou mineurs peuvent augmenter l'activité antifongique.

L'activité antifongique d'huile essentielle, peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle **GIORDANI et al., (2008)**.

Ils ont supposé que la nature lipophile d'huile essentielle les rend plus observables par les mycéliums fongiques que par la gélose de nature hydrophile **SOYLU et al., (2005)**.

Le mécanisme d'action des composés phénoliques d'huile essentielle sur les champignons est fondé principalement sur l'inhibition des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif **CELIMENE et al., (1999)**.

Les concentrations d'huile essentielle du *laurus nobilis* L appliquées ont empêché, partiellement (0.05%,0.25%) ou complètement (0.5%), la croissance de souche, cet résultat est comparable à celle de **URIBE et al., (1985)** qui ont énoncé que les faibles concentrations en huile essentielle de certains Citrus ont un effet inhibiteur partiel du fait que la respiration est inhibée et la perméabilité des cellules altérée tandis que des fortes concentrations en huile essentielle provoquent des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où la mort cellulaire ou l'inhibition totale.

Les modifications morphologiques (couleur de mycélium, déchirures mycéliennes,...) ont été observés sur différents concentrations étaient confirmées par les travaux de **DE BILLERBECK et al., (2002)** sur le mycélium d'*A Niger* sous l'effet des vapeurs d'huile essentielle de *Cymhopogon nordus*. La perte ou le changement de la couleur peut être corrélé avec la perte de la production de mycotoxines.

L'action antifongique d'huile essentielle vis-à-vis *C. albicans* est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure **COX et al., (2000)**.

L'huile essentielle du *Laurus nobilis* L montre une activité très important contre le *Fusarium sporotrichioides* qu'il attendre à une activité d'inhibition de 100% . Donc, en généralités les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis d'huile essentielle. Ce résultat est confirmé par de nombreuses expériences **AMARAL et al., (1998)** qui ont montré que les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries.

CONCLUSION

Conclusion

Un grand nombre des plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

L'utilisation des formulations volatiles à base des plantes aromatiques et médicinales peut présenter des nombreux avantages par rapport aux produits de synthèses actuels.

L'extraction des huiles essentielles du *Laurus nobilis* L, a été réalisée par plusieurs méthodes. Cependant dans le présent travail une seule méthode est préconisée: hydrodistillation.

L'huile essentielle extraite de cette plante possède des propriétés organoleptiques très appréciées en parfumerie et sera très convoitée en aromathérapie.

La méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L vis-à-vis de cinq bactéries, ce pouvoir est relativement faible, avec des zones d'inhibition variant entre 7.3 et 10.2 mm.

L'activité antibactérienne d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L, évaluée par la méthode de diffusion, a permis de révéler une activité moyenne sur la croissance de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *E. coli* ATCC 25922 avec un diamètre d'inhibition de 10.2 et 9.2 mm respectivement , alors que *Enterobacter cloacei* ATCC 13047, *Proteus microsilis* ATCC 49452 et *Klebseilla pneumoni* ATCC 700603 présentant résistant avec un diamètre d'inhibition de 7.7,7.9 et 7.3 mm respectivement.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Laurus nobilis* L vis-à-vis de la souche *Fusarium sporotrichioides*.

L'activité antifongique d'huile essentielle du *laurus nobilis* L s'est avéré un agent antifongique efficace contre le *Fusarium sporotrichioides* à une dose de 0.5% d'huile essentielle de *Laurus nobilis* L qu'il correspond le CMI avec un indice d'inhibition de 100%.

L'activité antifongique croît au fur et à mesure qu'augmente la concentration en huile essentielle ce la est l'induit à la régression de vitesse de la croissance mycélienne qu'ils sont appariât sous microscope avec des déchirures, des petits diamètres, nombres et avec des couleurs différents.

Nos résultats indiquent que l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L n'a pas une activité antibactérienne intéressante en revanche, elle a montré des bonnes activités antifongiques et aussi une activité important sur les bactéries à Gram positif que les bactéries a Gram négatif.

L'activité antimicrobienne d'huile essentielle du *laurus nobilis* L est dû à la nature de leur composition chimique telle que 1.8 cineole comme un composé major de cette huile.

