الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département des Sciences de la Nutrition

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :

Biochimie de la nutrition

Intitulé

Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles de *laurus nobilis*

Présenté par :

Melle **:**HAFSAOUI Fatima

Melle :KHARROUBI Ikram

Devant les membres de jury :

Président : Dr AFFANE Fouad	Maître de conférences(B)	(U. Relizane)
Encadreur : Dr BOUAMAR Sarah	Maître de conférences (B)	(U. Relizane)
Examinateur : Dr NAAS Hiba	Maître de conférences (B)	(U. Relizane)

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant pour m'avoir accordé la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail et franchir les différentes étapes de mon parcours universitaire.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude àDr BOUAMAR Sarah, mon encadrante, pour son accompagnement rigoureux, sa disponibilité, ses conseils avisés et ses encouragements tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son expertise et sa bienveillance ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Dr AFFANE Fouad et Dr NAAS Hiba pour avoir accepté de faire partie du jury, pour le temps accordé ainsi que pour ses précieux conseils et remarques constructives qui ont enrichi ce travail

Mes remerciements vont également à l'ensemble des enseignants et du personnel dela Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour la qualité de la formation que j'ai reçue, ainsi que pour leur engagement dans la réussite des étudiants.

Je souhaite remercier particulièrement [le laboratoire pédagogique de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Relizane], pour l'accueil qui m'a été réservé, la confiance accordée, ainsi que pour les échanges constructifs qui ont enrichi cette étude.

À ma famille, je dédie une pensée pleine de reconnaissance : à mes parents pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices et leur soutien constant ; à mes frères et sœurs pour leur présence et leurs encouragements.

Enfin, je remercie mes amis et collègues de promotion, pour les moments partagés, le soutien mutuel et l'entraide tout au long de ce parcours.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à cette réussite, je dis : merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes parents qui ont toujours cru en moi qui ont toujours était présents avec leur soutien,

L'homme de ma vie, mon idéal éternel, mon soutien moral et source de joie et le bonheur, la personne qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que Dieu te protège en lui le paradis est à toi, ***papa.***

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, l'âme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; ***Ma mère*** *que j'adore.*

Leur patience, et leur encouragement durant tout mon parcours scolaire.

À ma sœur ***Aicha*** *et Mon frère* ***Mohamed*** *qui n'ont jamais arrêté de m'encourager.*

À mes amies : ***Ikram,Monira ,Nessrine***

Sans oublier mon binôme ***Ikram*** *qui a était toujours présente. A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail. À tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqué.sÀ tous ceux et toutes celles que j'ai involontairement omis deciter et qui n'en demeurent pas moins chers.*

Fatima

Dédicace

Je remercie mon dieu ALLAH qui est toujours présent avec moi dans le meilleur et dans le pire.

Je dédie ce modeste travail À mes cher parents, source de vie et d'amour pour leurs soutien, leurs patience, leurs encouragement, durant mon parcours scolaire.

Mes chères sœur ***Yousra*** *et* ***Amel*** *pour leurs encouragements permanents, et leurs soutiens moraux.*

À mon cher frère ***Abdelghani*** *Pour son soutien.*

Mon cher binôme ***Fatima,*** *pour tous les souvenirs et l'amitié au cœur denos deux dernières années.*

Tous ceux ou celles qui me sont chers et qui j'ai omis involontairement deciter. Tous mes enseignants tout au long de mes études.

