

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة جيلالي بونعامة
Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de **Master** en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Etude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Présenté par:

- YAHIAOUI Abdelhak
- BENOUNA Sofiane
- BENYAMINA HOUARI Fatima zohra

Devant le jury :

| | | | |
|----------------|-----|--------------|------------------------|
| Mme DOUAOURI N | MCB | Présidente | (U.D.B Khemis Miliana) |
| Mme ABDELLI W | MCB | Promotrice | (U.D.B Khemis Miliana) |
| Mme LATTAB A | MCB | Examinatrice | (U.D.B Khemis Miliana) |

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions avant tout Dieu pour tout, la volonté, la santé et la patience pour mener à bien ce travail.

*Nos remerciements s'adressent à notre chère promotrice **Mme ABDELLI W**, qui a accepté de nous encadrer et pour sa gentillesse. Nous lui exprimons notre gratitude pour son aide et ses conseils précieux et pour avoir partagé son expérience et ses connaissances avec nous.*

Nous remercions vivement les membres de notre jury :

***Mme DOUAOURI N** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.*

***Mme LATTAB A** pour l'intérêt qu'elle a accordé à notre travail en acceptant de l'examiner.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail avant tout à :

*Mon cher père **Mohamed** que Dieu le protège pour ses encouragements, sa présence, son soutien et son aide.*

*Ma chère maman **Oumelkhir**, la femme merveilleuse qui s'est toujours sacrifiée pour moi, que Dieu la protège, pour son soutien tout le long de ma vie*

A mes chers frères et mes chères sœurs

*A notre déléguée **Fatiha** que Dieu la protège pour son soutien moral.*

*A mon trinôme : mon cher ami **Sofiane** et ma femme **Fatima Zohra**.*

A tous mes amis

Ma grande famille

A mes collègues de promotion Master 2

Biotechnologie Microbienne

Abdelhak

Dédicaces

Tout d'abord, louange à « Allah » qui m'a guidée sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

A mes chers parents qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes chères sœurs Imene et Kenza et Kaouthar, et mes chères frères Amine et Omar pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A tous mes collègues

A mes chers amis Asmaa et Mounir et Ahmed et Abdelhak pour leur aides et support dans les moments difficiles.

A tout ma famille.

Sofiane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail avant tout à :

*Mon cher père qui est mon plus grand soutien **M'hamed** que Dieu le protège pour sa confiance, son soutien et ses sacrifices pour moi.*

*Ma chère maman **Samia** source de tendresse et d'amour, que Dieu la protège, pour ses encouragements, sa motivation et son soutien.*

*Mon Mari **Yahiaoui Abdelhak** que Dieu le protège pour son soutien et ses encouragements.*

*A mes chers frères : **Mohamed Et Moncif***

*Ama chère sœur : **Marwa***

*A notre déléguée **Fatiha** que Dieu la protège pour son soutien moral.*

*A mes amis Fine **Hiziya, Fola, Fatima, Nadjat** les plus proches à mon cœur.*

*A mon ami : **Benouna Sofiane***

A ma famille qui m'a soutenu pour faire ce travail.

A mes collègues de promotion Master 2

Biotechnologie Microbienne

Fatima Zohra

هذا العمل عبارة عن ملخص بيليوغرافي يجمع نتائج بعض الدراسات أجريت على الزيت العطري حيث *Laurus nobilis* يتميز هذا الزيت بصفة عامة بكونه سائل، شفاف ، ولون أصفر باهت إلى أصفر ، ورائحة قوية وعطرية وحارة.

يتراوح متوسط مردود الزيت العطري المتحصل عليه بتقنية التقطير المائي في بعض ولايات الجزائر ما بين 0.25% و 0.86% وفي بعض دول العالم ما بين 1.42% و 4.54%

تحديد التركيبات الكيميائية للزيوت الجزائرية والأجنبية بواسطة تقنية CPG-SM يوضح أن المركبات التالية :
α-pinène, 1,8-cinéole, méthyl eugénol, α-terpinéol من بين أهم المكونات

تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من خلال بعض الدراسات معينة أثبت أن زيت العطري للرنند له قدرة كبيرة على تثبيط بعض البكتيريا. كشفت تقنية الاروماتوغرام انه باستثناء بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* التي كانت مقاومة, كانت *Staphylococcus aureus* الأكثر حساسية, تراوحت أقطار التثبيط من 18 على 33.5 ملم
تحديد قيمة CMI و CMB سمح لنا بملاحظة أن الزيت العطري يمارس تأثيرًا مبيدًا للجراثيم (قاتل) ضد السلالات الخمس المختارة.

الكلمات المفتاحية : *Laurus nobilis* زيت عطري , مردود , تقطير المائي , تقنية CPG-SM نشاط مضاد للبكتيريا , تقنية الاروماتوغرام CMI و CMB

Résumé

Ce travail est une synthèse bibliographique qui rassemble les résultats de quelques travaux menés sur l'huile essentielle de *Laurus nobilis*. Celle-ci se caractérise généralement par un aspect liquide et limpide, une couleur jaune pâle à jaune, et une forte odeur, aromatique et épicée. Ses rendements moyens obtenus après extraction par hydrodistillation, sont dans certaines régions d'Algérie compris entre 0.25 et 0.86% et dans certains pays compris entre 1.42 et 4.54%.

La détermination des compositions chimiques des huiles algériennes et étrangères par CPG-SM, montre que α -pinène, 1,8-cinéole, méthyl eugénole, α -terpinéol sont parmi les constituants les plus importants.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par certaines études démontre que l'huile essentielle du laurier possède un grand pouvoir inhibiteur contre certaines bactéries. L'aromatogramme a révélé qu'à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a été résistante, *Staphylococcus aureus* a été la plus sensible avec des diamètres des zones d'inhibition variant de 18 à 33.5 cm

La détermination de la CMI et de la CMB nous a permis de constater que l'huile essentielle a exercé un effet bactéricide contre les cinq souches sélectionnées.

Mots clés : *Laurus nobilis*, huile essentielle, rendement, hydrodistillation, CPG-SM, activité antibactérienne, aromatoigramme, CMI, CMB.

Abstract

This work is a bibliographical synthesis that brings together the results of some work carried out on the essential oil of *Laurus nobilis*. It is generally characterized by a clear, liquid appearance, a pale yellow to yellow color, and a strong, aromatic and spicy odor. Its average yields obtained after extraction by hydrodistillation, are in some regions of Algeria between 0.25 and 0.86% and in some countries between 1.42 and 4.54%.

The determination of the chemical compositions of Algerian and foreign oils by GC-MS, shows that α -pinene, 1,8-cineole, methyl eugenol, α -terpineol are among the most important constituents. The evaluation of the antibacterial activity by some studies shows that the essential oil of laurel has a great inhibitory power against some bacteria. The chromatogram revealed that with the exception of *Pseudomonas aeruginosa* which was resistant, *Staphylococcus aureus* has been the most sensitive one. The diameters of the inhibition zones ranged from 18 to 33.5 mm.

The determination of the MIC and MBC showed that the essential oil had a bactericidal effect against the five selected strains.

Keywords: *Laurus nobilis*, essential oil, yield, hydrodistillation, GC-MS, antibacterial activity, chromatogram, CMI, CMB.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations et des symboles

Introduction.....01

Première partie : Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

| | |
|--|----|
| I. Les huiles essentielles..... | 03 |
| I.1. Définition | 03 |
| I.2. Localisation et lieu de synthèse | 03 |
| I.3. Propriétés physico-chimiques..... | 04 |
| I.4. Rôle physiologique..... | 04 |
| I.5. Composition chimique..... | 05 |
| I.5. 1. Terpenoïdes..... | 05 |
| I.5. 2. Composés aromatiques..... | 07 |
| I.5. 3. Composés d'origine diverses | 08 |
| I.5. 4. Chémotype..... | 08 |
| I.6. Les facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles..... | 09 |
| I.6. 1. Facteurs physiologiques..... | 09 |
| I.6. 2. Facteurs environnementaux..... | 09 |
| I.6. 3. Conditions d'extraction et de stockage..... | 10 |
| I.7. Domaine d'utilisation des huiles essentielles | 10 |
| I.7. 1. En médecine | 10 |
| I.7. 2. En pharmacie | 11 |
| I.7. 3. En agro-alimentaire | 11 |
| I.7. 4. En cosmétologie et parfumerie | 12 |

| | |
|---|----|
| I.8. Toxicité des huiles essentielles | 12 |
| I.9. Méthodes d'extraction des huiles essentielles..... | 13 |
| I.9. 1. Distillation | 13 |
| I.9. 1.1. Hydrodistillation..... | 13 |
| I.9. 1.2. Entraînement à la vapeur d'eau..... | 15 |
| I.9.1.3. La percolation ou hydro-diffusion..... | 16 |
| I.9. 2. Expression à froid..... | 16 |
| I.9. 3. Extraction par solvants organiques..... | 17 |
| I.9. 4. Extraction par enfleurage | 17 |
| I.9. 5. Extraction assistée par micro-ondes..... | 18 |
| I.9. 6. Extraction par fluide à l'état supercritique..... | 19 |

Chapitre II : *Laurus nobilis*

| | |
|--|----|
| II.1. La famille <i>Lauraceae</i> | 21 |
| II.2. Le genre <i>Laurus</i> | 21 |
| II.2.1. Le laurier (<i>Laurus nobilis</i>) | 21 |
| II.2.1.1. Description botanique..... | 21 |
| II.2.1.2 Classification botanique | 22 |
| II.2.1.3 Cultivars du laurier | 23 |
| II.2.1.4. Habitat | 24 |
| II.2.1.5 Répartition géographique | 25 |
| II.2.1.6 Composition chimique de <i>Laurus nobilis</i> | 25 |
| II.2.1.7 Usage du laurier | 25 |
| II.2.1.7.1 Usage thérapeutique | 25 |
| II.2.1.7.2 Usage culinaire | 26 |
| II.2.1.7.3. Usage cosmétologique | 26 |

Chapitre III : Activité antibactérienne des huiles essentielles

| | |
|--|----|
| III.1. Les antibiotiques | 27 |
| III.1.1. Définition | 27 |
| III.1.2 Mode d'action..... | 27 |
| III.2. La résistance bactérienne aux antibiotiques..... | 28 |
| III.2.1. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques..... | 30 |
| III.2.1.1 Résistance par inhibition enzymatique..... | 30 |
| III.2.1.2 Accécibilité réduite de la cible..... | 31 |

| | |
|---|----|
| III.2.1.3. Pompes à efflux..... | 31 |
| III.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles | 31 |
| III.3.1. Mode d'action Antibactérienne | 32 |
| III.3.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> | 33 |

Deuxième partie : partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| IV.1. Matériel végétal..... | 34 |
| IV.2. Huiles essentielles..... | 34 |
| IV.2.1. Méthode d'extraction..... | 34 |
| IV.2.2. Calcul du rendement d'extraction..... | 35 |
| IV.2.3. Caractéristiques organoleptiques | 36 |
| IV.2.4. Composition chimique | 36 |
| IV.2.5. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> | 36 |
| IV.2.5.1. Souches testées | 36 |
| IV.2.5.2 Milieux de culture utilisés..... | 36 |
| IV.2.5.3 Préparation de l'inoculum..... | 36 |
| IV.2.5.4 Méthode de diffusion par disques ou aromatoگرامme..... | 37 |
| IV.2.5.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) | 37 |
| IV.2.5.6 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) | 38 |

Chapitre V : Résultats et Discussion

| | |
|--|----|
| V.1 Etude analytique de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> | 39 |
| V.1.2. Caractéristiques organoleptiques..... | 40 |
| V.1.3. Composition chimique | 41 |
| V.2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> | 44 |
| V.2.1 Résultats de l'aromatoگرامme | 44 |
| V.2.2 Résultats de la CMI et de la CMB | 45 |

| | |
|-------------------------|----|
| Conclusion | 47 |
|-------------------------|----|

| | |
|--|----|
| Références bibliographiques | 49 |
|--|----|

| | |
|----------------------|----|
| Annexes | 64 |
|----------------------|----|

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 01 : La position systématique de <i>Laurus nobilis</i> | 22 |
| Tableau 02 : Nomenclature de <i>Laurus nobilis</i> | 23 |
| Tableau 03 : Liste des souches microbiennes testées..... | 36 |
| Tableau 04 : Rendement en huile essentielles de laurus nobilis dans le monde..... | 39 |
| Tableau 05 : Propriétés organoleptiques d’huile essentielle de trois régions d’Algérie..... | 40 |
| Tableau 06 : La composition chimique des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> | 41 |
| Tableau 07 : Résultat de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> .. | 44 |
| Tableau 08 : Résultat de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i> exprimés pas CMI et CMB (mg/ml) | 45 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Structure de l'unité isoprénique..... | 6 |
| Figure 02 : Exemples de structures de monoterpènes..... | 6 |
| Figure 03 : Exemples de structures de sesquiterpènes..... | 7 |
| Figure 04 : Exemples de structures de composés aromatique..... | 8 |
| Figure 05 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles..... | 14 |
| Figure 06 : Schéma de l'appareil d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau..... | 15 |
| Figure 07 : Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion..... | 16 |
| Figure 08 : Le montage d'extraction par micro-ondes..... | 18 |
| Figure 09 : Schéma simplifié d'un extracteur au CO ₂ supercritique..... | 19 |
| Figure 10 : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> | 22 |
| Figure 11 : Feuilles de différents cultivars de <i>Laurus nobilis</i> | 24 |
| Figure 12 : Les différents mode d'action des antibiotiques..... | 28 |
| Figure 13 : Schéma illustrant le développement de la résistance aux antibiotiques | 29 |
| Figure14 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne..... | 32 |
| Figure 15 : Feuilles du laurier noble..... | 34 |
| Figure 16 : Montage d'hydro-distillation du type Clenvenger..... | 35 |
| Figure 17 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme..... | 37 |
| Figure 18 : Détermination de la CMB en milieu solide..... | 38 |

Liste des abréviations et des symboles

% : Pourcentage

C° : degré Celsius

µl : microlitre

AFNOR : Association Française de Normalisation

CPG : chromatographie en phase gazeuse

SM : Spectrophotométrie de masse

DO : Densité optique

g : gramme

GN : gélose nutritive

mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

MH : Mueller-Hinton

UFC : Unité formant colonies

OMS : Organisation Mondiale de la santé

Introduction

L'Algérie est parmi les pays méditerranéens qui possède une position géographique particulière, lui accordant une large bande de végétation très variée notamment les plantes aromatiques et médicinales. Ces dernières représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponosides, quinones, vitamines, et huiles essentielles. Elles peuvent être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (**Lafon et Tharaud Prayer, 1998 ; Boudershem, 2015**).

Parmi les plantes aromatiques les plus utilisées en Algérie, *Laurus nobilis* (ou laurier noble), est une espèce de la famille des Lauracées, particulièrement riche en huiles essentielles (**Sell et al., 2002**). Ces dernières sont définies comme étant des mélanges complexes de molécules volatiles telles que les alcools, les phénols, les composés terpéniques et cétoniques responsables d'une variété de propriétés biologiques comme les activités antibactérienne, antifongique, antioxydante...etc (**Baratta, 1998 ; Burt, 2004**). Toutes ces propriétés font des huiles essentielles des ressources naturelles prometteuses pouvant remédier à certains problèmes de santé publique notamment, l'augmentation de la résistance des microorganismes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques (**Essawi et al., 2000**). En effet, certaines espèces de bactéries, sont de moins en moins sensibles aux antibiotiques et développent des résistances multiples. Ce phénomène est apparu suite à un usage abusif d'antibiotiques du fait de prescriptions inadaptées ou d'automédication. Il est devenu une menace grave pour la santé publique tant au niveau national que mondial. Il est donc évident de mettre en place des mesures afin de contrer ce problème.

Les huiles essentielles, de par leur pouvoir antimicrobien et la complexité de leurs constituants chimiques, pourraient constituer un sérieux substitue aux antibiotiques dans le traitement des pathologies infectieuses (**Pibiri, 2006**).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*. Cette espèce a été choisie car elle est utilisée mondialement sous forme d'épice à qualité culinaire, médicale et industrielle. Ce travail est structuré en deux parties:

- La première partie est relative à l'étude bibliographique répartie en trois chapitres, le premier aborde des généralités sur les huiles essentielles, le deuxième présente la plante étudiée, et le troisième est consacré à notre problématique, à savoir, la résistance bactérienne aux antibiotiques mais aussi, à l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

Introduction

- La deuxième partie est réservée à l'étude expérimentale, elle est répartie en deux chapitres : l'un présente le matériel et les méthodes nécessaires pour la réalisation de ce travail et l'autre présente et discute les résultats obtenus par quelques travaux antérieurs.

Enfin, le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

I. Les huiles essentielles

I.1. Définition

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin Suisse Paracelse Von Hohenhem pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Burt, 2004**). Il s'agit d'un mélange de composition généralement assez complexe renfermant des molécules volatiles, contenu dans les végétaux et qui être peut plus ou moins modifié au cours de la préparation (**Bruneton, 2009**).

L'Association Française de Normalisation (**AFNOR**) définit une huile essentielle comme étant « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**AFNOR, 2000**). Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par les autres procédés.

I.2. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles sont rencontrées particulièrement chez les végétaux supérieurs (**Chouitah, 2012**). Elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées. Leur synthèse et leur accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal. Il existe en fait quatre structures sécrétrices (**Svoboda et al., 2000 ; Belkou et al., 2005**) :

- Les cellules sécrétrices : chez les Lauracées, les Zingibéracées...
- Les poils sécréteurs épidermiques : chez les Lamiacées, les Géraniacées ...
- Les poches sécrétrices : chez les Astéracées, les Rosacées, les Rutacées, les Myrtacées ...
- Les canaux sécréteurs : chez les conifères, les Ombelliféracées...

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemple: dans les sommités fleuries (menthe, lavande, thym), les feuilles (eucalyptus, laurier), les rhizomes (gingembre), les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (vétiver), les graines (muscades), ou encore les écorces (cannelier) (**Yahyaoui, 2005**). Il est aussi possible de trouver les huiles dans une même plante dans différents organes à la fois (**Burt, 2004**).

I.3 Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, renfermant diverses substances volatiles ce qui les différencie des huiles fixes (**Carson et Hammer, 2011**). Elles sont très inflammables et très odorantes, avec un goût âcre (**Burt, 2004**), généralement incolores ou faiblement colorées (jaune pâle) (**Andrade et al., 2014**), cependant, certaines d'entre-elles peuvent être rouges, vertes ou bleues comme l'essence de cannelle, d'absinthe et de camomille, respectivement (**Deschepper, 1990**).