Il ressort que *Laurus nobilis* L pourrait être valorisée d'avantage particulièrement dans la lutte contre de nombreuses espèces fongique responsables des différentes formes phytopathogènes. L'efficacité in vitro pourrait être expliquée par la richesse de cette plante en composés aromatique.

Cette étude permet encore une fois la mise en valeur de l'exploitation des huiles essentielles dans les domaines, pharmaceutique et cosmétique. Par la même occasion, elle confirme leur utilisation comme conservateur dans le domaine de l'industrie agroalimentaire.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies (tests antioxydant, rendement, détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches bactériennes, mode d'application, cout, essai sur d'autres souches microbiennes, etc.) afin d'exploiter les propriétés antibactériennes et antifongiques ainsi que le teste d'activité fongistatique/fongicide qu'il consiste à prélever le disque mycélien non germé (présenté un inhibition totale contre le *fusarium sporotrichioides*) en fin d'incubation de la boite de pétri et à le réintroduire dans un milieu de culture neuf sans huile essentielle. Suivi de l'évolution des cultures sera réalisé dans le temps.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographique

- ◆ **AFNOR, 2000.** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6^{ième} édition. AFNOR, Paris.
- ◆ **AMARAL J-A, EKINS A. RICHARD S.R, KNOWLES R. 1998.** Effete of hane oxidation, denitrifcation and Aerobic Metabolism by bacteria in pure culture applied and environmental Microbiology, 46:pp520 -525.
- ◆ **ANONYME., 2008.** Toutes céréales, détection et identification des espèces de *fusarium* spp. Et microdochium nivale sur grains de cereales par isolement mycologique semi-selectif et etude microbiologique. p : 28.
- ◆ **ANONYME., 2011.** Les plantes aromatiques et médicinales. Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur , p46.
- ◆ **BEERNESH BUTTIAUX R. et TACQUET A., 1996.** Manuel de techniques bactériologiques. 2^{ème} Ed. Paris ,p572.
- ◆ **BELKOU., BEYOUD E, et TALEBBAH MEDZ, 2005.** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*mentha spicata* Z) dans la région de Ouargla. Univ, Ouargla. pp7-8.
- ◆ **BELLETIN., NIDAGIMA.M., SISTOC., GURZONI, ME. M.E., LANCIOTTI,R GARDIN F.(2004).** Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences of *saccharomyces cervisiae*. Journal Agricultural,Food chemistry, 52(23):pp6932-6938.
- ◆ **BELOUED A. (2005)** Plantes médicinales d'Algérie. *Office des publications universitaires. Alger*,p124.
- ◆ **BELYAGOUBI L., 2006.** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissoures de détérioration de céréale. Magistère. Université Aboubekr belkaid, p110.
- ◆ **BENKADA., 1990.** Isolation des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* de région de Tlemcen et ver analysent par différentes méthodes chromatographique mise en évidence du composé majoritaire (la pulégone). thèse magister, Univ, Tlemcen, p76.
- ◆ **BENKHNIGUE L., LAHCEN Z., MOHAMED F., HOUDA E., ATMANE R., ALLAL D. 2011.** Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Barcelona. Acta Bot. Borc , 53 :pp191-216.
- ◆ **BINET P., J BRUNEL P., ALBERTOBRE M., 1968.** Physiologie végétal, Edition, paris , P793.

- ◆ **BOUAMER A., BELLAGHIT M., MOULAY O., 2005.** Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata* L) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L) dans la région de Ouargla. Etude supérieures en biologie université université de Kasdi Merbah Ouargla , p41.
- ◆ **BOUKHATEM, M.N. MOHAND, S.H. FAIROUZ, S. YAHIA, H. 2010.** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Unité de recherche en Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie, p37.
- ◆ **BURT S. A. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potentiel applications in foods-a reiew International. J. Food Microbiol, 94 :pp223-253.
- ◆ **CELIKEL N., and KAVAS G. 2008.** Antimicrobial pooperies of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech Journal of Food science , pp26-174-181.
- ◆ **CECIMENE C.C., MICALES J.A., FERGE L. and YOUNG R.A., 1999.** Efficacy of pinosylvins against white rot and brown rots fungi. Holz forschung, 53 :pp491- 497.
- ◆ **CHAKOU M., BASSOU K., 2007.** Efficacités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Mentha Spicata* L issue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *ccandida albicans*. Etude supérieures, Université de Kasdi Merbah Ouargla, p69.
- ◆ **CHAMI F., 2005.** Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composes majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, p266.
- ◆ **CHANG, S.T., WANG, S.Y., WU, C.L., SU, Y.C, KUO, Y.H. 1999.** Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of Taiwania (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. Holzforschung , pp:53-487-490.
- ◆ **CHAVES A.V., STANFORD K., DUGAN M.E.R., GIBSON L.L, MCALLISTER T.A.,VVHERK F. et BENCHAAAR C., 2008-** Effets of *cinnamaldehyde*, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Livest. Sci,doi:10.1016/j.livsci. 2007-12-13.