Ikram

Résumé

Laurus nobilis communément appelé « Rend » dans la région maghrébine, il est intéressant de noter que ses feuilles sont appliquées et connues comme assaisonnement et utilises comme herbes médicinale, employées dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle qui a en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications. Notre recherche vise à valoriser une ressource végétale locale, issu de la région de Relizane (Ouest Algérien), cette région, caractérisée par un climat méditerranéen semi-aride, nous espérons contribuer à la valorisation scientifique et thérapeutique d'une plante traditionnelle algérienne, en soulignant son intérêt santé et sa souveraineté pharmaceutique. Des extraits phénoliques des feuilles (jeunes et mâtures) de laurier ont été obtenus par différentes étapes d'extraction (macération, filtration, évaporation) à l'aide d'une solution hydrométhanolique ils ont fait l'objet d'étude du rendement d'extraction, du dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux, l'activité antibacterienne a été évaluée in vitro contre plusieurs souches bactériennes pathogènes (E. Coli, Pseudomonas aeruginosa, Entérocoques, Mésophiles) et la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été mesurée. Les résultats ont montré que l'extrait phénolique des feuilles jeunes possède une activité antibactérienne significative avec un rendement d'extraction de 29% contre 21% pour les feuilles matures, et révèle que ce stade végétatif est très riche en polyphénols (219.11± 0.17 mg EAG/g) ce profil diminue au cours de la maturation (204.955 ± 0.26 mg EAG/g), les teneurs des flavonoïdes dans les deux extraits sont faibles proportionnées,ils vont de (0.40 ± 0.001 mgEqQ/g) à (0.42 ± 0.01 mgEqQ/g), les diamètres des zones d'inhibitions obtenues, allant de (12± 0.66 mm) à (17±0.33 mm), les qualités bactériostatiques de l'extrait phénolique du stade jeune sont plus élevé que le stade mature, les valeurs de CMI ont permis de constater la nature du pouvoir antibactérien des polyphénols envers les souches testées .l'ensemble de ces résultats confirme l'intérêt de notre étude et conduit à la concluision suivante, les feuilles de *Laurus nobili*s sont dotées d'une activité bactériostatique notamment en stade jeune, notre recherche peut contribuer à la valorisation de la plante testée dans le domaine pharmaceutique comme une source inestimable de nombreux agents antimicrobiens.

Mots clés : *Laurus nobilis*, polyphénols, activité antibactérienne, souches pathogènes.

Abstract

Laurus nobilis commonly known as “Rend” in the Maghreb region, is noteworthy for its leaves, which are widely recognized and used both as a seasoning and as a medicinal herb. Traditionally, they are employed in food as a condiment and in folk medicine, where their properties suggest potential new applications.Our research aims to enhance the value of a local plant resource from the Relizane region (Western Algeria), an area characterized by a semi-arid Mediterranean climate. Through this study, we hope to contribute to the scientific and therapeutic valorization of a traditional Algerian plant, highlighting its health relevance and pharmaceutical potential. Phenolic extracts from young and mature bay leaves were obtained through several extraction steps (maceration, filtration, evaporation) using a hydro-methanolic solution. These extracts were analyzed for extraction yield, total polyphenol and flavonoid contents, and their antibacterial activity was evaluated *in vitro* against several pathogenic bacterial strains (*E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterococci, Mesophilic bacteria*). The minimum inhibitory concentration (MIC) was also determined. The results showed that the phenolic extract of young leaves exhibited significant antibacterial activity with an extraction yield of 29%, compared to 21% for mature leaves. Young leaves were found to be particularly rich in polyphenols (219.11 ± 0.17 mg GAE/g), while this profile decreased during maturation (204.955 ± 0.26 mg GAE/g). Flavonoid contents were relatively low in both extracts, ranging from 0.40 ± 0.001 mg QE/g to 0.42 ± 0.01 mg QE/g. The diameters of inhibition zones ranged from 12 ± 0.66 mm to 17 ± 0.33 mm. The bacteriostatic properties of the phenolic extract from young leaves were higher than those of mature leaves, and the MIC values confirmed the antibacterial potential of polyphenols against the tested strains. Overall, these findings confirm the significance of our study and lead to the following conclusion: Laurus nobilisleaves, particularly at the young stage, possess bacteriostatic activity. Our research contributes to the valorization of this plant in the pharmaceutical field as an invaluable source of antimicrobial agents.