Du fait de leur nature huileuse, ces produits sont très peu solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques apolaires usuels, les huiles grasses et dans les alcools à titre élevé (**Deschepper, 1990 ; Carson et Hammer, 2011**). Leur température d'ébullition est de 160°C à 240°C et leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, il existe toutefois des exceptions comme par exemple les essences de cannelle, de girofle et de saffran dont la densité est supérieure à 1 (**Sallé et Pelletier, 1991 ; Bruneton, 1999**). La densité permet de renseigner sur la composition chimique des huiles essentielles ; ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques (**Garnéro, 1996**).

L'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire des huiles essentielles sont généralement élevés, et la plupart d'entre-elles dévient la lumière polarisée et sont optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques. Elles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant l'oxygène, en même temps leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (**Duraffourd et al., 1990 ; Padrini et al., 2006**).

Elles sont extrêmement volatiles et perdent rapidement leurs propriétés lorsqu'elles sont exposées, à la lumière ou à la chaleur. Elles doivent donc être conservées dans des flacons en verre colorés bien fermés, à l'abri de l'air et de la lumière pour une meilleure protection (**Bruneton, 1993 ; Charpentier, 1998**). La durée de leur conservation est entre 12 et 18 mois après leur obtention car avec le temps leurs propriétés tendent à décroître (**Carette, 2000**).

I.4 Rôle physiologique

Les huiles essentielles ont des rôles multiples dans la nature. Certaines attirent les insectes et favorisent la pollinisation, d'autres servent à la défense des plantes contre des prédateurs comme les herbivores et les insectes, en paralysant leurs muscles masticateurs et en diminuant leurs appétences grâce à des propriétés toxiques que possèdent certains de leurs composés (**Capo et al.,**

1990 ; Andrade *et al.*, 2014). Elles protègent également les cultures contre les bactéries et les champignons pathogènes en inhibant leur croissance (Richeter, 1993), et permettent en outre de décourager la compétition vis-à-vis d'autres espèces végétales par allélopathie. En effet certaines plantes émettent des substances aromatiques pour inhiber la croissance des plantes avoisinantes ; c'est le cas du noyer *Juglans regia* qui produit de la juglone dans un rayon de 8 mm autour du tronc (Bouhadjera, 2005).

Dans les régions désertiques, les vapeurs d'huile essentielle peuvent saturer l'air autour de la plante et permettre de maintenir une certaine humidité qui empêche la température d'augmenter d'une manière excessive pendant le jour, et de baisser au cours de la nuit. La fonction des huiles essentielles au sein de la plante reste, néanmoins, encore mal connue. Les effets d'attraction, de répulsion et de dégagement observés sont probablement dus à la complexité et à la variété structurale des substances présentes dans les essences (Belaiche, 1979).

I.5 Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe étant donné le nombre élevé des constituants présents, et surtout la diversité considérable de leurs structures. Elle comprend deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Il existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, esters et autres) (Duquenois, 1980 ; Rahili, 2002).

I.5.1 Terpénoïdes

Les terpènes, connus aussi sous le nom d'isoprénoïdes ou terpénoïdes lorsqu'ils contiennent de l'oxygène, représentent le plus grand groupe de composés naturels avec plus de 30000 structures connues (Theis et Lerdau, 2003). Ils sont formés par l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta-1,3-diène), composées de cinq atomes de carbone et dont la formule brute est C_5H_8 (figure 01) (Kaloustian et Hadji Minaglou, 2012).

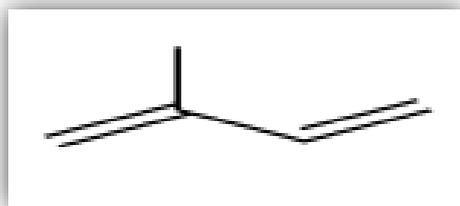
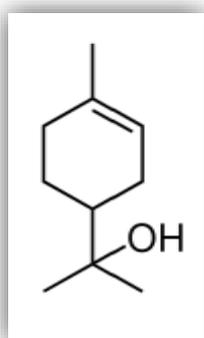
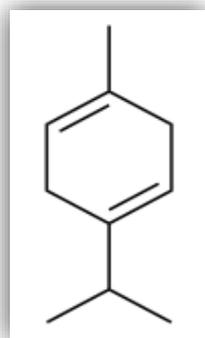


Figure 01: Structure de l'unité isoprénique (Lütgge *et al.*, 1992)

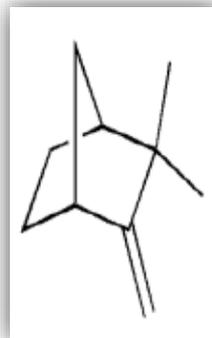
On distingue: les terpènes simples (formés de deux isoprènes, $C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes (formés de trois unités d'isoprènes, $C_{15}H_{24}$), les diterpènes (formés de quatre isoprènes, $C_{20}H_{32}$), les triterpènes (six isoprènes) qui, par oxydation, conduisent à de nombreuses résines, les tétraterpènes (huit unités d'isoprènes) qui conduisent aux caroténoïdes, les polyterpènes (n isoprènes) (Benayad, 2008). Les terpènes les plus fréquents dans les huiles essentielles sont les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, à savoir, les monoterpènes et les sesquiterpènes (figures 02 et 03) (Bruneton, 2009).



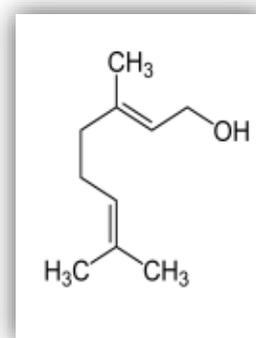
α -terpinéol



γ -terpinène



(+)-camphènegéranol



géraniol

Figure 02 : Exemples de structures de monoterpènes (Bruneton, 2009)

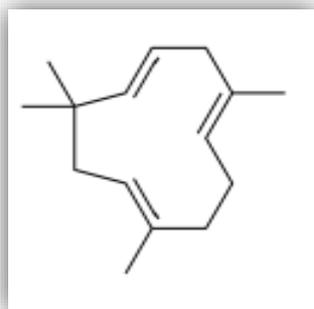
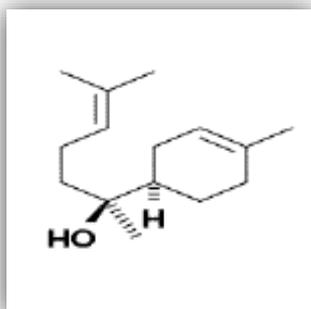
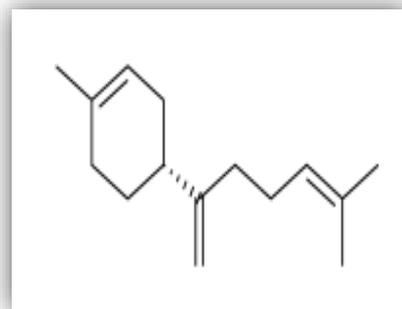
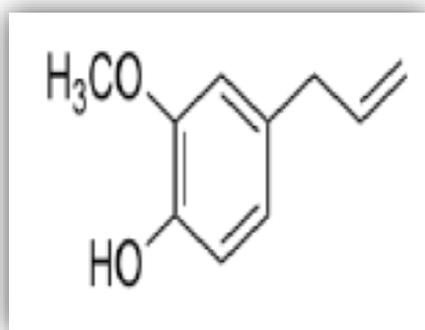
 α -humulène α -bisabolol β -bisabolène

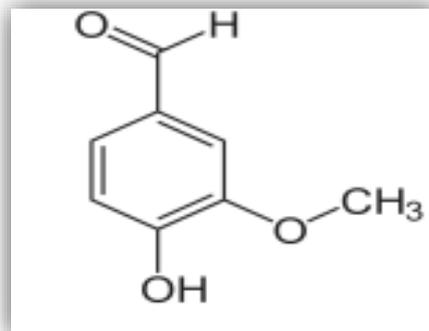
Figure 03 : Exemples de structures de sesquiterpènes (Bruneton, 2009).

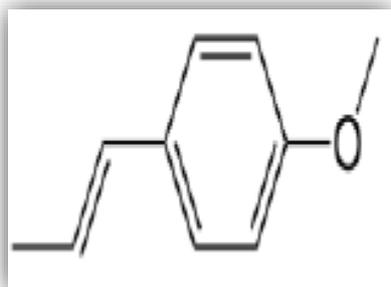
I.5.2 Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles, il s'agit très souvent d'allyle et de propénylphénol. (Teissere, 1991). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénole, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres caractérisant les essences du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, l'anis, le fenouil, le persil...etc (figure 04) (Bruneton, 2009).

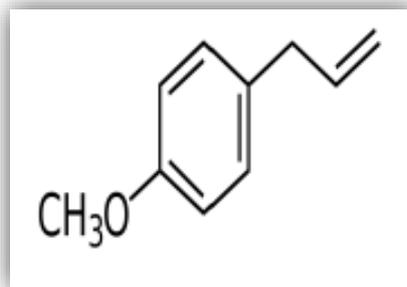


vanilline

*trans*-anéthole



estragole



eugénol

Figure 04 : Exemples de structures de composés aromatique (Bruneton, 2009).

I.5.3 Composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer, en faible proportion, divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation. Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînés à la vapeur d'eau et plus précisément, de la dégradation des acides gras et des terpènes. Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits, les concrètes et les absolues peuvent aussi en renfermer. Des composés azotés et soufrés peuvent également, mais très rarement, être présents dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999 ; Svoboda et Hampton, 1999 ; Bruneton, 2009) comme par exemple l'allyle-isothiocyanate issu de la dégradation d'un glucosidesinigraside (Bruneton, 1999).

I.5.4 Chémotype

Le chémotype appelé aussi chimiotype ou race chimique, est une notion clé en aromathérapie qui a été officialisée par l'union européenne avec l'adoption de la réglementation REACH (enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des produits chimiques) en 2006 (Keefover *et al.*, 2009). Elle permet de définir la ou les molécules biochimiquement actives majoritaires d'une huile essentielle. Pour une même espèce, une même partie de plante utilisée et des individus morphologiquement identiques, il est possible d'obtenir des huiles essentielles de compositions différentes, sans constituer de sous-espèces ou de variétés nouvelles. Cela s'explique par le fait qu'une même plante aromatique botaniquement définie peut, selon le biotope et des modifications génétiques, synthétiser différentes essences. C'est le cas par exemple, du romarin officinal qui possède trois huiles essentielles dont la composition chimique présente des

différences significatives. Il en résulte donc, pour chacune des trois, un usage thérapeutique spécifique :

- L'huile essentielle à cinéole qui possède une activité anti-infectieuse des voies respiratoires.
- L'huile essentielle à camphre qui possède une activité anti-inflammatoire.
- L'huile essentielle à verbénone qui stimule le foie (**Jager *et al.*, 1996**).

I.6. Les facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau du rendement des plantes d'origine, qu'au niveau de leur composition chimique. Ces différences sont liées à plusieurs facteurs intrinsèques (physiologie de la plante) et extrinsèques (facteurs environnementaux et conditions d'extraction et de stockage).

I.6.1 Facteurs physiologiques

Les facteurs physiologiques tels que le type de matériel végétal, le stade de développement de la plante, ainsi que la nature des structures sécrétrices déterminent la quantité et la qualité de l'huile essentielle produite (**Figuerido *et al.*, 2008**). En effet, cette dernière est généralement plus abondante dans les organes jeunes. Le stade végétatif influence sa composition et par conséquent, sa couleur. Aussi, chaque organe d'une même plante donne, selon la structure sécrétrice responsable, une huile essentielle de composition différente de celle d'un autre organe (notion de chémotype). Ce cas est par exemple observé chez la coriandre où la composition de l'huile essentielle de ses grains diffère complètement de celle extraite à partir des feuilles (**Burt, 2004 ; Banchio, 2007**).

I.6. 2 Facteurs environnementaux

Les conditions environnementales (climat, pollution, conditions édaphiques...etc) peuvent avoir une influence sur l'huile essentielle. En effet, durant les mois de basse température et de courte photopériode, on assiste à une réduction évidente de la production des composés volatils. Outre les variations annuelles et mensuelles, il peut également y avoir des fluctuations journalières qui semblent être liées à l'activité du pollinisateur. En effet, pour les espèces à pollinisation diurne, l'émission des composés volatils atteint son maximum pendant la journée, tandis que celles à pollinisation nocturne, montrent une émission maximale pendant la nuit (**Banchio, 2007**).

La nature du sol (type et composition) utilisé pour la culture des plantes influence la récolte et de ce fait, l'aspect qualitatif et quantitatif de l'huile essentielle (**Boira et Blanquer, 1998**). Plusieurs travaux ont montré l'existence d'une corrélation entre la composition d'huile essentielle et la zone géographique dans laquelle se trouve la plante (**Azevedo, 2001**). Les variations pouvant être observées peuvent être liées d'un côté, aux conditions environnementales propres à chaque région géographique et d'un autre côté, à la divergence génétique des plantes (**Banchio, 2007**). Par ailleurs, plusieurs phytopathologies ainsi que les dommages mécanique (herbivores) et chimiques (herbicides) sont responsables d'une instabilité de production des huiles essentielles. En effet, une huile essentielle extraite à partir d'une plante traumatisée contient des composés qui ne sont pas présents dans l'huile essentielle extraite d'une plante saine (**Banchio, 2007**).

I.6.3 Conditions d'extraction et de stockage

Les huiles essentielles peuvent être affectées par la méthode d'extraction employée (**Huang, 1995**), mais aussi par les conditions de stockage des matières premières avant distillation. En effet, une étude réalisée par **Fantino (1990)** a permis de constater, d'une part, des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu de variations de la composition, et d'autre part, le temps de stockage de l'huile après extraction, tend aussi à modifier sa composition (**Carette, 2000**).

I.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Autrefois réservées à la parfumerie et à la médecine, les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans notre quotidien ; dans des produits cosmétiques, des produits d'hygiène, des parfums d'ambiance, des huiles aromatiques destinées aux massages bien-être, ou encore commercialisées sous forme de complexes visant à purifier notre air pollué. Elles trouvent également un intérêt grandissant auprès de l'agroalimentaire. On estime à environ 3000 le nombre d'huiles essentielles connues et autour de 300 celles ayant un intérêt commercial, principalement pour l'industrie du parfum et des arômes (**Bruneton, 1993**).

I.7.1. En médecine (aromathérapie)

L'aromathérapie signifie littéralement "soin par les odeurs", il désigne la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles (**Buronzo, 2008**). Autrement dit, c'est une "biochimio-thérapie" naturelle sophistiquée qui repose sur la relation existante entre les composants chimiques des huiles essentielles et les activités thérapeutiques qui en découlent. Elle recourt à une méthodologie

rigoureuse qui s'inspire de données scientifiques solides confirmées tant par la clinique que par le laboratoire (**Baudoux, 2008**).

Les huiles essentielles sont connues et recherchées pour leurs propriétés thérapeutiques (**Viaude, 1993**), nous citons par exemple l'huile essentielle de romarin qui est un régénérateur hépatique et un draineur de la bile, et les huiles d'ail et de curcuma qui ont la capacité de prévenir l'apparition du cancer (**Béliveau et al., 2006**). Les huiles peuvent être utilisées pour soigner, atténuer ou prévenir les infections par inhalation ou bien par application sur la peau à travers des massages pour le traitement du stress, des crampes, de la douleur, de la circulation sanguine, de la cellulite, des inflammations...etc (**Rhayour, 2002 ; Gérault et al., 2008**). La médecine vétérinaire semble également s'intéresser de près aux huiles essentielles, et plus précisément à leurs propriétés antifongiques et antibactériennes surtout depuis que l'utilisation des antibiotiques a été limitée dans les élevages par l'union européenne en 2006. Elles sont ainsi utilisées pour soigner les animaux de différentes affections (**Burt, 2004 ; Baser et Buchbauer, 2009**).

I.7.2. En pharmacie

Plus de 40% de médicaments sont à base de composants actifs de plantes (**Bruneton, 1999**). Les huiles essentielles sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusions (verveine, thym, la menthe...etc), et sous forme de préparations galéniques (**Sallé et Pelletier, 1991**). Elles peuvent également être de simples excipients dans d'autres médicaments et servir par exemple d'arôme pour masquer le goût d'un principe actif (**Kaloustian et al., 2012**), ou servir comme agent de pénétration percutanée ou encore, comme source de précurseur (cas des citrals qui servent à la production de la vitamine A) (**Franchomme et al., 2001**).

I.7. 3. En agro-alimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisantes, les huiles essentielles sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires comme épices (laurier et thym, par exemple) (**Bruneton, 1993**). Elles sont également prisées de plusieurs secteurs agro-alimentaires :

- Les confiseries : bonbons, chocolat.
- Les laitages : de nombreux arômes de fruits y sont utilisés.
- Les boissons non alcoolisées : font appel aux huiles essentielles d'agrumes, de menthes...etc ;
- La charcuterie, les sauces, les vinaigres et les moutardes : font appel à de nombreuses plantes aromatiques.

- La liquoristerie : utilise largement les huiles essentielles anisées (fenouil, anis, badiane...etc) (**Hamadou et Touki, 2017**).

Leurs pouvoirs antioxydant et antimicrobien permettent aux huiles essentielles de prolonger la durée de conservation des aliments en évitant leur oxydation et leur contamination par les germes pathogènes (**Ismaili Alaoui et Bendjilali, 1990**).

I.7. 4. Cosmétologie et parfumerie

Les huiles essentielles sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques du fait qu'elles soient à la fois actives, odorantes et vectrices d'une image de produit « naturel » (**Kaloustian et Hadji Minaglou, 2012**). Leur utilisation dans l'industrie des cosmétiques est d'un grand intérêt du point de vue économique. Leur production mondiale pour la préparation des parfums a nettement augmenté, avec des groupes spécifiques de plantes aromatiques très recherchés sur le marché comme la sauge, la lavande et le thym qui sont particulièrement appréciés pour l'obtention de parfums fins et nouveaux (**Cook et Lanaras, 2016**).

De nos jours, ce sont d'avantage les molécules de synthèse qui entrent dans la composition très complexe et confidentielle mise au point par les grands parfumeurs, c'est le cas des composés d'huiles essentielles suivants : aldéhyde cinnamique (odeur caractéristique de la cannelle), benzaldehyde (imite l'odeur de l'amande amère), vanilline (pour les parfums chauds, doux et ambres) dihydrojasmonate de méthyle (odeur caractéristique du jasmin) (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013**).

Les huiles essentielles sont également incluses dans la formulation de savons, des produits de soins de la peau tels que des crèmes, des toniques ...etc. Elles agissent comme des régénérateurs de tissus cutanés, des agents anti-rides et anti-âge (**Hoareau et Dasilva, 1999**).