- ◆ **CHU J., KEMPER K. J., 2001.** Lavender (*Lavan du lassp*). Long wood Herbal task.Force , p32.
- ◆ **COX S.D., MANN C.M., MARKHAM J.L., BELL H.C., GUSTAFSON J.E., WARMINGTON J.R. and WYLLIE S.G., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology , 88 :pp170-175.
- ◆ **DANIELLE CLAVE, 2011.** Fiche Technique Bacteriologie: *Enterobacter cloacae* . Laboratoire de Bactériologie Hygiène Toulouse. pp1-2.
- ◆ **DAVET P ROUXEL F., 1997.** Détection et isolement des champignons du sol, Paris. cedex07, p147
- ◆ **DE BILLERBECK V.G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P., 2002.** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Revue hygiene, 10(3):pp248- 254.
- ◆ **DERWICH E., BENZIANE Z. ET BOUKIR A., 2009.** Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Aust. J. Basic et Appl. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, pp: 3818-3824.
- ◆ **DORN D, H.-R. FORRER et S. VOGELGSANG, 2007.**Fusariose du maïs en Suisse: inventaire des espèces de *Fusarium* et mycotoxines1Station de recherche Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Reckenholzstrasse, Zurich , pp191, 8046Zurich.
- ◆ **DUKE A.J., 2009.** Phytochemical and ethnobotanical database. Usdaars-Ngri, Belsville Agricultural research center.
- ◆ **DUNG N.T., KIM J.M. AND KANG S.C., 2008.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. Food and Chemical Toxicology, 46 :pp3632-3639.
- ◆ **GACEM MA., 2011.** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *citrullus colocynthis* sur la croissance d e quelque moisissure d'altération de blé stoké. Magister, Université Kasdi Merbah Ouargla,p147.
- ◆ **GARBONNELLE., DENS F., MARMONIER A., PINON G., ET VARGUES R., 1987-** Bactériologie médicale Techniques usuelles. SIMEP, Paris. France.
- ◆ **GARNERO J., 1991.** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France, pp.2-20.

- ◆ **GIORDANI R., HADEF Y., KALOUSTIAN J. 2008.** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* ,79 : pp199-203.
- ◆ **HADDOUCHI F., BENMANSOUR A., 2008.** Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques Application à deux plantes aromatique. Université Tlemcen.les technologies de laboraoire-N°8 janvier-forier 88.
- ◆ **HAMOUDI R., 2008.**Contribution à la mis en évidence de principes actifs de plantes *Teuriumpolium geryriiprovonant* de la région Tamanrasset. Magister, Université Kasdi Merbah Ouargla, p120.
- ◆ **HART T. ET SHEARS P., 2002-** Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris, p213.
- ◆ **HELANDER, I. M., H. L. ALAKOMI, ET AL. 1998.** "Characterisation of the action of selected essential oil components on Gram- bacteria" *Journal of Agriculture Food chemistry* , pp3590-3595.
- ◆ **HELLAL Z., 2011.** Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. pp1-8-45-78.
- ◆ **KALEMBA ET KUNHCK., 2003.** Antibacterial and antifungal proerties of essential oil.current *Medicinal chemistry*, 10: pp813-892.
- ◆ **KOLAI N, SAIAH F. BOUDIA A, 2012.** Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d'*Artimesia herbaalba* sur deux souche de *Fusarium Oxysporum, F.sp. radicis-lycopersici*. INSSN ,pp2170-1318.
- ◆ **KULIK T., FORDOŃSK G., PSZCZÓLKOWSKA A., PŁODZIEŃ K., ŁAPIŃSKI M. 2004.** Development of PCR assay based on ITS2 r DNA polymorphism for the detection and differentiation of *Fusaruim sporotrichioides*. *FEMS Microbiol. Lett*,239:pp 181-186.
- ◆ **MANOU I, BOUILLARD L, DEVLEESCHOUWER MJ AND BAREL AO (1998)** Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under challenge test. *Journal of Applied Microbiology*, 84:pp368-376.
- ◆ **MEBARKI N., 2010.** Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Magistere université M'hamed Bou Gara Boumerdes, p137.