Keywords:Laurus nobilis, polyphenols, antibacterial activity, pathogenic strains

الملخص

لوروس نوبيليس المعروف محليًا في المنطقة المغاربية باسم «الرند»، من المثير للاهتمام أن نلاحظ أنّ أوراقه تُستخدم وتُعرف كتوابل ونبات طبي، حيث تُستعمل في الغذاء كمنكّه وفي الطب التقليدي لما تتميز به من خصائص قد تقترح تطبيقات جديدة. تهدف دراستنا إلى تثمين مورد نباتي محلي من منطقة غليزان (غرب الجزائر)، وهي منطقة تتميز بمناخ متوسطي شبه جاف، على أمل الإسهام في التثمين العلمي والعلاجي لنبات تقليدي جزائري من خلال تسليط الضوء على أهميته الصحية وسيادته الدوائية. لقد تم الحصول على مستخلصات فينولية من أوراق الرند (الشابة والناضجة) عبر مراحل مختلفة من الاستخلاص (النقع، الترشيح، والتبخير) باستعمال محلول مائي ميثانولي، حيث خضعت لدراسة مردود الاستخلاص، وقياس محتوى المركبات الفينولية والفلافونويدات الكلية. كما تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا في أنبوب الاختبار ضد عدة سلالات بكتيرية ممرضة (الإشريكية القولونية، الزوائف الزنجارية، المعويات، والبكتيريا المحبة للوسط المعتدل) مع قياس التركيز المثبط الأدنى. أظهرت النتائج أن المستخلص الفينولي للأوراق الشابة يمتلك نشاطًا مضادًا للبكتيريا بشكل ملحوظ مع مردود استخلاص بلغ 29% مقابل 21% للأوراق الناضجة، كما بين أن هذا الطور النباتي غني جدًا بالمركبات الفينولية (219.11 ± 0.17 مليغرام مكافئ حمض غاليك/غرام)، في حين ينخفض هذا المحتوى مع النضج (204.955 ± 0.26 مليغرام مكافئ حمض غاليك/غرام). أما نسبة الفلافونويدات في كلا المستخلصين فقد كانت ضعيفة ومتناسبة، حيث تراوحت بين (0.40 ± 0.001 مليغرام مكافئ كيرسيتين/غرام) و(0.42 ± 0.01 مليغرام مكافئ كيرسيتين/غرام). كما أن أقطار مناطق التثبيط المتحصل عليها تراوحت بين (12 ± 0.66 ملم) و(17 ± 0.33 ملم). وقد تبين أن الخصائص المثبطة لنمو البكتيريا للمستخلص الفينولي في الطور الشاب أعلى منها في الطور الناضج، وأن قيم التركيز المثبط الأدنى أكدت طبيعة القدرة المضادة للبكتيريا التي تتميز بها المركبات الفينولية تجاه السلالات المختبرة. تؤكد مجمل هذه النتائج أهمية دراستنا وتقودنا إلى الخلاصة التالية: إن أوراق لوروس نوبيليس تتمتع بنشاط مثبط لنمو البكتيريا بشكل ملحوظ خاصة في الطور الشاب، ويمكن أن تساهم أبحاثنا في تثمين هذا النبات في المجال الصيدلاني باعتباره مصدرًا ثمينًا للعديد من العوامل المضادة للميكروبات

الكلمات المفتاحية: لوروس نوبيليس،المركبات الفينولية،النشاط المضاد للبكتيريا،السلالات الممرضة

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

الملخص

Abstract

Liste des Tableau

Liste des figures

Liste des Abréviations

INTRODUCTION GENERALE : 1

Première partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre1 : Les plantes médicinales

1. Définition 4

2. Les principaux éléments actifs des plantes : 4

3. Origine des plantes médicinales : 4

3.1. Plantes sauvages : 5

3.2. Plantes cultivées : 5

4. Les méthodes d'extractions utilisées pour les plantes médicinales 5

4.1. Les techniques classiques : 5

4.2. Les techniques modernes 7

4.2.1. Extraction par CO^2supercritique : 7

4.2.2. Extraction par solvants : 8

4.2.3. Extraction assistée par micro-ondes 9

Chapitre2 : Généralités sur la plante L .nobilis

1.Généralités : 11

2.Dénomination international : 11

3.La famille des Lauracées : 12

4.Caractéristiques des lauracées : 12

5.Feuilles : 13

6.les fleurs : 14

7.Les Fruits : 15

8.Description de l'arbre :..... 15
9.Les Espèces de *lauracées* les plus connues :..... 15
10.Classification phylogénétique :..... 15
11.Effet thérapeutique del*aurus nobilis* et l'utilisation en médecine traditionnelle… 16
12.Répartition Géographique :..... 17
13.Dans le monde..... 17
13. *Laurus nobilis* en Algérie :..... 17

Chapitre3 : Composition et métabolite secondaires

1.Composition chimique de la feuille de *laurus nobilis :*..... 18
2.Partie utilisée :..... 19
3.Propriétés pharmacologique et activités biologiques :..... 19
4.La composition de l'hydrolat de *lauriernoble :*..... 22
5.Les propriétés organoleptiques de l'hydrolat de *laurier noble* :..... 23
6.Le metabolisme secondaire :..... 23
7.Rôle biologique des métabolites secondaires :..... 24
8.Les terpenoids :..... 24
9.Rôle de terpènes :..... 25
10.Différents types de terpènes :..... 25
11.Les alcaloïdes :..... 25
12.Rôles des alcaloïdes :..... 25
13.Rôle biologique des composés phénoliques :..... 26
14.Les Flavonoïdes :..... 28
15. Fonction des métabolites secondaires:……...28