I.8. Toxicité des huiles essentielles

Vu leur composition chimique complexe, les huiles essentielles sont à utiliser avec précaution et prudence, car elles peuvent engendrer de graves dégâts de santé lors d'une utilisation aléatoire et inappropriée, ce ne sont donc pas des produits anodins et elles présentent certains risques de toxicité (**Benzeggouta, 2005**). Les effets secondaires varient en fonction de leur nature chimique (**Traoré, 2006**), certaines sont toxiques par voie cutanée en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergènes (huiles riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al., 2000**), phototoxiques (huiles contenant des furocoumarines) (**Naganuma et al., 1985**), (huiles riches en cétone comme α -thujone) (**Franchomme et Pénéol, 1990**), néphrotoxiques (huiles riches

en terpènes comme celles de la térébenthine et des rameaux de genévrier, par exemple), ou encore hépatotoxiques (huiles riches en phénols comme l'eugénol, qui est l'un des constituants principaux du thym). De ce fait, il est important de respecter la posologie et la durée de la prise (Lamamra, 2007).

I.9 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

I.9. 1. Distillation

La distillation est un procédé de séparation de liquides dans un mélange. Elle est basée sur la nature volatile des composants aromatiques à séparer du reste de la plante, elle utilise pour ce faire, la vapeur d'eau. Il existe trois différents procédés qui utilisent le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (piochon, 2008).

I.9. 1.1. Hydrodistillation

Cette méthode est l'une des plus anciennes et des plus simples, elle est normée que ce soit pour l'extraction des huiles essentielles, ou pour le contrôle de leur qualité (AFNOR, 1996; Duval, 2012). Son principe général est le suivant (figure 05) : On chauffe dans un alambic une suspension de matière végétale dans l'eau jusqu'à ébullition. La chaleur appliquée permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules contenues. Il se forme donc un mélange azéotrope comprenant l'eau et les composés volatils, dont la température d'ébullition est proche des 100°C alors que, celle des molécules aromatiques seules, est souvent très supérieure. Ces substances volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau puis sont condensées dans le réfrigérant. L'huile essentielle récupérée se sépare par gravité de l'eau à laquelle elle n'est pas miscible (Lucchesi, 2005).

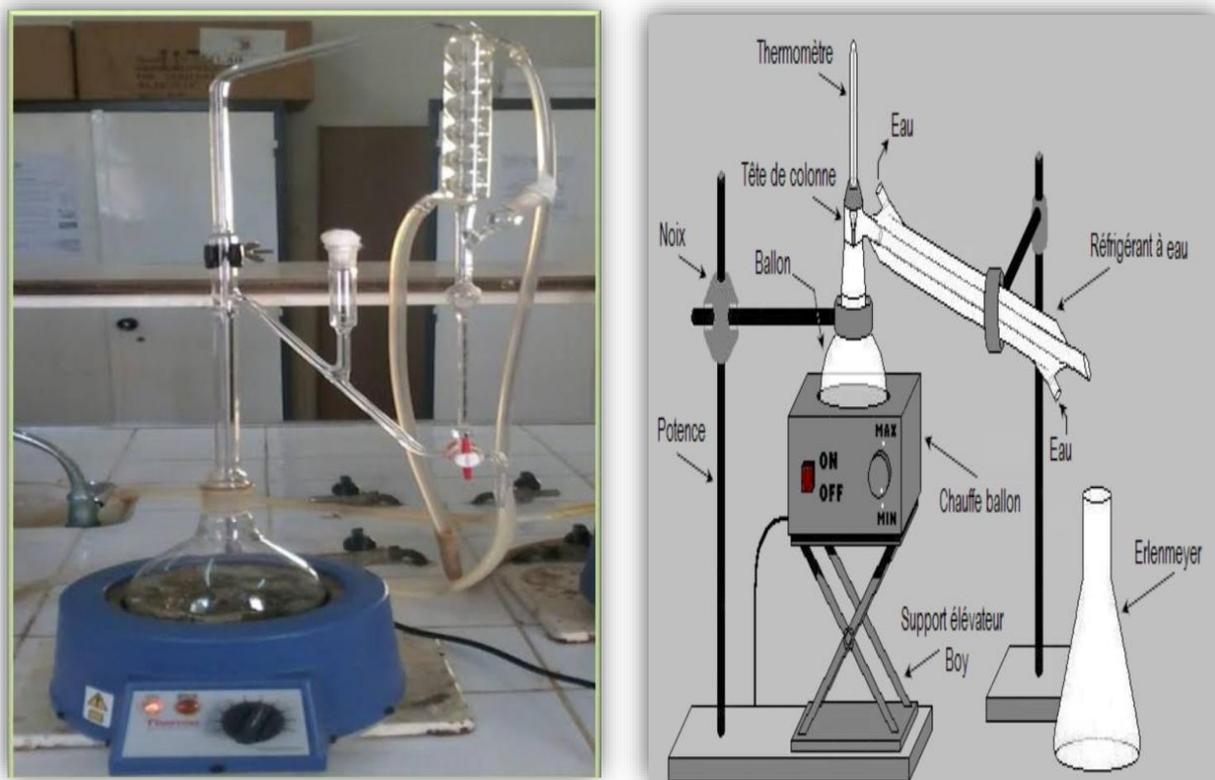


Figure 05 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles (Bruneton, 2009)

La durée d'extraction est variable d'une plante à une autre, et peut atteindre plusieurs heures, ce qui peut avoir une influence sur le rendement mais également sur la composition finale de l'huile essentielle. Les essences riches en composés lourds nécessitent un temps de chauffage plus long pour permettre une extraction satisfaisante. Le travail peut se faire dans un circuit à pression réduite, notamment pour les molécules difficiles à entraîner. La température d'ébullition et les dégradations liées à celle-ci seront alors considérablement réduites (Lucchesi, 2005).

L'hydrodistillation présente plusieurs avantages ; outre sa relative simplicité de mise en œuvre, c'est son faible coût qui en fait une méthode d'intérêt. De plus, un brassage peut être appliqué pour assurer la pénétration de l'eau au sein de la plante, là où la vapeur d'eau utilisée dans d'autres méthodes, ne peut pénétrer. Par ailleurs, la technique comprend un certain nombre d'inconvénients, ce qui fait qu'elle est peu à peu remplacée par d'autres méthodes. Par exemple, elle ne s'applique qu'à petite échelle, elle est très lente nécessitant de ce fait, un apport d'énergie plus important, ce qui relativise le faible coût de l'installation. De plus, le fait que la matière première baigne dans l'eau, à température élevée et pendant plusieurs heures, un certain nombre

de transformations au sein de l'essence peuvent survenir, par exemple, les esters peuvent en partie s'hydrolyser, les hydrocarbures monoterpéniques acycliques et les aldéhydes ont tendance à polymériser, tandis que certains composés oxygénés tels que les phénols se dissolvent en partie dans l'eau contenue dans l'alambic et ne sont donc pas extraits (Tuley de Silva, 1995 ; Handa, 2008).

I.9.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est une variante plus récente de la distillation dans laquelle il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau. En effet, de la vapeur d'eau est produite dans une chaudière séparée, puis injectée à la base de l'alambic dans lequel se trouve la plante. La vapeur remonte dans l'alambic et traverse la plante. De la même façon que dans l'hydrodistillation, on assiste à un éclatement des cellules et à la formation d'un mélange azéotrope, récupéré en haut de la cuve et condensé (figure 06) (Lucchesi, 2005 ; De Sousa, 2012).

Parmi les principaux intérêts de cette méthode par rapport à l'hydrodistillation, c'est qu'elle permet généralement des extractions à plus grande échelle, mais aussi la préservation de la qualité de l'essence. En effet, la plante ne macère pas dans l'eau ; ce qui limite les phénomènes d'hydrolyse et de solubilisation de certains composés hydrosolubles comme les phénols qui sont donc mieux extraits (De Sousa, 2012). La génération de la vapeur dans une chaudière externe permet de contrôler la quantité, la pression ou encore la température à laquelle se fait l'extraction, elle permet également de réduire le temps d'extraction et l'apport énergétique nécessaire. Cependant, le coût des installations nécessaires pour sa mise en application est bien plus important que pour l'hydrodistillation. Cela pose un problème de rentabilité pour les huiles essentielles présentes en grande quantité et à faible prix sur le marché (Handa, 2008).

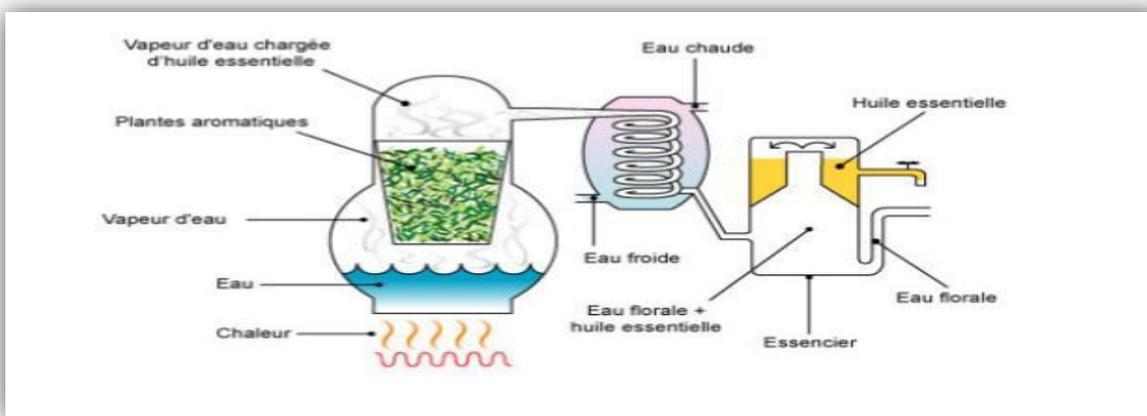


Figure 06 : Schéma de l'appareil d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau (Pranarôm, 2016)

I.9. 1.3. La percolation ou hydrodiffusion

Cette méthode est une autre forme de distillation à la vapeur dans laquelle le flux de vapeur n'est plus orienté de bas en haut, mais traverse la plante à partir du haut de la cuve et est récupérée à sa base (**figure 07**). Ce procédé est encore plus économe en temps et en énergie car il consomme moins de vapeur et le rendement d'extraction est meilleur. Il est cependant plus cher à employer et n'est utilisé que pour les matières premières fragiles dont les huiles essentielles (**Baser et Buchbauer, 2009**). De par cette technique d'extraction, il est possible de retrouver dans l'huile essentielle des composés non volatils, qui n'auraient pas été extraits par une autre méthode, c'est pourquoi il est préférable de parler ici « d'essence de percolation » et non d'huile essentielle (**Piochon, 2008**).

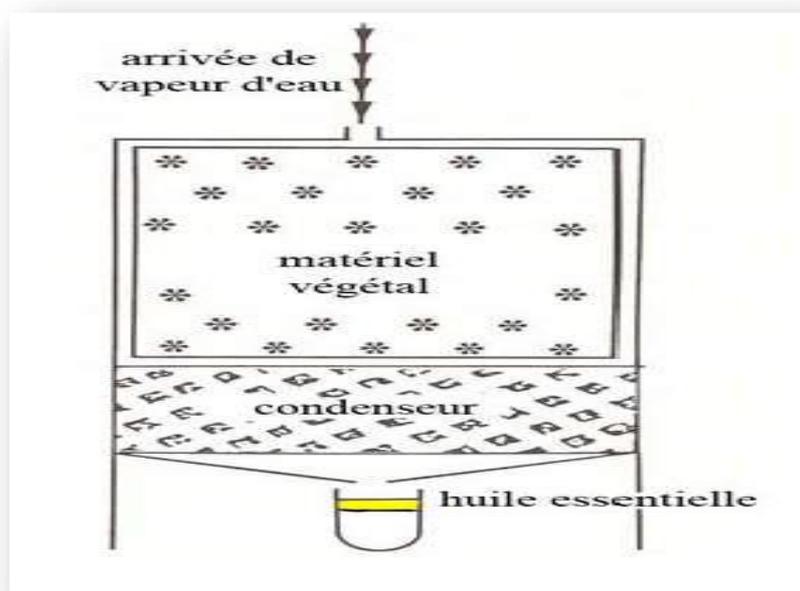


Figure07 : Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion (Lucchesi, 2005).

I.9.2. Expression à froid

L'expression à froid est la méthode d'extraction la plus simple, elle ne concerne que les huiles essentielles produites à partir des agrumes et plus précisément, des glandes oléifères de l'épicarpe. Les moyens utilisés sont mécaniques et vont de la simple abrasion du zeste du fruit, au broyage de la peau dans son intégralité. C'est la technique la plus respectueuse du produit de départ, permettant l'obtention d'une huile essentielle de qualité satisfaisante. Cela s'explique par

le fait qu'aucun chauffage n'est appliqué au cours de l'extraction ; donc aucune modification de composition d'huile essentielle n'a lieu. Le terme « essence » convient alors parfaitement pour désigner les huiles essentielles obtenues (**Dugo et Di Giacomo, 2002 ; Baser et Buchbauer, 2009**).

I.9.3. Extraction par enfleurage

L'enfleurage est une ancienne technique d'extraction des parfums des fleurs. Il s'agit d'une extraction à froid par la graisse, celle-ci est étalée sur une surface plate (tamis ou plateau), les fleurs sont déposées une à une et à la main à sa surface. Par son grand pouvoir d'absorption, la graisse fixe le parfum. On pratique des remplacements successifs des fleurs jusqu'à saturation de la graisse (**Handa, 2008**). La matière grasse est ensuite récupérée pour former une « pommade ». Cette dernière subit des traitements successifs à l'alcool qui permettent un passage progressif des substances odorantes de la graisse vers l'alcool, qui sera par la suite éliminé pour donner l'absolu d'enfleurage (**Garneau, 2005**).

L'enfleurage est employé pour l'extraction des essences de fleurs très délicates comme la rose, la tubéreuse, le jasmin qui ne peuvent pas supporter les hautes températures de l'extraction à la vapeur (**Toninoli et Meglioli, 2013**). Elle est particulièrement intéressante pour les fleurs qui continuent à dégager leur parfum après la cueillette comme par exemple le jasmin (*Jasminum grandiflorum* L.). Dans le cas de cette espèce, les fleurs sont remplacées toutes les 24h pendant environ 70 jours (**Garneau, 2005**).

I.9.4. Extraction par les solvants organiques

Ce procédé est inspiré de l'enfleurage car il utilise aussi des solvants non aqueux. Il peut s'agir de l'hexane, d'éther de pétrole, solvant de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (**Lawrence, 1995**). Le solvant idéal doit répondre aux critères suivants (**Garneau, 2005**) :

- Être sélectif : extraire les molécules aromatiques mais pas les molécules indésirables comme les pigments ;
- Avoir une température d'ébullition basse, pour permettre une élimination simple.
- Être chimiquement inerte vis-à-vis des substances à extraire.
- Ne pas être miscible à l'eau, ce qui rendrait la purification de l'extrait plus délicate.
- Être peu coûteux.

- Ne pas présenter de contre-indication dans les domaines d'application de l'extrait obtenu.
- Ne pas être inflammable.
- Présenter la plus faible toxicité possible.

Aucun solvant ne remplit la totalité de ces conditions, mais le plus fréquemment utilisé est l'hexane. L'intérêt de ces solvants est leur pouvoir d'extraction des parfums qui est très supérieur à celui de l'eau, cependant, ils n'entraînent pas seulement les composés volatils. Le point négatif des solvants organiques est qu'ils présentent un risque de toxicité, cela réduit les champs d'application des extraits obtenus (appelés « concrètes »), notamment dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires (Piochon, 2008).

I.9.5. Extraction assistée par micro-ondes

Il s'agit d'une hydrodistillation par micro-ondes, sous vide. La matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée par les micro-ondes. Les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans le végétal. La vapeur est ensuite récupérée et traitée de la même façon que dans les méthodes traditionnelles. Ce procédé ne nécessite pas l'utilisation de solvants chimiques et permet de réduire le temps d'extraction et par extension, l'énergie nécessaire d'un facteur de 5 à 10 selon les plantes, ainsi quinze minutes sont nécessaires pour traiter, par exemple : 2Kg de menthe poivrée avec un rendement de 1%, contre deux heures pour un même résultat par hydrodistillation et tout cela sans différence significative dans la composition chimique de l'huile essentielle (Gavahian *et al.*, 2012 ; Piochon, 2008).

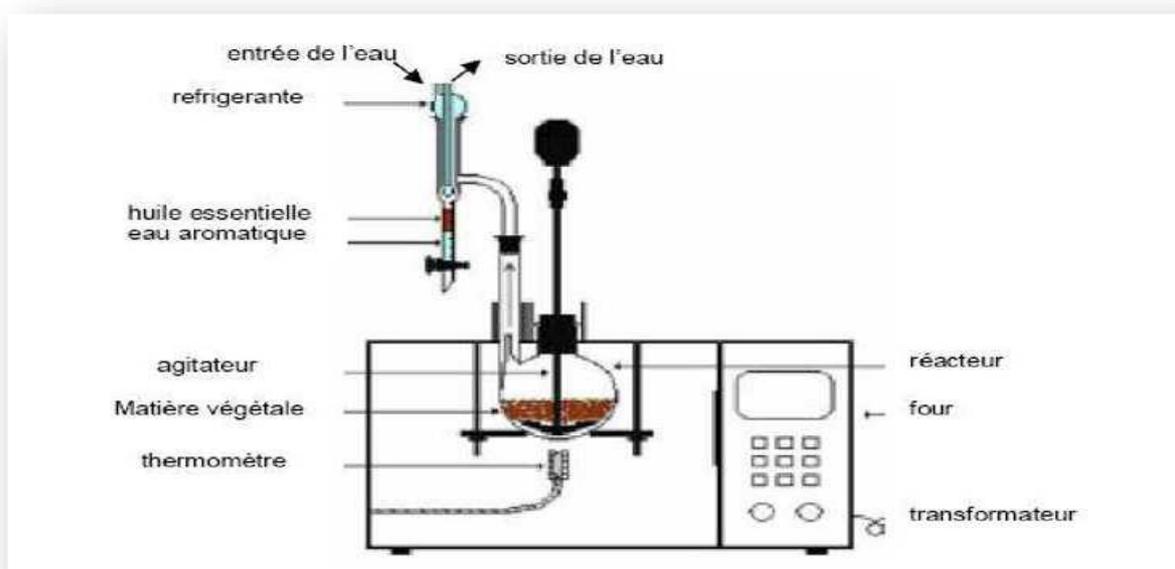


Figure 08 : Le montage d'extraction par micro-ondes (Luicita, 2006).