- ◆ **MOHAMMEDI Z., 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïde de quelques plantes de la région de Tlemcen, magistère Université Abou Bakar Bel Kaid Tlemcen, p105.
- ◆ **MOUELLEF A., 2010.** Caractère physiologique et biochimique du blé dur au stress hydrique, magistère Université Mentouri Constantine , p93.
- ◆ **NATHALIE VERBEKE., 2006.** L'Aromatherapie comme alternative credible a l'antibiotherapie. Préparatrice en pharmacie, p20.
- ◆ **OURAINI D., AGOUMI A., ALAOUI M., ALAOUI K., CHERRAH Y, BELABBAS M. A. (2005).** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes, phytothérapie , pp147-157.
- ◆ **CAILLET S., LACROIX M., 2006.** Mechanism of Action of Spanish Oregano, Chinese Cinnamon, and Savory Essential Oils against Cell Membranes and Walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. J Food Prot, 69(5) :pp1046-1055.
- ◆ **PAULI A. 2001.** Antimicrobial properties of essential oil constituents. International journal of Aromatherapy, 11: pp126-133.
- ◆ **PIBIRI M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, pp28-52.
- ◆ **PONCE A.G., FRITZ R., DE LVALLE C. ET ROURA S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensm.-Wiss.u.-Technol, 36 :pp679-684.
- ◆ **POOL E, K. 2001.** Multidrug resistance in Gram-negative bacteria-current opinion in Microbiology, 4:pp500-508.
- ◆ **PRASAD R. and KAPOOR K., 2004.** Multidrug resistance in yeast *Candida*. Int. Rev. Cytol, 242 :pp215-248.
- ◆ **Recommandation de OMS, 2005.** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4^{ème} édition, ALGER. ins. Pas, p 95.
- ◆ **SALLE J-L., 2004.** Les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie. Edition Frison-Roche. pp.26-37.
- ◆ **SIVROPOULOU, A., C. NIKOLAOU, E. PAPANIKOLAOU, S. KOKKINI, T. LANARAS and M. ARSENAKIS, 1997.** Antimicrobial, Cytotoxic and Antiviral Activities of *Salvia fruticosa* Essential Oil. J. Agric. Food Chem, 45: pp3197-201.

- ◆ **SOUTHWELL I.A., HAYES A.J., MARKHAM J. and LEACH D.N. 1993.** *Acta Horticult.*, 344, 256–265. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M., 2006. Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into drugs. Ed. Wiley-Vch Verlag GmbH et Co. KGaA, Weinheim, p405.
- ◆ **SOYLU E.M., YIGITBA H., TOK F.M., SOYLU S., KURT S., BAYSAL Ö. and KAYA A.D., 2005.** Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 112(32):pp229-239.
- ◆ **TEIXEIRA-DUARTE M.C., MARAFIGUEIRAG. And SARTORATTO A. (2005).** Anti candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, p 311.
- ◆ **URIBES., RAMIREZ T., PENA A. 1985.** Effects of B. pinene on yeast membrane functions. *Journal of Bacteriology*, pp1195-1200.
- ◆ **YAKHLEF G., 2010.** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. Thèse Magister. Université EL hadj lakhdar –Batna, p78
- ◆ **ZAIKA, L. L. 1988-** "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its determination" *Journal of Food Safety*, pp97-118.
- ◆ **ZIMMERMANN,E., 1998.** "Aromatherapie für Pflege-und Heilberufe: ein Kursbuch zur Aromapraxis" Stuttgart, p251.