Deuxième partie : Partie expérimental

Matériel et méthodes

1.Matériel Végétal :..... 32
2.E'tudephytochimique de la plante:……..…..33
3.Broyage des parties seches :..... 33
4.Préparation des extraits :..... 33
5. Le Rendement d'extraction:..... 37
6.Dosage des Polyphénols Totaux :..... 38
7. Dosage des Flavonoïdes totaux :..... 39
8. Etude du l'activité antibactérienne:..... 41

8_1.Mise en évidence du pouvoir antimicrobien par la méthode de diffusion sur milieu gélose…… …..41

8_2. Méthode de dilution en milieu liquide (test de dilution en bouillon) :..... 43

La troisième partie : Résultats et discussion.

1.Propriétés des extraits phénoliques :……...……...……47

2.Le rendement de l'extraction:……...……..…47

3.Dosage des Composés Phénolique :…….…….……..49

A.Teneur des Polyphénols totaux dans les extraits des feuilles de *Laurus nobilis* L…....49

B.Dosage des Flavonoïdes totaux dans l'extrait des feuilles de *Laurus nobilis*……51

4.Evaluation de l'activité antimicrobienne 53

A. .Méthode de diffusion sur milieugélosé……..……...……53

B. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)……..…….....57

Relation entre les différents résultats……...…….60

Conclusion et perspectives..... 63

l'annexe

Liste des Figures

Figure 1	Décoction des feuilles …….	**6**
Figure 2	Procédé de macérations des plantes ……	**7**
Figure 3	Les jus de plantes sauvages ……	**7**
Figure 4	Extraction par CO^2 supercritique ……	**8**
Figure 5	Appareil d'extraction par solvants ……..	**9**
Figure 6	Appareillage Extraction assistée par micro-ondes …….	**10**
Figure 7	Schéma d'une installation VMHD……...	**10**
Figure 8	Feuille de *Laurus nobilis*……....	**13**
Figure 9	Coupe de feuille montrant les grandes cellules sécrétrices…….	**13**
Figure 10	Fleurs de *Laurus nobilis*……..	**14**
Figure 11	Diagramme floral d'une fleur femelle de *Laurus nobilis*……....	**14**
Figure 12	Diagramme floral d'une fleur mâle de *Laurus nobilis*…….....	**14**
Figure 13	Baies entières et coupées de laurier…….	**15**
Figure 14	Distribution des Lauracées à travers le monde……	**17**
Figure 15	Métabolisme secondaire……..	**24**
Figure 16	Structure de base des flavonoïdes ……...	**28**
Figure 17	Les feuilles matures et jeunes de *Laurus nobilis* L…….	**32**
Figure 18	Protocole expérimentale…….	**33**
Figure 19	les macéras hydrométhanoliques (extraction par Macération)……	**35**
Figure 20	Filtration desmacérats hydro méthanolique…….	**36**
Figure 21	Les extraits hydrométhanoliques destinés à l'évaporation……	**36**
Figure 22	Evaporation del'éxtrait de *l. nobilis*……..	**36**
Figure 23	Préparation d'extrait Phénolique…….	**37**
Figure 24	Protocole de dosage des polyphénols……..	**39**

Figure 25	Protocol de dosage des Flavonoïdes totaux…….	**40**
Figure26	préparation de milieu de culture……..	**41**
Figure 27	Les boites pétri après incubation à 37°C……	**44**
Figure 28	Mesure du diamètre des zones d'inhibition…….	**45**
Figure 29	Microplaque après incubation test de la CMI……..	**45**
Figure30	Etude du l'activité antibactérien……..	**46**
Figure 31	Rendement d'extraction des feuilles……...	**49**
Figure 32	Criblage des polyphénols totaux…….	**50**
Figure 33	Courbe étalon de l'acide gallique……	**50**
Figure34	Dosage des flavonoïdes totaux chez l'espèce *Laurus nobilis* L……..	**51**
Figure35	Courbe étalon de Quercétine……...	**52**
Figure 36	Les zones d'inhibitions des extraits testés vis-à-vis les mésophiles et Entérocoque……..	**54**
Figure 37	Les zones d'inhibitions des extraits testés vis-à-vis pseudomona aeruginosa et E.coli……	**54**
Figure 38	Le pouvoir antibactérien de l'extrait phénolique des feuilles de laurus nobilis……	**55**
Figure 39	Test de dilution en milieu liquide……	**58**
Figure40	Concentration minimale inhibitrice……..	**58**