I.9.6. Extraction par fluide à l'état supercritique

Les fluides supercritiques et principalement le dioxyde de carbone (CO_2), sont utilisés sous pression (100-400 bars) et à température voisine de l'ambiante (30-60° C). La technique met à profit une propriété originale du CO_2 qui, au-delà du point critique (pression de 73,8 bars et température de 31,1°C), se trouve dans un état intermédiaire entre le liquide et le gaz ; lui conférant un important pouvoir d'extraction des molécules aromatiques. Le principe général est de faire cheminer le CO_2 au travers de la matière végétale, ce qui permet de libérer les molécules aromatiques présentes. Le mélange passe ensuite dans un séparateur où le CO_2 est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé tandis que l'extrait est condensé puis récupéré (**figure 09**) (Fernandez et Chemat 2012).

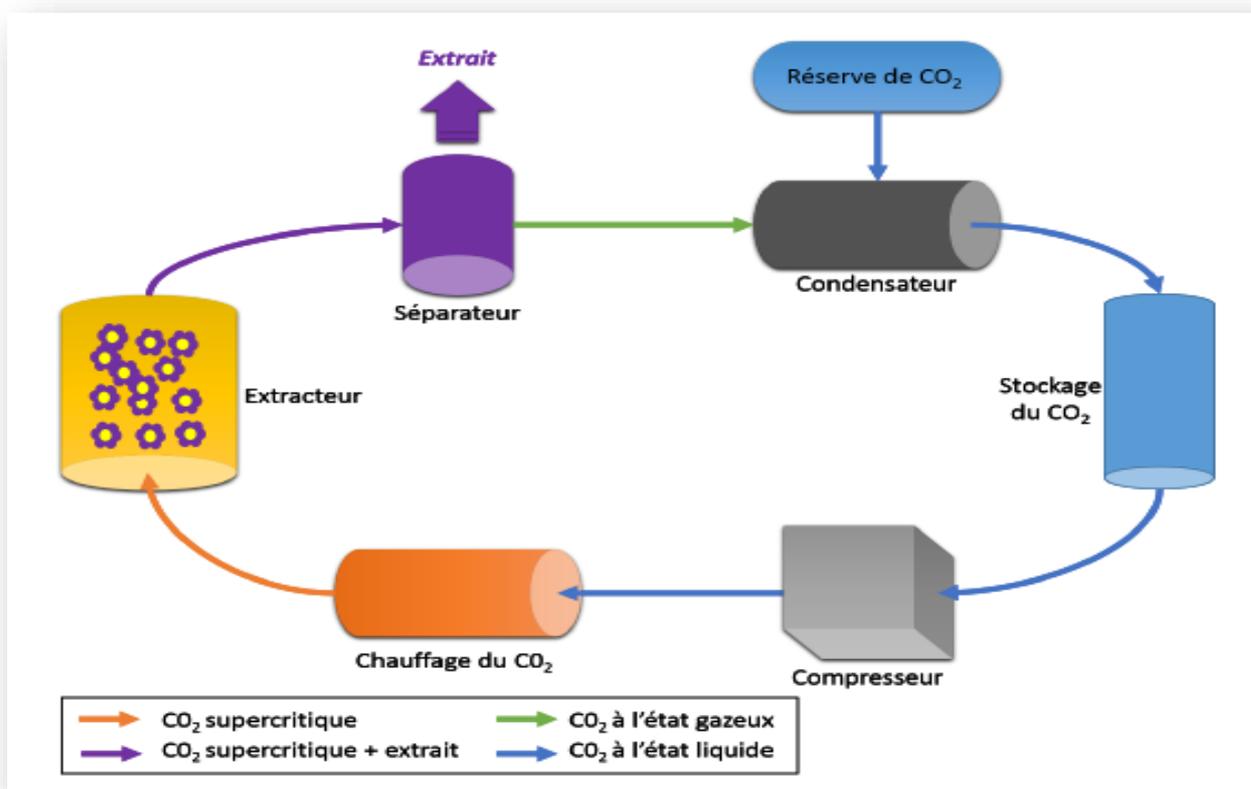


Figure 09 : Schéma simplifié d'un extracteur au CO_2 supercritique (Deschepper, 2017)

Cette technique d'extraction présente de nombreux avantages, en effet, le CO_2 répond à plusieurs critères relatifs au solvant « idéal ». Il est naturel, chimiquement inerte, ininflammable, peu toxique, sélectif, relativement peu coûteux car abondant, et son élimination se fait facilement sans le moindre résidu. De plus, l'extraction ne nécessite ni eau ni température élevée donc aucune

transformation chimique (**Fernandez et Chemat, 2012**). Par ailleurs, la possibilité qu'offre la méthode de jouer sur sa sélectivité d'extraction, en faisant varier les conditions de température et de pression, permet de rapprocher la composition de l'extrait CO₂ de celle d'une huile essentielle, ou au contraire de favoriser certaines molécules pour coller aux exigences d'une utilisation future (**Piochon, 2008**). Tout cela rend le procédé intéressant et très attractif, toutefois, il présente également certains inconvénients. En effet, la complexité des installations les rend chères et donc inaccessibles aux petits producteurs, la mise en marche nécessite une bonne maîtrise technique et consomme de l'énergie, ce qui contribue à l'augmentation des coûts de production (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Chapitre II

Laurus nobilis

II.1. La famille Lauraceae

La famille des Lauracées est considérée comme une des familles les plus primitives des angiospermes. Elle comporte 2000 à 2500 espèces réparties en cinquantaine de genres dont *Cinnamomum* (cannelle), *Cryotocarya*, *Laurus* (laurier) et *Persea* (avocatier). Elle est principalement composée de plantes ligneuses, arbres ou arbustes odorants (**Spichiger et al., 2002**). Elle est cultivée par graines ou par bouturage un peu partout dans le monde (région méditerranéenne, Asie, Amazonie, Australie...etc) (**Tomar et al., 2020**). La seule espèce représentant la famille dans la région méditerranéenne en particulier en Turquie, Grèce, Espagne, Italie et France, c'est le laurier (**Regnault-Roger, 1997 ; Arroyo Garicial et al., 2001**).

La plupart des espèces des Lauracées sont aromatiques (feuilles ou écorces), les feuilles sont d'ailleurs largement utilisées dans les assaisonnements de plats et dans la médecine traditionnelle, et ce depuis les périodes antiques grecques et romaines (**Demir et al., 2004**).

II.2. Le genre *Laurus*

Le genre *Laurus* renferme trois espèces : *Laurus azorica*, *L. nobilis* et *L. novocanariensis*. La première espèce se trouve dans les forêts des îles des Açores, la seconde dans l'ensemble du bassin méditerranéen, quant à la troisième, elle est présente sur l'île de Madère, aux Canaries et au Maroc (**Ballabio et Goetz, 2010 ; Lobstein et al., 2017**).

II.2.1. Le laurier (*Laurus nobilis*)

II.2.1.1. Description botanique

La plante autrefois nommée « Daphné », a été définie comme *Laurus nobilis* par Goodyer en 1655 (**Alejo et al., 2017**). Il s'agit d'un arbuste de 2 à 10 mètres de hauteur, à croissance lente ; atteignant les 5 à 6 m environ en 20 ans (**Geerts et al., 2002**). Il a une formation érigée vers le haut (aspect pyramidal), et possède un tronc très développé avec une écorce très charnue noire à gris foncé, plus ou moins lisse chez les jeunes sujets, et s'écaillant chez les très vieux arbres. Les branches remontent en oblique avec des jeunes pousses fines, glabres et brun rougeâtre dont les bourgeons sont étroits, verts rougeâtres et longs de 0,2 à 0,4 cm (**Ouibrahim et al., 2015**). Les tiges sont grises dans leur partie basse et vertes dans leur partie haute. (**Geerts et al., 2002 ; Demir et al., 2004 ; Botineau et Pelt, 2015**).

Les feuilles sont vert foncé, alternes, allongées à lancéolées, se terminant en pointe des deux côtés et courtement pétiolées. Elles mesurent 8 à 16 cm de long et 3 à 4 cm de large, leur limbe est glabre, entier, souvent légèrement ondulé et épaissi sur les bords, recourbé vers l'intérieur

(Lobstein *et al.*, 2017). Les fleurs sont petites odorantes en forme d'étoile à la fin du printemps de couleur blanchâtre à jaune, dioïques, rassemblées en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées (Beloued, 2001). Les fruits ou baies sont globuleux, drupes, charnus et aromatiques. D'aspect, ils ressemblent à une petite olive avec la forme ovale ou ellipsoïde, mesurant 2 cm de long et 1 cm de large. Ils sont de couleur verte au début et virent au violet puis au noir profond à maturité (figure 10) (Alejo-Armijo *et al.*, 2017).

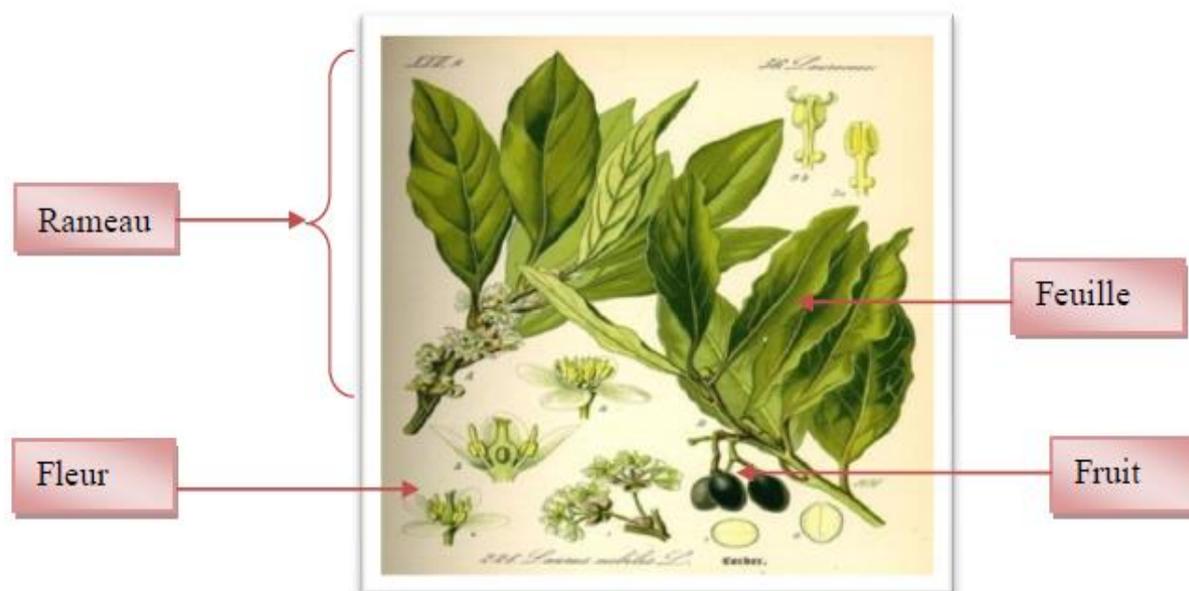


Figure 10: Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued, 2005)

II.2.1.2. Classification botanique

La classification du laurier est comme suit (Quezel et Santa, 1962) :

Tableau 1 : La position systématique de *Laurus nobilis* (Quezel et Santa, 1962).

| | |
|---------------------------|-----------------------|
| Règne | Végétal |
| Embranchement | <i>Spermaphytes</i> |
| Sous-embranchement | <i>Angiospermes</i> |
| Classe | <i>Dicotyledones</i> |
| Sous-classe | <i>Magnoliidae</i> |
| Ordre | <i>Laurales</i> |
| Famille | <i>Lauraceae</i> |
| Genre | <i>Laurus</i> |
| Espèce | <i>Laurus nobilis</i> |

- La nomenclature du laurier :

Tableau 2 : Nomenclature de *Laurus nobilis* (Anton, 2005 ; Ballabio, 2010)

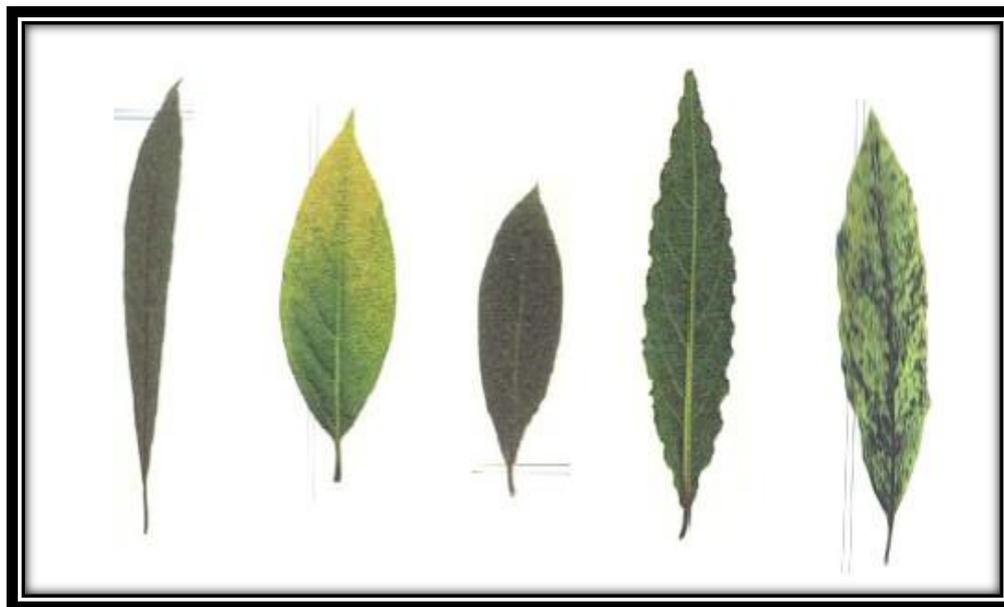
| Nom scientifique | <i>Laurus nobilis</i> |
|------------------|--|
| Nom français | Laurier d'Apollon, laurier commun, laurier franc, laurier noble. |
| Nom anglais | Laurel, sweet bay, bay tree, roman laurel, noble laurel. |
| Nom vernaculaire | Rand, رند |

II.2.1.3. Cultivars de laurier

Les variétés de laurier noble sont peu nombreuses, elles diffèrent entre-elle de par la vigueur, la forme et la couleur des feuilles, l'odeur aromatique et l'adaptation aux divers facteurs abiotiques (climat, sol...etc). Parmi les plus connues, on trouve (**figure n°11**):

- **Aurea** (ou Aureum) : au feuillage doré devenant vert ensuite.
- **Bay Junior** : au port compact, à croissance lente et au feuilles plus petites.
- **Borms** : sélection plus rustique.
- **Brilant Times** : sélection japonaise au jeune feuillage doré et lumineux. Plus intense que Aurea au débourrement.
- **Chichester** : au feuillage fin, irrégulièrement panaché et éclaboussé de blanc.
- **Crispa** (ou Undulata) : aux feuilles au bord crispé.
- **Feys** : sélection plus rustique.
- **Goldstein** : sélection aux feuilles rondes et plus rustique.
- **Hex Brillant** : aux feuilles irrégulièrement marginées de doré passant au crème ensuite.
- **Little Ragu** : sélection naine au port arrondi.
- **Moonspot** : au feuillage éclaboussé de blanc.
- **Popeye** : sélection au feuillage dense.
- **Pride of Provence** : sélection naine au port compact et dense et rameaux aux entre-nœuds courts.
- **Sunspot** : au feuillage éclaboussé de jaune-crème.
- **Tough and Rough** : sélection de la pépinière Esveld au Pays Bas présentant une très bonne rusticité.
- **Waasland Creme** : au feuillage tacheté de crème donnant un aspect maladif à la plante.

- **f. angustifolia** (ou Salicifolia) : aux feuilles longues et fines (Geerts *et al.*, 2002).



De gauche à droite : var. 'angustifolia', var. 'aurea', var. 'Bay Junior', var. 'crispa', var. 'Waasland Crème'

Figure 11 : Feuilles de différents cultivars de *Lauru snobilis* (Geerts *et al.*, 2002)

II.2.1.4. Habitat

Le laurier noble est un membre sempervirent naturel à croissance lente (Alejo *et al.*, 2017), qui pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins où il est cultivé comme condiment ou plante ornementale. C'est une espèce pionnière qui se régénère abondamment dans les vieux jardins, en particulier en sous-bois. Elle apprécie les terrains relativement fertiles (terre de jardin, terreau de fumier décomposé), et bien drainés (Iserin, 2001).

Le laurier apprécie les ravins de montagnes du pourtour méditerranéen jusqu'à 1200 mètres d'altitude (Dominique, 2017). Il peut s'adapter à tous types de sols hormis les sols trop acides, et peut se développer facilement dans les sols profonds vu son système racinaire pivotant. Il préfère des hivers avec des températures ne descendant pas en dessous de -5°C, avec des précipitations pluviométriques de 600 mm/an, et un taux d'humidité appréciable, et craint les fortes chaleurs ; ce qui nécessite des irrigations répétées pendant l'été (Teuscher *et al.*, 2005).

II.2.1.5. Répartition géographique

L'espèce *Laurus nobilis* est répandue dans les régions tempérées et subtropicales, en Asie, dans les pays d'Amérique donnant sur l'Atlantique et en Afrique, mais aussi dans tout le bassin méditerranéen et les régions d'Europe. Elle est parmi les plantes les plus dominantes des pourtours de la Méditerranée (Sage, 2012).

En Algérie, elle pousse spontanément dans la région du Tell algérois et constantinois (Beloued, 2001 ; Maatallah *et al.*, 2016). Elle est généralement cultivée pour la commercialisation de ses feuilles aromatiques dans de nombreux pays comme la Turquie, l'Algérie, le Maroc, le Portugal, l'Espagne, l'Italie, la France, la Grèce et le Mexique (Bendjarsia *et al.*, 2016 ; Maatallah *et al.*, 2016).

II.2.1.6. Composition chimique de *Laurus nobilis*

Les feuilles du laurier contiennent des tanins, du mucilage des matières résineuses et pectiques, et une huile essentielle aromatique incolore ou jaune pâle. Les baies renferment 17 à 25% d'huile de laurier, 23% d'amidon, 2% de sucre, 0.85% de principes amers, une résine, du mucilage, de la bassorine, et 1 à 3% d'essence (Beloued, 2009). L'huile essentielle de la plante est constituée d'un mélange d'oxydes terpéniques, notamment, le composé 1,8-cinéole à 45% environ, de mono-terpénols (linalol, le terpinén-4-ol, et l'alpha-terpinéol), de monoterpènes (sabinène, bêta-pinène, alpha-pinène, limonène, para-cymène, gamma-terpinène...etc), de phénols (méthyl-eugénol, eugénol), d'esters terpéniques (acétate d'alpha-terpényle , acétate de bornyle), mais aussi d'éthers des acides acétiques isobutyrique et valérianique (Beloued, 2009 ; Stefanova *et al.*, 2020).