ANNEXE

Annexe 01



Autoclave



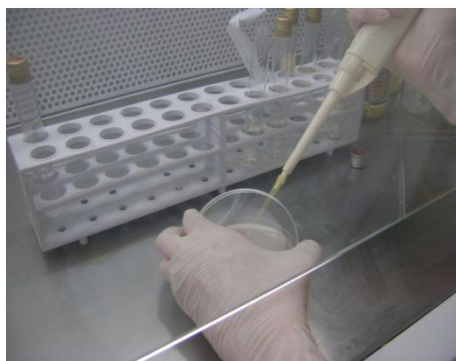
Autoclavage des milieux de culture



Etuve



Des boîtes pétries incubées dans l'étuve



Dépôt de suspensions bactériennes sur MH



La hotte



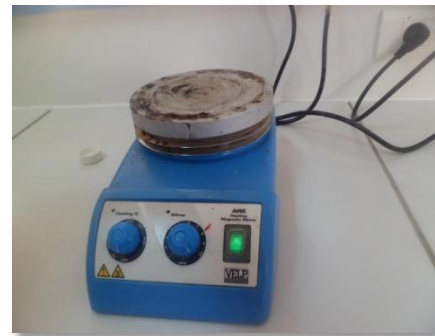
Balance analytique



Bain marie



Microscope optique



Plaque chauffant



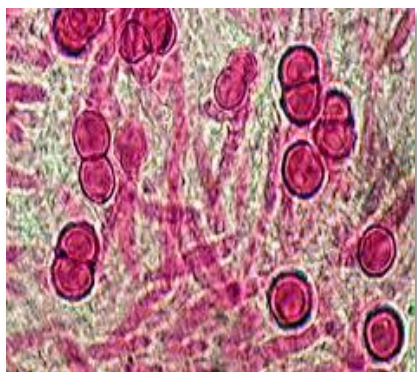
Fusarium sporotrichioides sur PDA



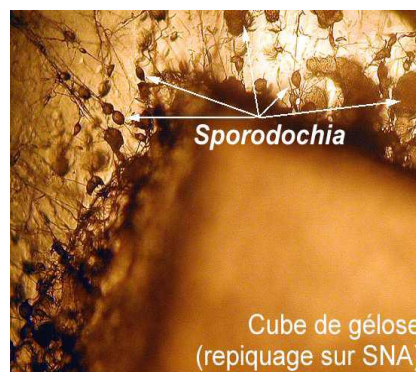
Echirichia coli sur Hecktoen

Chlamydospore : forme de repos, de résistance, très fréquente chez les champignons, constituée de portions d'hyphes où le cytoplasme s'est condensé et généralement entouré d'une paroi épaisse et mélanisée.

Sporodochium (plur. *sporodochia*) : stroma fertile pustuliforme, superficiel ou largement érompant. Dans le cas des champignons du genre *Fusarium*, ces structures ressemblent à de petits amas gélatineux à la surface de la gélose, dans lesquels sont produites des macroconidies de taille et de forme relativement homogène et typique de l'espèce (ANONYME, 2008).



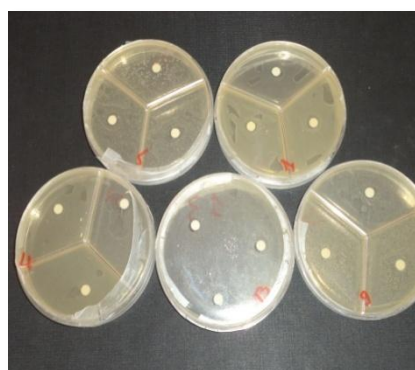
Chlamydozoospores à surface rugueuse de *F. equiseti*



Sporodochia visibles par diascopie sur une culture de *Fusarium* sur SNA



Un disque mycélien du *fusarium sporotrichioides* sur un mélange de HE et PDA



Des disques de papier wattman sur MH et des différentes suspensions bactérienne

Annexe 02

Tableau n°01: Vitesse de croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioides*

concentration d'huile essentielle (%)	vitesse de croissance (mm/h)
0	0.26
0.05	0.11
0.25	0.04
0.5	0

Tableau n°02 : Comparaison des moyennes des diamètres des zones d'inhibitions des différentes souches bactériennes testées.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Les souche testées	24.91666667	4	6.229166667	5.94602273	0.0207676	4.1203117269
A l'intérieur des groupes	7.33333333	7	1.04761904			
Total	32.25	11				