Liste des Tableaux

Tableau	**.I**	Classification botanique du laurier noble selon APG III …….	**14**
Tableau	**.II**	Les principaux composants des feuilles de laurier ……...	**19**
Tableau	**.III**	Certaines classes des polyphénols et leurs activités……	**27**
Tableau	**.IV**	Principaux composés identifiés dans le compartiment vacuolaire ……..	**31**
Tableau	**.V**	Les souches bactériennes ……	**42**
Tableau	**.VI**	Propriétés des extraits phénoliques……..	**41**
Tableau	**.VII**	Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de laurier……	**50**
Tableau	**.VIII**	Teneur en flavonoides totaux des extraits des feuilles de laurier……	**52**
Tableau	**.IX**	Diamètre des zones d'inhibition (activité antibactérienne)……..	**55**
Tableau	**.X**	concentration minimale inhibitrices (CMI) del'extrait Méthanolique de feuille *Laurus nobilis*en micro g /ml…….	**57**

Liste des abréviations

CMI :concentrations minimale inhibitrice

EAG *: Equivalent Acide Gallique*

E. coli : *Escherichia coli*

EqQ : Equivalent Quercétine

G : gramme

L.nobilis **:** *Laurus nobilis*

mg: miligramme

MH : Mueller Hinton.

Mm : millimètre

Rdt: Rendement

UFC : Unité Formant Colonies

µg : microgramme

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE :

L'utilisation des plantes médicinales remonte à un passé lointain, à plusieurs siècles et à plusieurs civilisations. Les plantes médicinales sont utilisées comme remèdes pour les maladies humaines car elles contiennent des composants naturels ayant un intérêt thérapeutique. Selon les études pharmacologiques plus de 1200 plantes utilisées à travers le monde en médecine traditionnelle, pour leurs activités biologiques contre divers maladies (**Ould et *al*.., 2016 ; Kaurinovic et Djendi et *al* .,2019).**

Depuis les temps les plus reculés, les plantes ont constitué un pilier fondamental dans l'évolution de la société humaine. Leur rôle dépasse largement le simple cadre de la nutrition ou de l'artisanat : elles ont toujours été, et demeurent encore aujourd'hui, l'un des premiers outils thérapeutiques utilisés par l'humanité. Dans les civilisations anciennes, de l'Égypte pharaonique à la Grèce antique, en passant par les traditions médicinales arabes, chinoises, indiennes ou amérindiennes, les plantes médicinales occupaient une place centrale dans les pratiques de soins. Les savoirs transmis oralement à travers les générations témoignent de cette richesse pharmacopée issue de la nature. Cette connaissance empirique, bâtie au fil des siècles, constitue le socle de la phytothérapie moderne.(**Ould et *al* ., 2016 ; Kaurinovic et Djendi,et *al* ., 2019).**

La plupart de ces plantes sont bien connues et traditionnellement utilisées dans le monde entier et sont largement employées de nos jours, pour leur propriété biologique : antimicrobienne, antioxydant, analgésique, antiinflammatoire, anticancérigène, antiparasitaire, anti -insecticide **(BAKKAI et *al* .,2008)**. De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants la plupart des antibiotiques **(ESSAWI T et SROUR M, et *al* ., 2000)**

Aujourd'hui, dans un contexte où la médecine chimique montre certaines limites – qu'il s'agisse d'effets secondaires indésirables, d'allergies, de toxicités cumulatives ou de la montée inquiétante de la résistance microbienne aux antibiotiques – les regards se tournent de nouveau vers les ressources naturelles. Cette redécouverte de la pharmacopée végétale s'accompagne d'un regain d'intérêt scientifique, alimenté par les progrès de la biologie moléculaire, de la chimie analytique et de la pharmacognosie. Les plantes sont désormais étudiées non seulement pour valider empiriquement leurs usages traditionnels, mais aussi

pour découvrir de nouveaux principes actifs capables d'enrichir l'arsenal thérapeutique moderne.