II.2.1.7. Usages du laurier

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

II.2.1.7.1. Usages thérapeutiques

Les applications du laurier noble sont très importantes en médecine traditionnelle (Simi *et al.*, 2003). Il est principalement utilisé par voie orale dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique (Iserin, 2001). Son extrait aqueux peut agir comme un antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique, antidote contre les morsures de serpent, et pour le traitement des maux d'estomac (Kivcak et Mert, 2002).

L'huile essentielle obtenue de ses feuilles peut également être employée pour soulager des hémorroïdes et des rhumatismes (**Sayyah et al., 2002**).

Le laurier présente bien d'autres bienfaits encore ; il ouvre l'appétit, stimule la sécrétion de sucs gastriques dans l'estomac, assure une bonne digestion et évite les fermentations.). Il aurait aussi des propriétés intéressantes sur l'appareil urinaire puisqu'il tonifierait la vessie éliminerait les calculs rénaux, son écorce soulagerait les affections du foie (**Ouafi et al., 2017**).

Les feuilles ont été employées en médecine traditionnelle pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (**AqiliKhorasani, 1992**). Préparées en décoction et ajoutées à l'eau du bain, elles soulageraient les membres endoloris, tandis que sous forme de cataplasme, elles atténueraient la douleur liée aux piqûres de guêpes ou d'abeilles (**Ouafi et al., 2017**).

II.2.1.7.2. Usages culinaires

Les feuilles du laurier sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays. Elles sont généralement utilisées comme épice dans les potages, les ragoûts et les sauces, et comme agent aromatisant en industrie alimentaire. Elles forment entre autres un ingrédient essentiel du mélange d'herbes (bouquet garni) (**Aqilikhorasani, 1992**).

II.2.1.7.3. Usages cosmétologiques

L'huile essentielle des feuilles de *L. nobilis* est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons et des crèmes (**Kosar et al., 2005**).

Chapitre III

Activité

antibactérienne des

huiles essentielles

III .1 Les antibiotiques

III.1.1. Définition

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par un microorganisme (champignon microscopique et bactérie), ou d'origine synthétique, capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes affectant ainsi, les processus vitaux du germecible (**Gogny *et al.*, 2001 ; Guardabassi et Courvallin, 2006**). Pour qu'il soit actif, un antibiotique doit pénétrer dans la bactérie, sans n'être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne (**Ogawara, 1981**).

III.1.2. Mode d'action

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne. Cette grande spécificité d'action est la raison pour laquelle les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés (**figure 12**) (**Mevius *et al.*, 1999 ; Oxoby, 2002**).

Les sites sur lesquels les antibiotiques peuvent agir sont :

- **La paroi bactérienne:** des familles d'antibiotiques comme les polypeptides (bacitracine), les β -lactamines (pénicilline) et les céphalosporines agissent en inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (appelé également muréine, un composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité, ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intracytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire, ce qui entraîne une lyse bactérienne (**Zeba, 2005**).
- **La membrane cellulaire :** les antibiotiques peuvent désorganiser sa structure et son fonctionnement, ce qui produit de graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur (**Singh et Barrett, 2006**).
- **L'ADN :** certaines familles d'antibiotiques empêchent la réplication du génome bactérien en bloquant la progression de l'ADN polymérase, l'actinomycine bloque la progression de l'ARN polymérase, les sulfamides provoquent une inhibition de la synthèse des bases nucléiques, ce qui induit une carence en ces dernières et donc, la mort de la cellule (**Flandrois *et al.*, 1997**). D'autres comme les quinolones et les fluoroquinolones inhibent l'ADN gyrase (**Chopra, 1998**).
- **Les ribosomes :** quand ils sont pris pour cible, cela provoque l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales. Parmi les familles d'antibiotiques actives, les aminoglycosides ou aminosides (streptomycine, gentamycine, amikacine) qui empêchent la

traduction de l'ARNm en se fixant sur la petite sous-unité du ribosome (Hermann, 2005), les phénicols (chloramphénicol, thiamphénicol) qui bloquent la formation de la liaison peptidique sur la grande sous-unité du ribosome, les cyclines (tétracycline, doxycycline) qui bloquent l'élongation de la chaîne peptidique en se fixant sur la petite sous-unité (Flandrois *et al.*, 1997) ou encore, les macrolides et les kétolidés (érythromycine, azithromycine) qui bloquent l'élongation de la chaîne peptidique (Nilius et Ma, 2002).

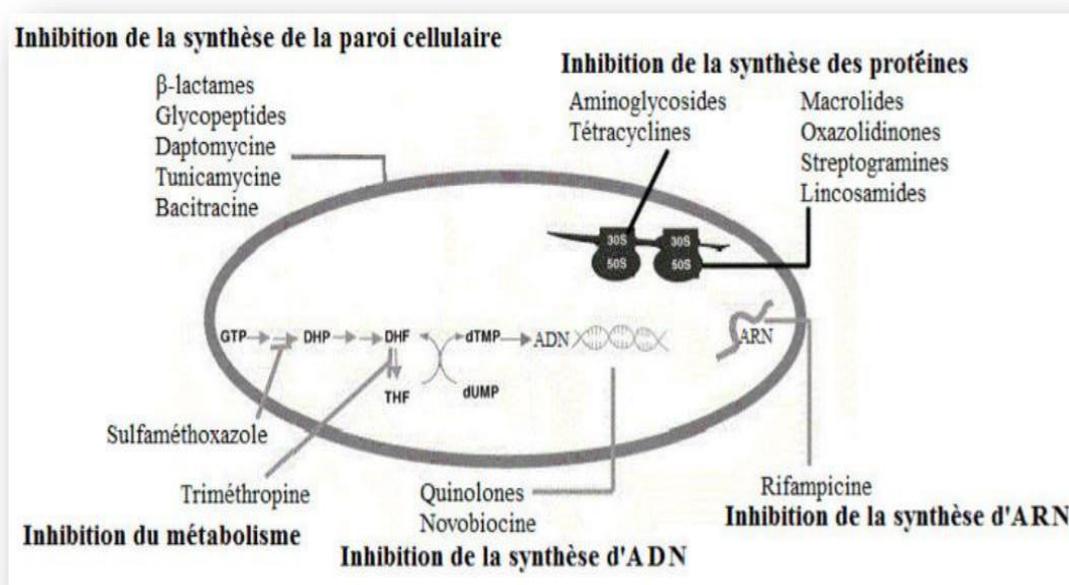


Figure 12 : Les différents modes d'action des antibiotiques (Singh et Barrette, 2006)

III.1. 2 La résistance bactérienne aux antibiotiques

Dans la nature, les bactéries peuvent disposer de mécanismes de résistance contre des molécules auxquelles elles sont naturellement confrontées dans leur environnement, en particulier certains antibiotiques sécrétés par les plantes, les champignons ou les bactéries compétitrices pour leur propre défense. De manière générale, la résistance aux antibiotiques résulte d'une évolution par sélection naturelle, les antibiotiques exercent une pression sélective très forte en éliminant les bactéries sensibles. On suppose que le cas le plus fréquent est une adaptation rapide des bactéries à un nouvel écosystème, qui naît de mutations génétiques aléatoires leur permettant d'y survivre, et de continuer à se reproduire, en transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance (figure 13) (Carattoli, 2001).

Ce phénomène est appelé « antibiorésistance », il désigne la capacité d'un microorganisme de croître en présence d'une concentration plus élevée d'antibiotique que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce (Avorn *et al.*, 2001).

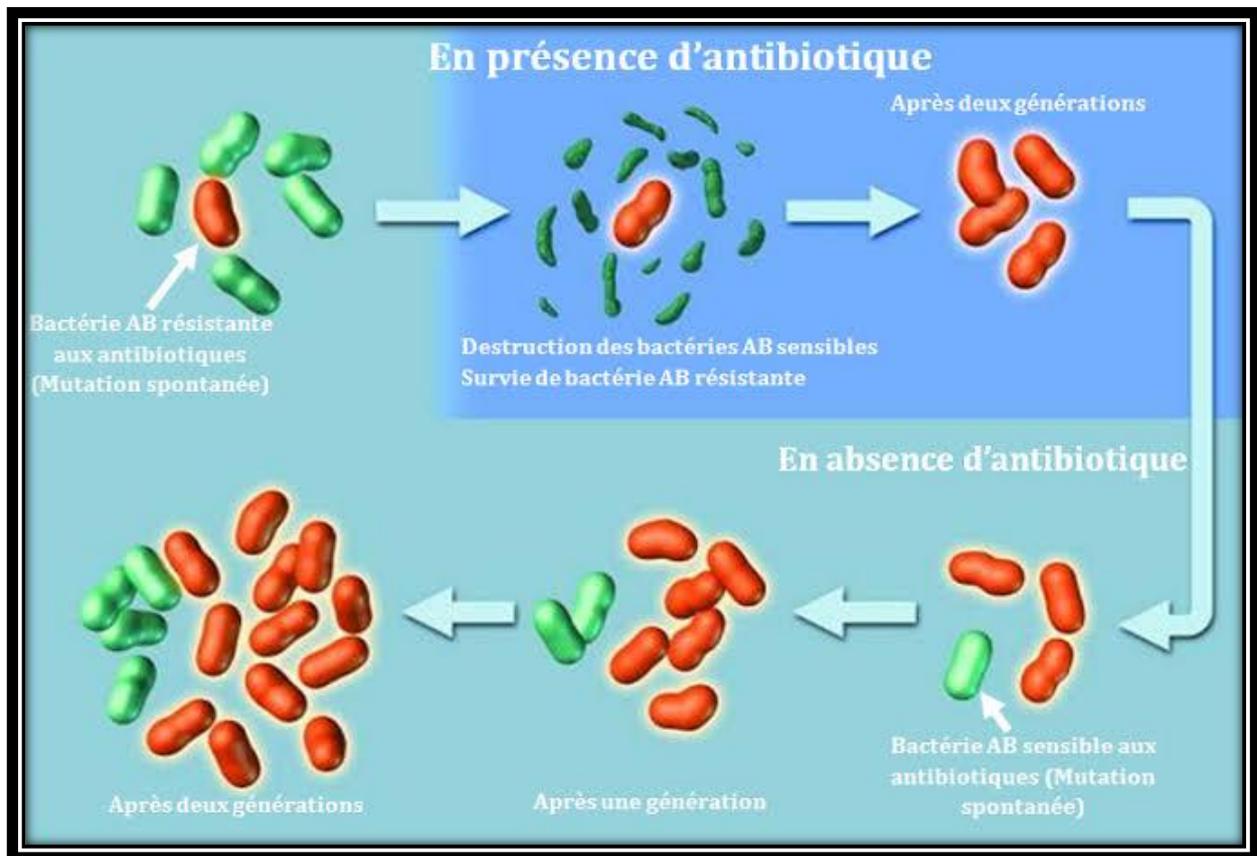


Figure 13 : Schéma illustrant le développement de la résistance aux antibiotiques (George *et al.*, 1998)

Il existe deux types de résistances aux antibiotiques :

- **La résistance naturelle**

La résistance naturelle, dite également intrinsèque, est un caractère faisant partie du patrimoine génétique de la bactérie, elle est présente chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Elle est permanente, stable et transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, et n'est généralement pas transmissible d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale). Elle peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore, à l'absence de la cible. Elle est, par exemple, rencontrée chez les entérobactéries et *Pseudomonas* qui sont résistants aux macrolides, et les entérocoques qui sont résistants à la vancomycine (Mandell *et al.*, 2009).

▪ La résistance acquise

Les bactéries, préalablement sensibles à un antibiotique, peuvent développer une résistance à celui-ci par acquisition de gènes de résistance étrangers ; ce qui implique des changements génétiques chromosomiques ou extra-chromosomiques. Cette résistance est dite acquise, et ne concerne que quelques souches d'une même espèce normalement sensibles à un antibiotique donné, mais peut s'étendre. Elle possède généralement un faible risque de transmission horizontale lorsque la résistance est le résultat d'une mutation chromosomique, en revanche, elle a un potentiel plus élevé par ce même mode de transfert lorsque les gènes de résistance sont présents sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, bactériophages et transposons) (Khachatourians, 1998 ; Commission Européenne, 2008 ; El Brahmi, 2013).

III.2.1. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

III.2.1.1. Résistance par inhibition enzymatique

La bactérie produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique. Cette synthèse peut être induite par un facteur externe (un antibiotique) ou constante (non affectée par des stimuli externes). On appelle inductible, une résistance qui se produit à la suite d'une exposition à un agent d'une classe pharmacologique donnée et constitutive lorsque les gènes à l'origine de la résistance s'expriment en permanence, même en l'absence de tout antibiotique. Un des cas les plus connus de ce mécanisme de résistance sont les β -lactamases. Ces enzymes sont produites par les bactéries et sont transmises par des chromosomes ou des plasmides. Leur rôle est de désactiver les lactamines en détruisant le lien amide sur le cycle lactame. Cette classe d'antibiotiques est l'une des plus importantes étant donné qu'elle est parmi les plus prescrites dans le monde, il n'est donc pas étonnant que la résistance des bactéries à cette dernière pose un problème majeur de santé publique. Un autre exemple, celui des céphalosporinases chromosomiques qui confèrent aux bactéries concernées une résistance aux céphalosporines. Ces enzymes ne détruisent pas l'antibiotique mais inhibent l'accès à son site d'action. Elles sont synthétisées chez des espèces naturellement productrices de céphalosporinase inductibles (entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*) qui à la suite d'une mutation, en produisent en très grandes quantités. Il s'agit d'un phénotype qualifié de « hyperproduction de » ou de « céphalosporinase dérégulées » (Sanders *et al.*, 1992 ; Pitout *et al.*, 1996).

III.2.1.2. Accessibilité réduite de la cible

L'antibiotique doit atteindre la cible pour agir et, lorsqu'il doit traverser des barrières pour y arriver, celles-ci constituent un mécanisme de résistance efficace. Toutes les bactéries Gram négatives ont une membrane externe qui doit être franchie avant d'atteindre la membrane cytoplasmique. Il a été démontré que la réduction des porines contribue à la résistance à certains antibiotiques. Dans beaucoup de cas, cette accessibilité réduite doit être associée à la production d'au moins une β -lactamase d'activité modérée pour obtenir un niveau élevé de résistance aux β -lactames (Murray *et al.*, 2009).

Les barrières d'entrée peuvent aussi exister dans la membrane cytoplasmique. Des antibiotiques comme les aminoglycosides traversent celle-ci par un processus oxygénodépendant, ainsi ils sont inactifs dans un environnement anaérobie (Rice *et al.*, 2003).

III.2.1.3. Pompes à efflux

L'antibiotique ne peut atteindre son site d'action par pompage actif de l'antibiotique vers l'extérieur de la bactérie (efflux). Les transporteurs d'efflux de plusieurs antibiotiques sont des composants normaux des cellules bactériennes et contribuent pour une large part à la résistance intrinsèque des bactéries à de nombreux agents antibactériens. Ces pompes ont besoin d'énergie, l'exposition aux antibiotiques favorise une sur-expression par mutation de transporteurs, entraînant une hausse de la résistance bactérienne. Il est également possible qu'une résistance par efflux apparaisse à cause de l'exposition à un antibiotique d'une autre classe. Un exemple de ce mécanisme, celui de la ciprofloxacine qui peut favoriser l'émergence d'une résistance à la céphalosporine et aux macrolides (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun *et al.*, 2007; Nikaido, 2009).

III.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être efficaces contre un large spectre de bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'effet antibactérien varie d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Dima, 2014). Il est à mettre en relation avec la composition chimique de l'huile, notamment ses constituants majoritaires mais aussi, avec les possibles effets synergiques entre ces derniers et les constituants minoritaires (Lahlou, 2004). Possédant le coefficient antibactérien le plus élevé sont les phénols, viennent en suite les aldéhydes et les cétones. Elles s'affirment dans certains cas supérieurs aux antibiotiques classiques (Girard, 2010).

Des travaux ont montré que les bactéries Gram négatives étaient généralement moins sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries Gram positives (Haddouchi et

Benmansour 2009). Certains autres, ne trouvent pas de différence significative entre la sensibilité des bactéries Gram négatives et celle des bactéries Gram positives (**Cosge et al., 2009**).

III.3.1. Mode d'action antibactérienne

Le mécanisme d'action des huiles essentielles et de leurs composants n'est jusqu'à maintenant pas totalement compris, cependant, certains auteurs ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations. Du fait de la variabilité quantitative et qualitative des molécules aromatiques, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Souza et al., 2006 ; Bajpai et Kang, 2010**).

Le mode d'action des huiles essentielles (**figure 14**) dépend du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémoosmotique et une fuite d'ions potassium (K^+) (**Cox et al., 2000 ; Souza et al., 2006**). Une acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ou encore, une destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Kalamouni, 2010**).

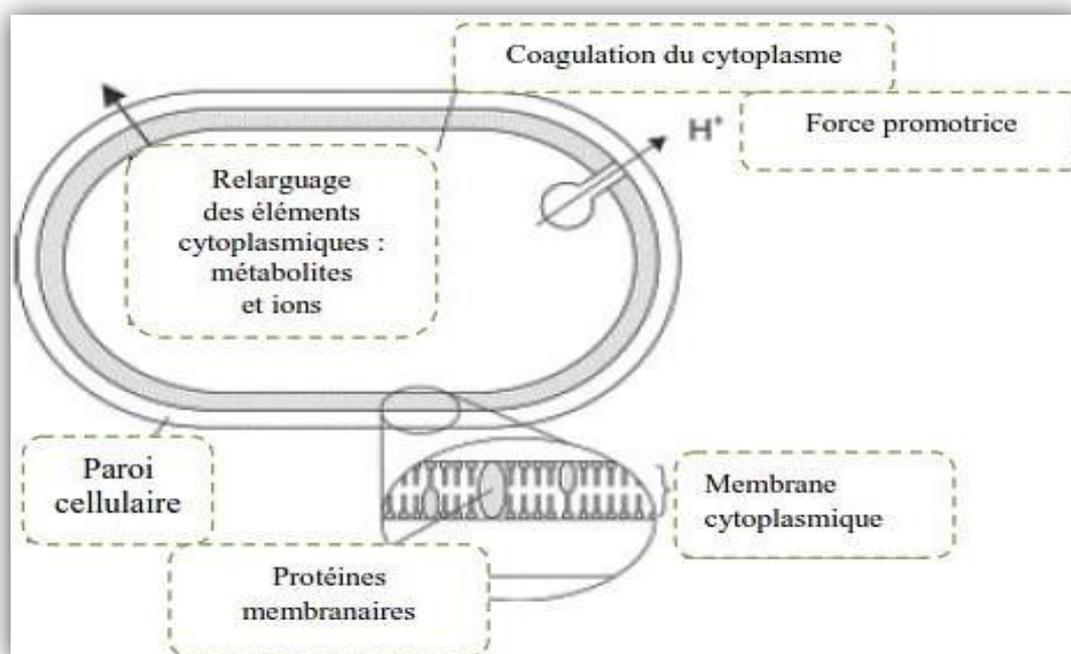


Figure14 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

III.3.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Plusieurs études concernant l'huile essentielle de *Laurus nobilis* ont démontré que celle-ci possédait des activités biologiques variées parmi les quelles, l'activité antifongique, antibactérienne, anti-inflammatoire, antioxydante...etc. L'activité antibactérienne semble être en rapport avec les composés de l'huile notamment, le 1,8-cinéole qui représente le composant le plus abondant de l'huile dulaurier (**Alejo-Armijo et al., 2017**). Cette dernière a été rapportée comme possédant un pouvoir antibactérien contre plusieurs espèces aussi bien, des Gram négatives comme *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa* (**Chahal et al., 2017**), *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Shigella* sp. (**Kivanc et Akgul, 1986 ; Ouibrahim et al., 2013**), *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* et *S. marcescens* (**Moghtader et al., 2013**), que des Gram positives comme *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. epidermidis* (**Derwich et al., 2009 ; Ouibrahim et al., 2013**), *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* et *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes* (**Hammer et al., 1999 ; Ouibrahim et al., 2013**).