Tableau n°03 : Comparaison des moyennes des diamètres du croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioides*

Total	A l'intérieur du groupe	Interaction	Diamètre de croissance mycélienne	Concentration d'huile essentielle	Source des variations
41816.9421 2962	566.518518518519	964.668981481496	2085.02546296295	38200.7291666666	Somme des carrés
47	32	9	3	3	Degré de liberté
	17.7037037037037	107.185442386833	695.008487654316	12733.5763888889	Moyenne des carrés
		39.2578016039049	39.14025	719.260591004184	F
		0.0000615007756916489	7.78338830358086E-11	1.9836523406778E-29	Probabilité
		2.18876576768478	2.90111958815512	2.90111958815512	Valeur critique pour F

Tableau n°04 : Comparaison des moyennes d'indice antifongique du *Fusarium sporotrichioides*.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Concentration d'huile essentielle	24116.60648	3	8038.868827	283.3219	2.12225E-11	3.4902948
A l'intérieur des groupes	340.4834872	12	28.37362394			
Total	24457.08997	15				

Tableau n°05 : Comparaison des moyennes de la vitesse de croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioides*.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F observé	Probabilité	Valeur critique pour F
Concentration d'huile essentielle	0.0306375	3	0.0102125	0.223651793	0.87562604	6.591382117
A l'intérieur des groupes	0.18265	4	0.0456625			
Total	0.2132875	7				

* $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$: Respectivement significative, hautement significative et très hautement significative ; $P > 0,05$: non significative (MOUELLEF, 2010).

Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante *Laurus nobilis* L

Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de la plante *Laurus nobilis*.L. L'extraction d'huile essentielle de la partie arienne de *Laurus nobilis* L, a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation. Le test d'activité antimicrobienne sur cinq souches bactériennes (*Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia col*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacei*, *Enterococcus faecalis*), et une souche fongique (*Fusarium sporotrichioide*). Les résultats montrent que l'huile essentielle du *Laurus nobilise* L possède une faible activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition varie entre 7.3 et 10.2 mm en comparaison avec l'activité antifongique qu'elle atteindre une indice d'inhibition de 100 % avec la concentration de 0.5% qu'il représente le CMI.

Mots clés: *laurus nobilis* L, huile essentielle, activité antibactérien, activité antifongique, inhibition.

دراسة النشاط المضاد للميكروبات لزيوت الطيارة المستخلصة من نبات *Laurus nobilis* L

ملخص

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للميكروبات لزيوت الطيارة لنبات *Laurus nobilis* L. تم استخلاص هذه الزيوت عن طريق التقطير البخار و اختبار نشاطها المضاد للميكروبات على خمس سلالات بكتيرية، *Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia col*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* و سلالة فطرية *Fusarium sporotrichioide* أظهرت النتائج بأن الزيوت الطيارة لنبات *laurus nobilis* L تمتلك نشاط ضعيف ضد السلالات البكتيرية بقطر تثبيط يتراوح من 7.3 الى 10.2 مم حسب السلالة البكتيرية و بالمقارنة مع نشاطها ضد السلالة الفطرية النتائج بينت ان نسبة تثبيط وصلت الى 100% عند التركيز 0.5% والذي يمثل التركيز التثبيطي الأدنى.

الكلمات الدالة : *laurus nobilis* L, الزيت الطيار, نشاط ضد البكتيريا, نشاط ضد الفطر, تثبيط.

Study of the antimicrobial activity of essential oil extracted from *Laurus nobilis*.L plant

Abstract

Our work focuses on the study of the antimicrobial activity of essential oil of the plant *Laurus nobilis*.L. The extraction of essential oil of the Arian party of *Laurus nobilis* L, was obtained by hydrodistillation The test of antimicrobial activity performed for five bacterial strains (*Klebsilla pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*) and a fungal strain (*Fusarium sporotrichioide*).The results indicate that the essential oil of *Laurus nobilise* L has little antimicrobial activity with inhibition diameters between 7.3 and 10.2 mm in comparison with the antifungal activity that reached a value of 100% inhibition with 0.5% who represent the MIC.

Key words: *Laurus nobilis* L, essential oil, antibacterial activity, antifungal activity, Inhibition.