Parmi les composés bioactifs les plus recherchés figurent les métabolites secondaires, produits naturellement par les plantes dans un but de défense contre les agressions extérieures (herbivores, pathogènes, stress environnementaux). Contrairement aux métabolites primaires impliqués dans la croissance et le métabolisme de base, ces substances – telles que les alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes, phénols et tanins – possèdent des propriétés pharmacologiques très variées. De nombreuses études leur attribuent des effets antioxydants, anti-inflammatoires, antibactériens, antiviraux, antifongiques, cytotoxiques et même anticancéreux. Leur polyvalence biologique en fait des candidats prometteurs pour le traitement et la prévention de plusieurs pathologies chroniques ou infectieuses.

Dans ce contexte, certaines plantes méditerranéennes se démarquent par la richesse de leur profil phytochimique. *Laurus nobilis*, plus connu sous le nom de laurier noble, est une de ces espèces végétales à double vocation : aromatique et médicinale. Bien que largement utilisé en cuisine comme condiment, le laurier cache derrière son parfum une panoplie de composés actifs à fort potentiel thérapeutique. Originaire du bassin méditerranéen, cet arbuste à feuilles persistantes a été traditionnellement utilisé pour soigner diverses affections : troubles digestifs, rhumatismes, infections respiratoires, douleurs musculaires, etc.

Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent des huiles essentielles riches en eugénol, linalol, cinéole et autres composés aromatiques, mais aussi des polyphénols, flavonoïdes et tanins dont les effets biologiques sont aujourd'hui rigoureusement étudiés. Ces substances naturelles sont capables de neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif, de réguler les processus inflammatoires, et d'inhiber la prolifération de plusieurs agents pathogènes bactériens ou viraux. Plusieurs travaux scientifiques **(Ivanović et *al*., 2009 ; Chaumun et *al*.,2020)** ont confirmé les propriétés antibactériennes de cette plante, en soulignant l'intérêt d'explorer ses extraits pour de futures applications cliniques.

Dans cette optique, notre recherche vise à valoriser une ressource végétale locale, à savoir le *Laurus nobilis* issu de la région de Relizane. Cette région, caractérisée par un climat méditerranéen semi-aride, offre des conditions pédoclimatiques spécifiques susceptibles d'influencer la composition chimique des plantes qui y poussent. L'objectif de cette étude est donc de mettre en évidence l'activité antibactérienne in vitro de l'extrait des feuilles de

Laurus nobilis, en explorant le lien entre les composés phytochimiques présents et leur efficacité contre certaines souches bactériennes.

Notre travail s'articule autour de trois axes complémentaires :

Une première partie consacrée à une revue bibliographique détaillée, qui présente le *Laurus nobilis* sous ses aspects botaniques, phytochimiques et pharmacologiques, tout en faisant le point sur les recherches antérieures concernant ses propriétés médicinales.

Une deuxième partie dédiée à la méthodologie expérimentale, décrivant avec précision les techniques de récolte, de séchage, d'extraction et les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne (tests de diffusion, concentrations minimales inhibitrices, etc.).

Une troisième partie où nous présentons les résultats obtenus, accompagnés d'une discussion scientifique approfondie, mettant en perspective les données expérimentales avec la littérature existante, afin d'en dégager les implications thérapeutiques potentielles.

À travers ce travail, nous espérons contribuer à la valorisation scientifique et thérapeutique d'une plante traditionnelle algérienne, en soulignant son intérêt dans le cadre d'une médecine intégrative qui allie savoirs ancestraux et rigueur scientifique. De plus, notre étude ambitionne de sensibiliser à l'importance de préserver la biodiversité locale et de promouvoir une exploitation raisonnée et durable des ressources végétales, dans une perspective de santé publique et de souveraineté pharmaceutique.

Première partie

Synthèse Bibliographique

Première partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre1 : Les plantes médicinales

1. Définition

De façon plus générale, une plante médicinale est un végétal doué d'un effet thérapeutique sur l'organisme sans être toxique à dose normale. Il est important avant tout que l'utilisation raisonnable dans le but de guérir une maladie déclarée ne cause pas de préjudices (**Debuigne et Couplanet *al*.,2013**). En outre, une plante médicinale est non seulement une plante.

mais peut être aussi un arbre, un buisson, un champignon, un légume, une racine, une algue…etc, on parle alors d'espèces botaniques (**Bousta et Ennabili, et *al* ., 2011**). Évidemment, une plante médicinale contient une ou plusieurs substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse de médicaments utiles (**Sofowora et *al*., 2010**), et dont ces propriétés thérapeutiques sont prouvées scientifiquement ou de manière empirique par l'emploi en médecine traditionnelle **(Neffati etSghaier et *al* .,2014)**. En somme, on appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Makhloufi et *al*.,2013**)