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

Nous présentons dans ce chapitre le matériel et les méthodes devant être requis pour l'étude analytique de l'huile essentielle de l'espèce *Laurus nobilis* L., à savoir, la détermination de son rendement, sa composition chimique et la description de ses propriétés organoleptiques, mais aussi l'évaluation de son activité antibactérienne. Nous précisons que, pour notre part, nous avons opté pour une étude bibliographique, autrement dit, l'étude de quelques travaux antérieurs réalisés sur cette espèce végétale.

IV. Matériel et méthodes

IV.1. Matériel végétal

Les feuilles du laurier noble (*Laurus nobilis*) (**figure 15**) sont récoltées et lavées à l'eau distillée, puis laissées séchées à l'air libre et à une température ambiante (entre 22-25°C), dans un endroit sec et bien aéré pendant 15 jours.



Figure 15 : Feuilles du laurier noble (Guerdouh, 2017)

IV.2. Huile essentielle

IV.2.1. Méthode d'extraction

L'huile essentielle des feuilles de *L. nobilis* est extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (**figure 16**). Pour cela, 100g de feuilles séchées sont mis dans un ballon de 1L, un volume de 700 ml d'eau distillée est ajouté, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. La vapeur d'eau traverse la matière végétale, se charge d'huile essentielle, et migre vers le réfrigérant dont la température est comprise entre 12°C et 13°C, ce qui lui permettra de se condenser. Ainsi, les gouttelettes d'eau mélangées à l'huile essentielle, sont recueillies puis séparées par différences de densité. L'huile essentielle est récupérée et conservée à une

température de 4° C, dans des flacons en verre opaques pour la préserver de la lumière et éviter sa dégradation.



Figure16 : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger

IV.2.2. Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale traitée (Boutekedjir *et al.*, 2003). Il est calculé selon la formule suivante (Fadil *et al.*, 2015).

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_S} * 100$$

R_{HE} : rendement en huile essentielle (%)

M_{HE} : masse de l'huile essentielle (g)

M_s : masse de la matière végétale sèche (g).

IV.2.3. Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques recherchées chez une huile essentielle sont généralement l'apparence, la couleur, l'odeur et le goût. Ces indications permettant d'évaluer la qualité de l'huile étudiée (Vahid *et al*, 2013).

IV .2.4. Composition chimique

L'analyse chimique de l'huile essentielle est déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). La CPG consiste à séparer et à analyser les composés de l'huile, tandis que la SM consiste à identifier et/ou à quantifier précisément ces molécules (Sutour, 2010 ; Fekih, 2015).

IV.2.5. Etude de l'activité antibactérienne

IV.2.5.1. Souches testées

Pour notre étude, nous avons sélectionné cinq souches bactériennes connues pour être résistantes à plusieurs antibiotiques (tableau 03).

Tableau 3 : Liste des souches microbiennes testées

| La souche microbienne | Gram |
|-------------------------------|------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | Négatives |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Positives |
| <i>Bacillus cereus</i> | |

IV.2.5.2. Milieux de culture utilisés

Suivant les méthodes employées, les milieux de culture utilisés (Annexe I) sont :

- Gélose Mueller-Hinton (MH)
- Gélose nutritive (GN).

IV.2.5.3. Préparation de l'inoculum

Les bactéries à tester sontensemencées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et mises dans des tubes à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile.

La suspension bactérienne alors obtenue est ensuite ajustée à une densité optique (DO) de 0,08 à 0,1 à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis réglé à une longueur d'onde de 625 nm, ce qui équivaut à une concentration de 10^8 UFC/ml (Baser et Buchbauer, 2010).

IV.2.5.4. Méthode de diffusion par disques ou aromatoگرامme

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose décrite par (Amhis *et al.*, 2001). Celle-ci consiste à utiliser des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés par un volume de 10 μ l d'huile essentielle. Les disques sont placés, à l'aide d'une pince stérile, à la surface du milieu gélosé Mueller-Hinton, qui est préalablement ensemencé par écouvillonnage d'une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml. Un disque imprégné d'eau distillée stérile est utilisé comme témoin négatif. Les boîtes sont laissées à diffuser à température ambiante pendant 30 min.

Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. Les essais sont répétés trois fois. La lecture des résultats est faite après incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition générée autour du disque en millimètre (Figure 17) (Amhis *et al.*, 2001).

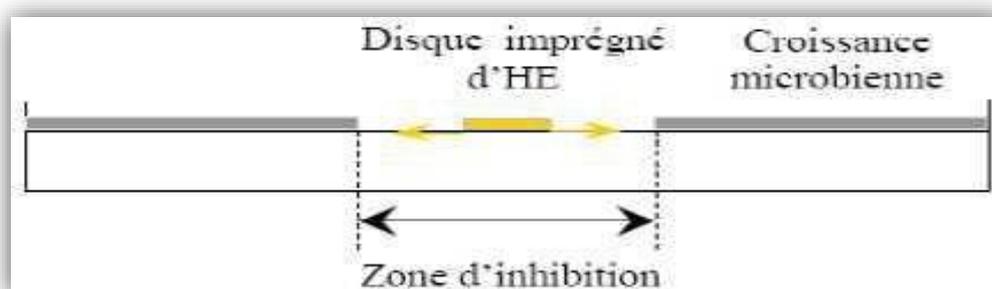


Figure 17 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme (Amhis *et al.*, 2001)

IV.2.5.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la concentration minimale d'huile essentielle capable d'inhiber jusqu'à 90% la croissance des colonies microbiennes (Phattayakorn et Wanchaitanawong, 2009). Elle peut être déterminée par la méthode de macrodilution en milieu liquide. La technique consiste à préparer une solution mère d'huile essentielle puis à réaliser une série de dilutions successives de progression géométrique de raison 2 à partir de celle-ci avec le milieu Mueller-Hinton liquide.

Un même volume d'inoculum bactérien est ajouté à chaque tube à essai. La galerie ainsi préparée est incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures, et est examinée à l'œil nu. La CMI est déterminée à partir du premier tube ne présentant aucun trouble visible (Kaloustian *et al.*, 2008 ; Ouibrahim, 2015).

IV.2.5.6 . Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB désigne la plus faible concentration d'huile essentielle nécessaire pour détruire l'inoculum microbien initial après incubation en conditions standards, autrement dit, concentration à laquelle les micro organismes ne sont plus viables (Ponce *et al.*, 2003 ; Derwich *et al.*, 2010). Elle peut être déterminée en inoculant par stries, sur un milieu solide (Mueller-Hinton) et sans huile essentielle, 100 µl des tubes à essai de CMI ne présentant aucune croissance microbienne visible. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C à partir des boîtes Pétri comme étant la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance bactérienne (figure 18) (Prescott *et al.*, 2018).

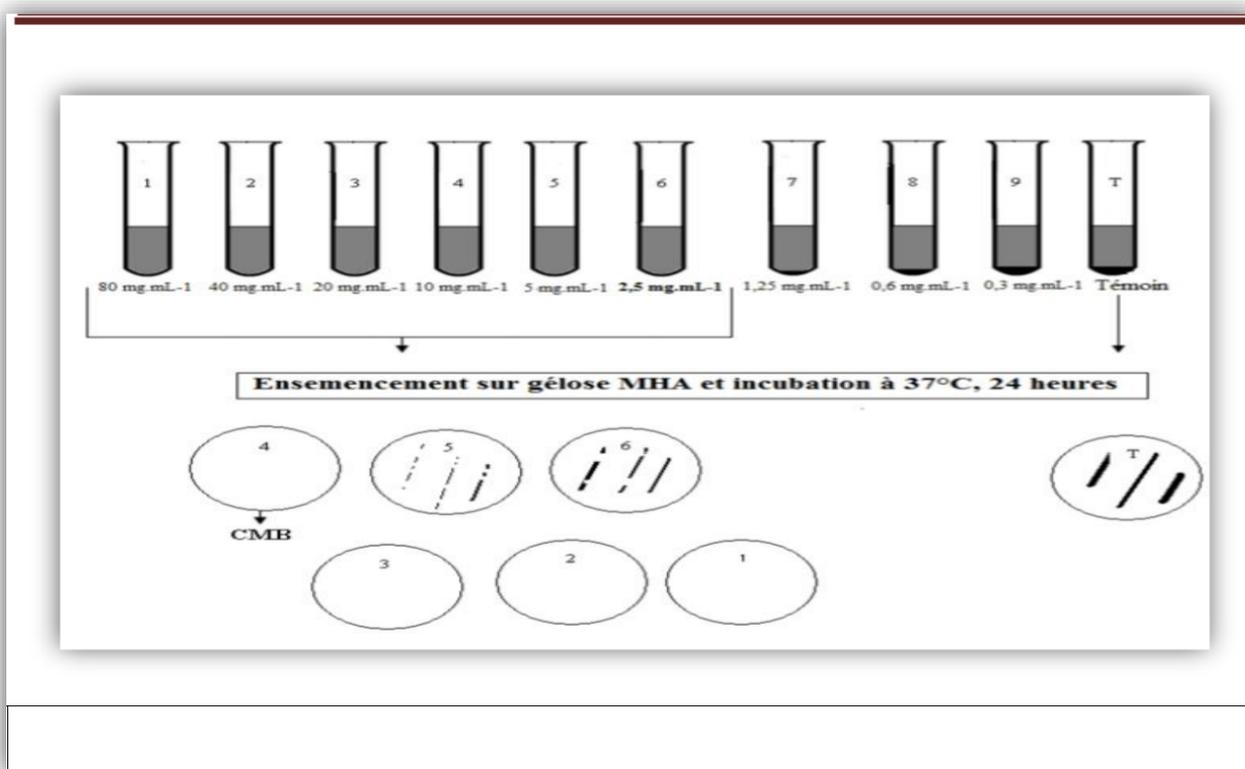


Figure18 : Détermination de la CMB en milieu solide (Guinoiseau, 2010)

CHAPITRE V

Résultats et Discussion

Dans ce chapitre, nous rassemblons et discutons les résultats obtenus par quelques travaux antérieurs, réalisés sur l'huile essentielle de *Laurus nobilis*. La première partie concerne la caractérisation organoleptique, le rendement et la composition chimique de l'huile, tandis que la deuxième partie porte sur la valorisation de l'activité antibactérienne.

V.1. Etude analytique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Les rendements en huiles essentielles des feuilles de laurier, obtenus après extraction par hydrodistillation, de différentes études réalisées en Algérie et dans quelques pays, sont rassemblés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Rendements en huile essentielle de *Laurus nobilis*

| | Zone de récolte | Rendement en % | Références |
|----------------------|-----------------|----------------|--------------------------------------|
| En Algérie | Tizi-Ouzou | 0.25 | (Harchi et Icheboubene, 2019) |
| | Tipaza | 0.84 | |
| | Alger | 0.86 | |
| | M'sila | 0.65 | (Guedouari, 2012) |
| Dans le monde | Maroc | 2.50 | (Nafis et al., 2020) |
| | Géorgie | 4.54 | (Abu-Daha et al., 2014) |
| | Grèce | 1.42 | |
| | Bulgarie | 3.25 | (Fidan et al., 2019) |

Nous notons d'après les données du **tableau n°4**, que tous les rendements en huile essentielle du laurier en Algérie sont inférieurs à 1%. La plus grande valeur est celle de la plante originaire d'Alger (0.86 %), une valeur presque similaire a été obtenue dans la région de Tipaza (0.84 %) (**Harchi et Icheboubene, 2019**), suivie par celle de M'sila (0.65%) (**Guedouari, 2012**), tandis que celle de Tizi-Ouzou a enregistré le plus faible rendement (0.25%) (**Harchi et Icheboubene, 2019**).

Par comparaison, les rendements en huiles essentielles de l'espèce végétale récoltée à l'étranger, sont tous supérieurs à 1%, ils varient plus précisément entre 1.42 et 4.54%. Le plus grand taux a été enregistré en Géorgie, tandis que le plus faible a été enregistré en Grèce

(Abu-Dahab *et al.*, 2014). Le laurier originaire de Bulgarie et du Maroc renferment également des teneurs importantes en huile essentielle, à savoir, 3.25% et 2.50%, respectivement (Fidan *et al.*, 2019 ; Nafis *et al.*, 2020).

Les fluctuations observées dans les rendements huile essentielle peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à des facteurs biotiques et abiotiques (Rodolfo *et al.*, 2006 ; Saxena *et al.*, 2008). Nous citons par exemple la physiologie de la plante, l'environnement (le sol, les pratiques culturales, l'altitude et le climat) (Vekiari *et al.*, 2002), l'organe de la plante utilisé, le stade végétatif, la période de séchage, la technique d'extraction et la période de récolte (Kelen et Tepe 2008). Concernant ce dernier facteur, Baghdadi *et al.* (1992) rapportent que les rendements maximaux en huile essentielle obtenus par temps sec.

V.1.2. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* provenant de trois régions d'Algérie sont résumées dans le **tableau 05**.

Tableau 05 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* (Harchi et Icheboubene, 2019)

| Région Caractéristique | Tipaza | Tizi-Ouzou | Alger |
|---------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Aspect | Liquide mobile limpide | Liquide mobile limpide | Liquide mobile Limpide |
| Couleur | Jaune pâle | Jaune très pâle | Jaune |
| Odeur | Très forte, aromatique, Épicée | Forte Aromatique, Épicée | Très forte, aromatique, Épicée |

Nous remarquons que même si l'origine de la plante est différente, les trois huiles essentielles présentent les mêmes caractéristiques, à savoir, un aspect liquide mobile et limpide, une très forte odeur aromatique et épicée. La couleur est quant à elle jaune pâle sauf pour celle de la région d'Alger qui est juste jaune.

Une autre étude menée par Bardeau (2009) confirme les résultats de Harchi et Icheboubene (2019) concernant l'aspect et la couleur, et note de plus que l'odeur est agréable et semblable à celle du cajepout, mais plus douceâtre, et que la saveur est un peu acre.

V.1.3. Composition chimique

Les résultats de travaux portant sur l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*, provenant d'Algérie et de deux autres pays, à savoir, la Tunisie et la France, ont été obtenus par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM), Sont illustrés ci-après (**tableau 06**).

Tableau 6 : La composition chimique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* en Algérie et dans le monde

| Regions Compositions | Algérie (Goudjil <i>et al.</i> , 2015) | Tunisie (Mkaddem Guedri <i>et al.</i> , 2020) | France (Mkaddem Guedri <i>et al.</i> , 2020) |
|-------------------------|--|--|--|
| β -pinene | 2.32 | 0.3 | 0.1 |
| α -pinene | 3.18 | 6.5 | 1.7 |
| α -fenchene | – | 0.5 | – |
| Camphene | 0.4 | 0.5 | – |
| Sabinene | 7.48 | 2.7 | 0.3 |
| β -myrcene | 0.38 | 0.1 | – |
| p-cymene | – | 0.3 | – |
| Limonene | – | – | 2.9 |
| α -phellandrene | – | – | 0.1 |
| 1,8-cineole | 45.36 | 20.2 | 45.8 |
| Eucalyptol | – | 0.5 | – |
| γ -terpinene | 0.57 | 0.3 | 0.3 |
| d-terpinene | – | – | 0.1 |
| α -terpinolene | 0.2 | – | 1.0 |
| Linalool | 8.13 | 1.4 | – |
| Fenchol | – | 0.1 | – |
| α -campholenal | – | 0.2 | – |
| cis-verbenol | – | 0.1 | – |
| trans-2- menthenol | – | – | 0.1 |
| Camphor | – | 34.4 | – |
| β -terpineol | – | 0.1 | 0.2 |
| Borneol | – | 6.7 | 0.3 |

| | | | |
|------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| Pinocarvone | – | 0.3 | – |
| terpinen-4-ol | 2 | 1.6 | 1.7 |
| α -terpineol | 2.14 | 7.2 | 5.7 |
| Verbenone | – | 0.2 | – |
| Geraniol | – | – | 0.1 |
| bornyl acetate | 0.64 | 5.0 | 13.8 |
| Thymol | – | 0.6 | – |
| Carvacrol | – | 0.4 | – |
| 4-terpenyl acetate | – | – | 1.0 |
| Eugenol | – | 0.1 | 2.8 |
| neryl acetate | – | 0.4 | 0.8 |
| β -elemene. | – | 0.1 | 1.5 |
| methyl eugenol | 6.84 | 2.0 | 7.7 |
| β -caryophyllene | – | 0.4 | 0.2 |
| β -gurjunene | – | 0.3 | – |
| terpinyl propionate | – | 0.1 | 3.8 |
| α -guaiene | – | – | 0.4 |
| α -himachalene | – | 0.1 | 1.3 |
| Ethyltrans -cinnamate | – | – | 0.4 |
| γ -muurolene | – | 0.2 | 0.2 |
| germacrene D | 0.18 | 0.2 | – |
| β -selinene | 0.04 | 2.6 | 1.7 |
| calamenene | – | 0.2 | – |
| Cubenol | - | 0.3 | – |
| δ -cadinene | – | 0.1 | 0.2 |
| α -cadinene | – | 0.2 | 0.5 |
| β -caryophyllene oxide | 0.61 | 1.6 | 0.2 |
| elemicine | 0.29 | – | 0.7 |
| α -cedrol | – | 0.3 | – |
| β -eudesmol | – | – | 1.4 |
| Bornylene | 17.25 | – | – |
| Total | 98.01 | 99.3 | 99.5 |

Nous constatons d'après le **tableau n°6**, qu'il y a des variations dans la composition chimique des huiles essentielles de *Laurus nobilis*. En effet, celle de l'Algérie renferme 18 composés, celle de la Tunisie 42 composés et celle de la France 34 composés ; représentant respectivement 98.01% (**Goudjil et al., 2015**), 99.3% et 99.5% (**Mkaddem Guedri et al., 2020**) de l'huile totale.

Les composants majeurs de l'huile algérienne sont : 1,8-cinéole (45.36%), bornylène (17.25%), linalool (8.13%), sabinène (7.48%), méthyl eugénol (6.84%), α -pinène (3.18%), β -pinène (2.32%), α -terpineol (2.14%) et terpinen-4-ol (2%) (**Goudjil et al., 2015**).

Ceux de l'huile tunisienne sont : camphor (34.4%), 1,8-cinéole (20.2%), α -terpinéol (7.2%), bornéol (6.7%), α -pinène (6.5%), bornyl acétate (5%), sabinène (2.7%), β -selinène (2.6%), méthyl eugénol (2.0%), terpinen-4-ol (1.6%), β -caryophyllène oxide (1.6%), linalool (1.4%) (**Mkaddem Guedri et al., 2020**).

En revanche, les principaux composés de l'huile française sont : 1,8-cinéole (45.8%), acétate de bornyle (13.8%), méthyl eugénol (7.7%), α -terpinéol (5.7%), terpinyl propionate (3.8%), limonène (2.9%), eugénol (2.8%), α -pinène (1.7%), terpinen-4-ol (1.7%), β -selinène (1.7%), β -elemène (1.5%), β -eudesmol (1.4%) et 4-terpenyl acétate (1.0%) (**Mkaddem Guedri et al., 2020**).

Nous remarquons par comparaison entre les huiles essentielles que malgré les quelques constituants communs entre les trois, le composant majoritaire représentant chaque huile est différent. En effet, celui de l'Algérie et de la France est le 1,8-cinéole présent à des taux quasi similaires (45.36% et 45.8%, respectivement) (**Goudjil et al., 2015 ; Mkaddem Guedri et al., 2020**), tandis que celui de la Tunisie est le camphor (34.4%), le 1,8-cinéole étant son deuxième composé le plus important (20.2%) (**Mkaddem Guedri et al., 2020**). Les deux premières huiles ne contiennent en revanche pas de camphor.

Les variations dans le contenu des huiles essentielles de *L. nobilis* peuvent être attribuées à plusieurs facteurs dont l'origine de la plante et donc la zone géographique de récolte, les parties végétales utilisées, les conditions climatiques, la saison de récolte la technique et la durée d'extraction...etc (**Smith et al., 2005 ; Figueiredo et al., 2008**).

V.2. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

V.2.1. Résultats de l'aromatogramme

Nous rassemblons dans le **tableau n°07** les résultats d'aromatogramme de deux études contre cinq souches bactériennes, plus précisément, trois Gram négatives et deux Gram positives.

Tableau 07 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

| | Souches bactériennes | Zone d'inhibition (mm) | Références |
|---------------------------------|-------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Bactéries Gram négatives | <i>Escherichia coli</i> | 24.5 ± 0.7 | (Miliani et al., 2017) |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 0.00 ± 0.00 | |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> | 22.0 ± 0.36 | (Miliani et al., 2017) |
| Bactéries Gram Positives | <i>Staphylococcus aureus</i> | 33.5 ± 1.35 | (Stefanova et al., 2020) |
| | <i>Bacillus cereus</i> | 18.0 ± 0.18 | |

Selon le diamètre de la zone d'inhibition obtenu, la sensibilité des germes est classée dans l'une des catégories suivantes :

D < 8 mm : Souches résistantes (-).

9 mm ≤ D ≤ 14 mm : Souches sensibles (+).

15 mm ≤ D ≤ 19 mm : Souches très sensibles (++) .

D > 20 mm : Souches extrêmement sensibles (+++) (**Ponce et al., 2003**).

Le tableau ci-dessus montre que l'huile essentielle du laurier possède un pouvoir inhibiteur contre les toutes souches bactériennes testées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui a révélé une résistance. Le plus grand diamètre de zone d'inhibition a été enregistré à 33.5 mm pour *Staphylococcus aureus*, ce qui indique que la souche est non seulement extrêmement sensible (+++) ; le diamètre étant supérieur à 20 mm, mais aussi, qu'elle est la plus susceptible de toutes vis-à-vis de l'huile. Elle est suivie par *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* dont la sensibilité est plus ou moins similaires (+++). Les diamètres des zones étant respectivement notés à 24.5 mm et à 22 mm (**Miliani et al., 2017**), et enfin *Bacillus cereus* avec un diamètre de 18 mm (++) (**Stefanova et al., 2020**).

V.2.2. Résultats de la CMI et de la CMB

Nous rassemblons dans le **tableau 08** les résultats de CMI et CMB de deux études contre cinq souches bactériennes, plus précisément, trois Gram négatives et deux Gram positives.

Tableau 08 : Résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* exprimés par CMI et CMB (mg/ml)

| | Souches bactériennes | CMI | CMB | CMB/CMI | Références |
|---------------------------------|-------------------------------|------|------|---------|------------------------------------|
| Bactéries Gram négatives | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 22.2 | 22.2 | 1 | (Nafis <i>et al.</i> , 2020) |
| | <i>Escherichia coli</i> | 2.5 | 2.5 | 1 | (Da Silveira <i>et al.</i> , 2012) |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> | 5.0 | 10.0 | 2 | |
| Bactéries Gram positives | <i>Staphylococcus aureus</i> | 10.0 | 10.0 | 1 | (Da Silveira <i>et al.</i> , 2012) |
| | <i>Bacillus cereus</i> | 5.0 | 5.0 | 1 | |

CMI : concentration minimale inhibitrice (mg/ml) ; CMB : concentration minimale bactéricide (mg/ml).

Les données du **tableau 08** montrent, d'une part, chez les bactéries Gram positives, que les valeurs de CMI et de CMB varient de 5 à 10 mg/ml. Les plus basses concentrations correspondent à celles de *Bacillus cereus*, tandis que, les plus grandes correspondent à celles de *Staphylococcus aureus* (da Silveira *et al.*, 2012).

D'autre part, chez les bactéries Gram négatives, les valeurs de CMI et de CMB vont de 2.5 à 22.2 mg/ml. Les plus faibles concentrations correspondent à celles d'*Escherichia coli* (da Silveira *et al.*, 2012) alors que les plus grandes correspondent à celles de *Pseudomonas aeruginosa* (Nafis *et al.*, 2020).

Par comparaison entre les résultats, nous constatons qu'*E. coli* s'est révélée être la plus sensible des cinq souches vis-à-vis de l'huile essentielle de *L. nobilis*, étant donné que la CMI et CMB ont été déterminées aux plus faibles valeurs. Elle est suivie par *B. cereus* et *S. typhimurium*, alors que la moins sensible des cinq semble être *P. aeruginosa* étant donné que les valeurs de CMI et CMB ont été les plus élevées. Plusieurs auteurs rapportent *P. aeruginosa* est en général faiblement sensible aux huiles essentielles (Dorman et Deans, 2000).

L'effet antibactérien d'une l'huile essentielle est jugé bactéricide ou bactériostatique en fonction du rapport CMB/CMI. Si celui-ci est inférieur ou égal à 4, l'effet est bactéricide, par contre, s'il est supérieur à 4, l'effet est bactériostatique (Berche *et al.*, 1991). D'après le

tableau 08, les ratios CMB/CMI sont tous inférieurs à 4, ce qui signifie que l'huile essentielle de *L. nobilis* est bactéricide envers les souches mentionnées.

Plusieurs travaux rapportent que les bactéries Gram négatives sont en général plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram positives. Ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes (**Bozin et al., 2006**), la pénétration des composés actifs des huiles essentielles dans la cellule bactérienne est donc différente (**Dorman et Deans, 2000**). Chez les Gram négatives, la membrane externe est riche en lipopolysaccharides dont les charges négatives de surface, empêchent la diffusion des molécules hydrophobes ; elle constitue donc une barrière de perméabilité efficace (**Perscott et al., 2003**). Toutefois, quelques composés phénoliques de faible poids moléculaire peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires, à l'aide de leurs groupes fonctionnels, et accéder à la membrane intérieure qui est plus vulnérable (**Dorman et Deans 2000**), perturber la membrane plasmique en induisant sa perméabilité et provoquer ainsi la mort cellulaire (**Wang et al., 2008**).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du laurier est probablement due à sa composition chimique. Celle-ci comprend des oxydes terpéniques, des monoterpénols, des phénols, des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques (**Flamini et al., 2007**). Le 1,8-cinéole est à souligner particulièrement étant donné qu'il est en général le composé majeur de l'huile (**Ouibrahim et al., 2013**).

Conclusion

Conclusion

La prévalence des microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques a donné un regain d'intérêt pour les molécules naturelles extraites à partir des plantes médicinales. Ces dernières constituent une source fiable de principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques.

La présente étude a pour objectif l'étude bibliographique de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du laurier noble (*Laurus nobilis* L.) sur quelques souches bactériennes connues pour être multirésistantes aux antibiotiques.

Les travaux antérieurs consultés rapportent que les rendements en huile essentielle, obtenus par extraction par hydrodistillation à partir des feuilles séchées de *L. nobilis*, varient entre 0.25 et 0.86% en Algérie. Ces teneurs sont nettement inférieures à celles obtenues à l'étranger (entre 1.42 et 4.54%). Les plus grands rendements correspondent à ceux de l'espèce originaire d'Alger et de Géorgie.

L'huile essentielle du laurier est généralement d'un aspect liquide, mobile et limpide, d'une couleur jaune pâle à jaune et d'une forte odeur aromatique et épicée.

L'ensemble des résultats d'analyses par CPG-SM obtenu par trois travaux différents, ont montré que parmi les composants majeurs des huiles essentielles de *L. nobilis*, il y a le 1,8-cinéole (20.2 -45.8%), le bornylène (17.25%), le linalool (8.13%), le camphor (34.4%), le α -terpinéol (5.7 - 7.2%), le bornyl acétate (5 - 17.25%), le méthyl eugénol (2 - 7.7%).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été évaluée par quelques études par la méthode de l'aromatogramme et par la détermination de la CMI et CMB sur cinq souches bactériennes. Les résultats obtenus par la première technique, nous a permis de constater que l'huile a exhibé un important pouvoir inhibiteur aussi bien sur les bactéries Gram positives, que les bactéries Gram négatives, à l'exception de (*Pseudomonas aeruginosa*) qui s'est montrée résistante. La plus sensible des cinq s'est avérée être *Staphylococcus aureus*, en effet, la zone d'inhibition a été enregistrée au plus grand diamètre (33.5 mm).

Les valeurs de CMI et de CMB (concentrations minimales inhibitrices et bactéricides) sont toutes deux rangées entre 2.5 et 22.2 mg/ml. Les plus basses valeurs sont celles déterminées chez *Escherichia coli* tandis que les plus élevées correspondent à celles de *Pseudomonas aeruginosa*. Les travaux confirment donc que celle-ci reste la moins sensible des cinq envers l'huile essentielle testée. Les ratios CMB/CMI, nous ont permis de noter que l'activité exercée était bactéricide étant donné qu'ils ont été inférieurs à 4. L'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* est probablement dû à la nature de sa composition chimique et notamment, aux composants les

Conclusion

plus abondants, nous citons par exemple, le 1.8-cinéole, le linalool, le bornyl acétate et le méthyl eugénol.

Au vu des résultats rapportés par les différentes études réalisées, nous pensons que le pouvoir antimicrobien potentiel de l'huile essentielle du laurier, pourrait servir comme un élément thérapeutique dans la lutte contre plusieurs infections microbiennes dont, les infections nosocomiales dues principalement aux germes multirésistants aux agents antimicrobiens standards. Et en outre, l'huile pourrait ainsi remplacer les antibiotiques qui présentent actuellement des limites.

Ce travail nous a permis d'approfondir nos connaissances concernant l'huile essentielle de *Laurus nobilis* mais aussi, de valoriser la plante grâce à plusieurs travaux. Il n'est néanmoins qu'une initiation à la recherche, il serait intéressant de le compléter par une étude pratique. Il serait ainsi souhaitable de :

- Extraire l'huile essentielle de la plante par différentes méthodes et comparer les rendements obtenus.
- Analyser la composition chimique de l'huile essentielle par CPG – SM.
- Déterminer ses caractéristiques organoleptiques.
- Évaluer les différentes activités biologiques de l'huile essentielle telles que l'activité antifongique, antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire...etc.
- Étudier la toxicité de l'huile essentielle *in vivo* et *in vitro*

Références Bibliographiques

A

- **Abu-Dahab, R., Kasabri, V., Afifi, F, 2014**, Evaluation of the volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (*Lauraceae*) on breast cancer cell line models. *Record Nat. Prod.* **2**, 136–147p
- **AFNOR, 2000**, Association française de normalisation. *Huiles essentielles. Echantillonnage et méthode d'analyse, monographie relative aux huiles essentielles.*
- **Alejo-Armijo A., Altarejos J., Salido S, 2017**, Phytochemicals and biological activities of Laurel tree (*Laurus nobilis* L.). *Natural Product Communications.* **12**(5), 743-757p
- Alekshun M.N., Levy S.B, 2007**, Molecular mechanism of antibacterial multidrug resistance. *Cell.* **128**, 1037-1050p
- **Amhis W., Benslimane A., Tiouit D., Naim M, 2001**, Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb n°91*
- **Andrade B.F.M.T., Barbosa L.N., Probst I.S., Junior A.F, 2014**, Antimicrobial activity of essential oils. *J. Essent. Oil Res*, **26**(1) 34-40p
- **Anton R., Teuscher E., Lobstein A, 2005**, Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles. *Paris: Ed. Tec&Doc*, 285-289p
- **Aqilikhorasani M.S, 1992**, Collection of drugs (materia media) *enqelab-e-Eslami publishing and educational organization; Taheran, Iran*, 624-630p
- **Arroyo G., Martinez-Zapater J., Prieto F., Arbesu R, 2001**, Evaluation of genetic similarity among laurel populations (*Laurus nobilis* L.). *Euphytica.* **122**.155-164p.
- **Azevedo N. R., Campos L.F.P., Ferreira H. D., Portes T. S. A., Santos S. C., Seraphin J.C., Paula J. R., Ferri P. H., 2001**, Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, **57**, 733-736p

B

- Baghdadi H.H., Ahmed S.S., Fournier G., Refaat A.M.,1992**, On the essential oil of *Laurus nobilis* grown in Egypt. *Egypt. J. Hort*, **19**(1), 93-97p
- **Bajpai V.K., Kang S.C, 2010**, Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Mikiex. *Journal of the American Oil Chemists Society*, **87**, 327-336p.

- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Zhiri A., Baudoux D., Idaomar M, 2008** Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS. *Mutation research*, **606**(1-2), 27-38p.
- Ballabio R, Goetz P, 2010**, Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, J.C. Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie.*, **8**(2), 141-144p
- **Banchio E., Valladares G., Zygadlo J., Bogino P.C., Rinaudi L. V., Giordano W, 2007**, Changes in composition of essential oils and volatile emissions of *Minthostachys mollis*, induced by leaf punctures of *Liriomyza huidobrensis*. *Biochem.Syst. Ecol*, **35**, 68-74p
- **Bardeau F, 2009**, Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. *LANOR ed. Paris*, 333p
- **Baser K.H.C., Buchbaue G, 2010**, Handbook of essential oils: Science. Technology and Application. *Ed Taylor and Francis Group, LLC. United States of America.*,
- **Belaiche P, 1979**, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. *Tome 1. Ed. L Maloine. Paris*, 100-123p.
- **Belkou H., Beyoud F., Taleb Bahmed Z2005** Approche de la composition biochimique de la menthe verte (*Mentha spicata* L.) dans la région de Ouargla. *Mémoire DES, Université de Ouargla*, 261p.
- **Beloued A, 2003**, Plantes médicinales d'Algérie. *Office des publications universitaires, Alger*, 274p
- **Beloued A, 2005**, Plantes médicinales d'Algérie. *Office des publications universitaires. Alger*, 124p
- **Beloued A, 2009**. Laurier, description, habitat, composition chimique. Dans plantes médicinales d'Algérie, 124p
- **Benayad N, 2008**, Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. *Université Mohammed V – Agdal, Faculté des Sciences de Rabat, Maroc*
- **Bendjersia F.Z., Tazeroutia F., Belkhelfa-Slimani R., Djerdjourib B., Meklati B.Y, 2016**, Phytochemical composition of the Algerian *Laurus nobilis* L. Leaves extracts obtained by solvent-

Références bibliographiques

free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research*. **28**, 202–210p

- **Benzeggouta, 2005** , Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. *Mémoire de Magister, Université Mentouri*

- **Berche P., Gaillard J.L., Simonet M, 1991**, Les bactéries des infections humaines. *Flammarion édition Médecine & Sciences*, 660 p.

- **Botineau M, Pelt J, 2015**, Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques. *Ed. Tec&Doc, Paris*, 320 p.

- **Bouderhem A, 2015**, Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). *Mémoire de Master, Université D'el-Oued*.

- **Bouhadjera K, 2005**, Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* et *Aristida pungens*. 44p.

- **Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R. and Bessiere, J.M., 2003**, Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragr. J*, **18**, 481-484p

- **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N. et Anackov, G., 2006**, Characterization of the volatile composition of essential oil of some *Lamiaceae* species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J.Agric.Food Chem*, **54**, 1822-1828p

- **Bruneton J, 1993**, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *2^{ème} Ed, Paris, Lavoisier*, 623p.

- **Bruneton, J, 1999**, Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. *3^{ème} édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris*, 1120p.

- **Bruneton J, 2009**, Pharmacognosie, phyto-chimie, plantes médicinales. *TEC & DOC, Paris*, 1269p.

- **Bruneton J, 1999**, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *3^{ème} ed, Tec et Doc. Paris*, 405p.

- **Burt S, 2004**, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International journal of food Microbiology*. 223-253p.

C

- **Capo M.C., Courilleau V., Valette , 1990**, Chimie des couleurs et des odeurs. *Culture et techniques*, 204p.
- **Carette A.S, 2000**, La lavande et son huile essentielle. *Thèse de doctorat. Université de Toulouse*.100p
- **Carson F.A., Hammer K, 2011**, Chemistry and bioactivity of essential oils. *In: Lipids and essential oils as antimicrobial agents. Ed. Thormar H. John Wiley & Sons. Island*, 336p.
- **Chahal K.K., Kaur M., Bhardwaj U., Singla N., Kaur A, 2017**, A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.**6**(4),1153-1161p
- **Charpentier B A, 1998**, Guide de préparateur pharmacie. *Ed. Masson. Paris. France*, 1068-1242p.
- **Chouitah O. 2012**, Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. *Thèse de doctorat. Université d'Oran. Algérie*.143p
- Celiktas O.Y, Kocabas E.E.H, Bedir E, Sukan F.V, Ozek T, Baser K.H.C, 2007**, Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and season alvariations. *Food Chemistry*.**100**, 553–559p
- Commission européenne**. Union européenne Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. [en ligne] (22/12/08), Disponible sur le lien: <http://europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=IP/05/1687&format=HTML&aged=0&language=EN>, consulté le 30/05/2012.
- Cook C.M, Lanaras T, 2016**, The Oregano plants of Chios Island (Greece): Essential oils of *Origanum onites* L. growing wild in different habitats. *Natural Product Researche* **30**(6):672-674p.
- **Cosge B., Turker A., Ipek A., Gurbuz, B., 2009**, Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and corollas of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Ietswaart, an endemic species to Turkey.*Molecules*, **14**(5), 1702-1712p
- **Courvalin P., Trieu-Cuot P, 2001**, Minimizing potential resistance: the molecular view. *Clin. Infect. Dis.*, **33**(3), 138-146p

- Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R., Wyllie S.G., 2000. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 170-175p

D

-da Sheila Mello da Silveira, Anildo Cunha Júnior Gerson Neudí Scheuermann Fábio Luiz Secchi Cleide Rosana Werneck Vieira, 2012, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. *Ciência Rural*, 42(7), 1300-1306p

- Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Degirmencioglu A., 2004. Mathematical modeling and the Determination of some quality parameters of air-dried bay leaves. *Biosystems Engineering*. 88(3), 325-335p

- Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A., 2009, Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian journal of basic and applied sciences, Morocco*, 3(4), 3818-3824p

- Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2010, GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 6(3), 191-198p

- Deschepper R, 2017, Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. *Thèse de Doctorat. Université de Marseille, France* 172p.

-De Sousa D.P, 2012, Medicinal Essential Oils : Chemical, Pharmacological and Therapeutic Aspects. *Nova Science Publishers, 1^{ère} éd.* 236p.

Dugo et Di Giacomo, 2002, *Citrus: The genus Citrus, Environment & Agriculture, Food Science & Technology 1st Edition Imprint CRC Press London*, 656p

- Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lapraz J.C, 1990, Cahiers de phytothérapie clinique 1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques. 2^{ème} ed, VolI, Masson, Paris, 87p .

- Duquenois P, 1980, Les médicaments aromatiques, leur caractère, leur contrôle, phytothérapie. 24(3) 159-168p

- Duval L, 2012, Les huiles essentielles à l'officine. *Thèse de Doctorat. Université de Rouen, France*, 60-67 p

- **Dima M, 2014**, Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. *Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays Du Vaucluse*, 55-60 p
- **Djebbar M, 2015**. Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. Provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian J. Nat. Products*, 3(3), 209-216p
- **Dominique B, 2017**, Aromathérapie : 100 huiles essentielles, *Dunod, Paris*, 921-294.
- **Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000**, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, 88(2), 308–316p

E

- **El Brahmi R.M, 2013**, Profil épidémiologique et de résistance des bactéries multi résistantes., n° 168/13. *Maroc*

F

- **Fadil M., Farah A., Ihssane B., Haloui T., Rachiq S, 2005**, Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse. *J. Mater. Environ. Sci*, 6(8), 2346-2357p
- **Fantino N.S., 1990**, Etude du polymorphisme au d'une population de lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.)-Détermination de critères précoces de sélection. *Thèse de doctorat. Université de La Rochelle*, 41-45p.
- **Fekih N, 2015**, Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie. *Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen*, 178p.
- **Fernandez X., Chemat F, 2012**, La chimie des huiles essentielles. *Editions Vuibert*. 288p.
- **Fidan H., Stefanova G., Kostova I., Stankov S., Damyanova S., Stoyanova A., Zheljazkov V.D, 2019**, Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis* L. essential oils from Bulgaria. *Molecules*, 24, 804.
- **Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Scheffer J.J.C, 2008**, Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragr. J*, 23, 213-226p.
- **Flamini G., Tebano M., Cioni P.L., Ceccarini L., Ricci A.S., Longo I, 2007**, Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel

Références bibliographiques

method which uses microwaves applied *in situ*, without resorting to an oven. *J. Chromatogr.A*, **1143**, 36-40p

- **Franchomme P., Pénéol D, 2001**, L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. *Roger Jollois édition*, 445p.

G

- **Garneau F.X, 2005**, Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique. *Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi*. 185p.

- **Garnero J, 1996** Huiles essentielles. Dossier :K 345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques.

- **Gavahian M., Farahnaky A., Javidnia K., Majzoobi M. 2012**, Comparison of ohmic-assisted hydrodistillation with traditional hydrodistillation for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Innovative food science and emerging technologies*, **14**, 85-91p.

- **Geerts p, rammeloo j, van cautereng, 2002** *Laurus nobilis*: le livre du laurier. *Gand: Ed. Ludion*, 131 p.

- **George khachatourians, 1998**, Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotics-resistant bacteria. *Canadian Medical Association Journal*, **159**(9), 1129-36 p

- **Girard G., 2010**, Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui, *Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy 1*, 116p

- **Goudjil, M., Ladjel, S., Bencheikh, S., Zighmi, S., Hamada, D, 2015**. Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae. *J. Chem. Pharmaceut. Res.* **7**, 379–385p

-**Guarda B., Courvalin P, 2006** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. *In: Aarestrup F.M.(Ed.)*,Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press: Washington,1-18p

-**Guedouari R, 2014**, Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du *laurus nobilis* L. essais de formulations thérapeutiques. *Mémoire de magister. Université de Boumerdes* 48p

- **Guerdouh G, 2017**, Etude de Propriétés physico-chimiques et antifongiques des extraits de deux espèces médicinales : laurier noble (*Laurus nobilis* L.) et laurier rose (*Nerium oleander* L.), *Mémoire de Master, Université de Jijel*, 27p.

- **Guinoiseau E, 2010**, Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. *Thèse de Doctorat, Université de Corse. France, 85p*

H

- **Haddouchi F., Lazouni HA., Meziane A., Benmansour A., 2009**. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science*. 5(2), 246–259p

- **Hamadou F., Touki S, 2017**, Extraction, caractérisation des huiles essentielles des épices: girofle, poivre noir. *Mémoire de Master, Université de Ouargla, 61-70p*

- **Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V, 1999**, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol*, 86, 985–990p

- **Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D, 2008**, Extraction technologies for aromatic and medicinal plants. *United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology*. 260p.

- **Harchi N., Icheboubene D, 2019**, Etude de quelques activités thérapeutiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat des feuilles de laurier : *Laurus nobilis* L. provenant de trois régions différentes d'Algérie. *Mémoire de Master, 12-25p*

- **Huang H.S., Chang L.H., Jong T.T., Nien Y.F., Chang C.M.J, 1995**, Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric oil from *Curcuma longa* Linn. and purification of turmerones. *Separation and Purification Technology*. 47, 119-125p

- **Husnu K., Baser C., Buchbauer G, 2009**, Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. *Édition 2, 1098 pages*

I

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

- **Ismaili Alaoui M., Bendjilali B, 1990**, 1 ère séminaire magrebin sur les plantes aromatiques. *Tlemcen le 29-31 Mai*.

J

- **Jager W., Nasel B., Nasel C., Binder., Stimpfl T., Vycudilik W., Buchbauer G. 1996**, Pharmacokinetic studies of the fragrance compound 1,8-cineole in humans during inhalation. *Chemosenses*. 21(4), 477-480p.

K

- **Kalamouni C., Guinoiseau, 2010**, Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, *Thèse doctorat de l'université de Toulouse. France*
- **Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes M, 2008**, Etude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie. 6*, 160–164p
- **Kaloustian J., Hadji Minaglou F, 2012**, La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. *Paris. 226p.*
- **Keefover-Ring K., Thompson B.J.D., Linhart Y.B, 2009**, Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and fragrance Journal, 24*, 117-122p
- **Kelen M., Tepe B, 2008**, Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology, 99*, 4096-4104p
- **Kivanc M., Akgul A, 1986**, Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and *Citrus*, *Flavour Fragrance. Journal, 1*(4), 175-179p
- **Kivcak B., Mert T, 2002**, Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia. 73*, 242-3p
- **Kosar M., Tunalier Z., Ozek T., Kurkcuglu M., Can Baser K.H, 2005**, A simple method to obtain essential oils from *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by using microwave assisted hydrodistillation. *Thèse de Doctorat, Université de Anadolu, Turquie, 620p*

L

- **Lafon J.-P., Tharaud-Prayer C, 1996**, Biologie des plantes cultivées. *Tome I. Org phy de la nutrition. Lavoisier. Paris*
- **Lahlou M, 2004**, Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research, 18*, 435-448p
- **Lamamra M, 2007**, Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoires de Magistère, 10-28p

Références bibliographiques

- **Lawrence B.M, 1995**, The Isolation of aromatic materials from natural plant sources. *In: A Manual on the essential oil industry*. K.T. de Silva (Ed.), UNIDO, Vienna, pp. 57-154.
- **Lobstein A., Couic-marinier F., Koziol N, 2017**, Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. *Actualités pharmaceutiques*. 57(573), 59-61p
- **Lucchesi M.E, 2005**, Extraction sans solvant assistée par les micro-ondes. *Thèse de Doctorat, Université de la Réunion*,33-41p
- **Lagunez-Rivera L, 2006**, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. *Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse*,
- **Lütge U., Kluge M., Bauer G, 1992**, Botanique : traité fondamental (traduction française). *Ed Tec & Doc. Lavoisier, Paris*, 574p.

M

- Maatallah S., Nasri N., Hajlaoui H., Albouchi A., Elaissi A, 2016**, Evaluation changing of essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) under water deficit stress conditions. *Industrial Crops and Products*. 91, 170–178p
- **Mandell G.I, Bennett J.E., Dolin R., Mandell, 2009**, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. *Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA*.
- **Miliani A., Boukhatem M.N., Saidi F, 2017**, Chemical composition and antimicrobial activity of the Algerian *Laurus nobilis* essential oil, *Algerian Journal of Natural Products*, 511p
- **Moghtader M., Farahmand A, 2013**, Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis* L. in Kerman Province. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 5(2),13-17p
- **Mkaddem Guedri M, Mehrez R, Lebrihi A, Mathieu F., Bouajila J, 2020**, Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of Tunisian, France and Austrian *Laurus nobilis*(*Lauraceae*) essential oils *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48(4), 1933p
- **Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A, 2009**, Medical Microbiology. *Elseviered Philadelphia*, 960p

N

- **Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T, 1985**, A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res*, 278, 31-36p.

- **Nafis A., Kasrati A, Alaoui Jamali C., Custódio L., Vitalini S., Iriti M., Hassani L, 2020**, A comparative study of the in vitro antimicrobial and synergistic effect of essential oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with antimicrobial drugs: *New Approach for Health Promoting Products*, 4p.

- **Nikaido H, 2009**, Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, **78**, 119-146p

O

- **Ouafi N., Moghrani H., Benaouda N., Yassaa N., Maachi R, 2017**, Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif. *Revue des Energies Renouvelables*, **20**(1), 161-168p

- **Ogawara H, 1981**, Antibiotic resistance in pathogenic and producing with special reference to betalactam antibiotics. *Microbial. Rev.*, **45**(4), 591-619p

- **Ouibrahim A., Tlili-Ait-Kaki Y., Bennadja S., Amrouni S., Djahoudi A.G., Djebar M.R, 2013**, Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *Global Science Research Journals*, **1**(1), 65-70p

- **Ouibrahim A, 2015**, Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. *Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba* 44-52p

- **Oxoby M, 2002**, Etudes sur la synthèse totale des antibiotiques naturels de la famille des angucyclinones. *Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, France* 3-12p

P

- **Padrini F., Lucheroni M.T, 2006**, Le grand livre des huiles essentielles. *Editions De Vecchi S.A., Paris*, 206p.

- **Phattayakorn K., Wanchaitanawong P, 2009**, Antimicrobial activity of thai herb extracts against coconut milk spoilage microorganisms. *Kasetsart J. Nat. Sci.* **43**, 752-759p

- **Pibiri M.C, 2006**, Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. *Thèse de Doctorat, Lausanne, Canada*, p.77.

- **Piochon M, 2008**, Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. *Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi. Canada*

- **Pitout J.D., Hanson N.D., Church D.I., Laupland K.B, 1996**, Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli* producing extended spectrum β -lactamases :importance of community isolates with bla_{CTX-M} genes .*Clin Infect Dis*, **38**, 1736-1741p
- **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C., Roura S.I, 2003**, Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* **36**, 679-684p
- **Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Bacq-Calberg C.M., Dusart J, 2003**, Microbiologie. *De Boeck University*, 1164p.
- **Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., Bacq-Calberg C.M., Dusart J, 2018**, Microbiologie. *De Boeck University*, 1164p.

Q

- **Quezel P., Santa S, 1962**, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Tome I. Edition du Centre national de la recherche scientifique. Paris*, 565 p..

R

- Rahili G, 2002**, Les huiles essentielles et leur intérêt. La forêt algérienne N° 4. *Institut national de la recherche forestière. Bainem Alger*,
- **Regnault-Roger C., Philogene B.J.R., Vincent C, 2002**, Bio pesticides d'origine végétale. *Ed. Tec&Doc. 2^{ème} Éd Paris. France*, 546 p.
- **Rhayour K.H, 2002**, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de Doctorat National, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar Mehra -Fès, Maroc*
- Rice L.D., Sahm D., Bonomo R.A, 2003**, Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. *In: Murray, P.R. (Ed.), Manual of Clinical Microbiology, 1, eighth ed. ASM Press, Washington*, 1074p
- **Richeter G, 1993**, Biologie végétale. M. Nabors 20 BV 01-13. Structures, fonctionnement, écologie et biotechnologie bio-pesticides d'origine végétale, *1ère édition*. 544p.
- **Rodolfo J., Koroch A., Simon J., Hitimana N, 2006**, Quality of *Geranium* oils: case studies in southern and eastern Africa. *Journal of essential oil research (JEOR)*, **12**.

S

- **Sayyah M., Kamalinejad M., Bahrami Hidage R., Rustaiyan A, 2002.** Antiepileptic potential and composition of the fruit essential oil of *Ferulagummosaboiss*. *Iranian Biomedical Journal*, **5**, 69-72p
- **Simi F., Arnold N.A., Piozzi F, 2003,** Chemical composition of the essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. var. *simplicifolia* Boiss. growing wild in Lebanon. *J Chromatogr A*. **1052**, 237-240p
- **Stefanova G., Girova T., Gochev V., Stoyanova M., Petkova Z., Stoyanova A., Zheljazkov V. D, 2020,** Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. *Heliyon*, **6**(12),
- **Spichiger RE., Savolainen VV., Figeat M., Jeanmonod D, 2002,** Botanique systématique des plantes à fleurs. *Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes*. 413p.
- **Sutour S, 2010,** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de Corse et de Kumquats. *Thèse de Doctorat. Université de Corse, France*, 222p
- **Smith R.L., Cohen S.M., Doull J., Feron V.J., Goodman J.I., Marnett L.J., Portoghese P.S., Waddell W.J., Wagner B.M., Hall R.L., Higley N.A., Lucas-Gavin C., Adams T.B, 2005,** A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: Essential oils, *Food Chem Toxicol*, **43**(3), 345-63p
- **Saxena G., Rahman L., Verma P.C., Banerjee S., Kumara S, 2008,** Field performance of somaclones of rose scented geranium (*Pelargonium graveolens*) for evaluation of their essential oil yield and composition. *Industrial crops and products*, **27**, 86-90p
- **Sanders 1992, C.C,** Infections Caused by Chlamydia pneumoniae Strain TWAR *Clinical Infectious Diseases*, **15**(5), 824-839p
- **Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A. 2000,** Human skin absorption and metabolism of the contact allergen, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **168**, 189-199p.
- **Sallé J.L., Pelletier J, 1991,** Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. *Ed Frison-Roche*, 19-45p.
- **Svoboda K.P., Svoboda T.G., Syred A, 2000,** Secretory structures of aromatic and medicinal plants. *Microscopic publications*, 60p.

- Souza E.L., N.B. Guerr T.L.M., Stamford E., de Oliveira L, 2006, Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras.Farm*, 87(1), 22-25p

T

-Teissere P.J. 1991, Chimie des substances odorantes. *Tec et Doc.Lavoisier. Paris. France*.480 p.

- Theis N., Lerdau M. 2003, The evolution of function in plant secondary métabolites. *Int .J .Plant Sci*,164, 93-102p

- Traoré M.C. 2006, Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. *Thèse de Doctorat. Université de BAMAKO*, Mali, 175p.

- Tomar O., Veli G., Gokhan A., Mohamed F., Ramadan H, 2020, Composition and antibacterial effects of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(2), 414-421p

- Toninoli F., Meglioli V, 2013, Huilles essentielles. Encyclopédie. JUDENA 342 p

- Tuley de Silva K.A, 1995, Manual on the essential oil industry. *United Nations Industrial Development Organization*. 232p.

V

-Vahid R., Atefeh B., Mohammad Jamal S, 2013, Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis*. *Celak*.

-VanVuuren S.F., Suliman S., Viljoen A.M, 2007, The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. *Lett.appl.microbiol*, 48, 440-446p

-Vekiari S., Protopapadakis E., Papadopoulou P, 2002, Chromatography Mass spectroscopy analysis of aromatic compounds of leaves and peel for healthy and viroid-infected Citron plants. *Fifteeth IOCV conference*, 272-277p

- Viaude H, 1993. Les huiles essentielles, qualité distillation. GNOMA. *Revue Electronique..* 82p.

W

-Wang M., Guo Q., Xu X., Wang W., Ye X., Wu S., Hooper D.C, 2009 New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother*.53, 1892-1897p

Y

Yahyaoui N, 2005, Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe spicata* L. sur *Rhyzoper lhudominicu* (F), *Coleoptera, Bostrychidae* et *Tribonium confusm* (Duv) (*Coleoptera, Tenebrionidae*). *Thèse de Magister, INA, El-Harrach, Alger, 61p.*

Annexes

Annexe I : Composition des milieux de culture

Milieu Mueller-Hinton (MH) (g/L)

- Hydrolysate acide de caséine (peptone).....17.5g.
- Extrait de viande.....3g.
- Amidon.....1.5g.
- Agar.....16g.
- Eau distillée.....qsp 1L.
- pH =7,4 ± 0,2

Gélose Nutritive (GN) (g/L)

- Peptone.....10 g.
- Extrait de viande.....3 g.
- Extrait de levure.....3 g.
- Chlorure de sodium.....5 g.
- Agar.....18 g.
- Eau distillée.....qsp 1L
- pH= 7,3 ± 0,2
- Stérilisation à 120°C/15 min.