2. Les principaux éléments actifs des plantes :

La composition chimique des plantes aromatiques est complexe. La plupart des scientifiques définissent les substances naturelles comme des composés chimiques qui se trouvent dans de nombreuses familles et espèces végétales (**Djehiche et *al*..,2022**). Actuellement, ledéveloppement des diversestechniques d'extraction, d'isolement et d'identification permitl'utilisation de ces composés dans divers domaines de l'industrie, comme des produits pharmaceutiques, agroalimentaires, cosmétiques et parfumeries **(Boughrara et *al*.,2018).**

3. Origine des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont caractérisées par deux origines. Ce sont les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", et les plantes cultivées (**Chabrier et *al*., 2010**).

3.1. Plantes sauvages :

La catégorie la plus ancienne de plantes, toujours présente sur le marché mondial aujourd'hui, est influencée dans sa distribution et son évolution par divers facteurs, notamment le type de sol et surtout le climat. En effet, ces plantes sont sensibles à des variables telles que la température, la latitude, l'altitude, la nature du sol, etc. Leurs conditions environnementales spécifiques en font des réservoirs de diversité génétique (**Chabrier et *al*.,2010)**

3.2. Plantes cultivées :

Grâce à des techniques de culture standardisées, ces plantes permettent d'obtenir des matières premières de qualité suffisante et homogène en quantité adéquate. La culture des plantes médicinales est régie par les directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et de récolte (BPAR) spécifiques aux plantes médicinales (**Chaabna et *al*., 2022**), qui couvrent les phases de culture, de récolte et certaines opérations post-récolte, adaptable aux réglementations nationales. Bien que la diversité génétique au sein des espèces cultivées soit moindre que celle de la flore spontanée, elle constitue néanmoins un réservoir de spécificités génétiques important (**Chabrier., 2010** ; **Ouedraogo et *al.*, 2021)**

4. Les méthodes d'extractions utilisées pour les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont extraites de différentes manières, combinant destechniques classiques et modernes pour obtenir des composés bioactifs.

4.1. Les techniques classiques :

4.1.1. Les percolations : Encore appelé lixiviation, ce concept est identique à celui des cafetières. La poudre de la plante médicinale broyée est enveloppée dans un solvant pendant environ une journée (**Ouedraogo et *al*., 2021).** L'écoulement du solvant se fera très lentement, environ quelques gouttes par minute, puis le marc sera pressé. Bien que ce procédé soit un moyen efficace d'extraction, il est de moins en moins utilisé aujourd'hui **(Han et *al* .,2010, Des souroux et *al*.,2011)**

4.1.2. Les infusions : Ce processus est employé lorsque les composés actifs de la plante sont hydrosolubles et peuvent être extraits facilement à partir de son tissu. Ainsi, l'infusion est idéale pour les feuilles (comme l'artichaut, la vigne rouge, le thé vert), les fleurs (comme le

millepertuis), les sommités fleuries (comme l'aubépine, la reine-des-prés) et les tiges non ligneuses (**Grenez et *al*.,2019**). On verse donc de l'eau très chaude (environ 80°C) sur la plante moulue ou écraséepuis le laisser tremper 5 10 minutes, puis filtrer. L'infusion convient à la plupart des médicaments dans les feuilles, les fleurs et les tiges (**Nogaret et *al*.,2011**).

4.1.3. Les décoctions : Il est conseillé d'utiliser cette méthode d'extraction pour les racines (bardane, valériane, harpagophytum par exemple), les écorces (cannelle) et les tiges ligneuses (pèle) (**Nogare et *al*.., 2011**). Effectivement, il est employé lorsque les substances actives sont hydrosolubles mais difficilement accessibles. Ainsi, on ajoute de l'eau froide aux parties de plantes coupées,moulues ou écrasées et on le fait bouillir (100°C) pendant plusieurs minutes (5 à 15 minutes) à quelques heures. Ce n'est qu'après avoir refroidi que le mélange est équilibré (**Saadani et *al*., 2023**) (**fgure 1**)

Figure 1 :Décoction des feuilles**.**

4.1.4. Les macérations : Ce procédé est surtout préconisé pour les fleurs, racines et les graines. La plante estlaissée à tremper à température ambiante (**Muther et *al* ., 2015**), en vase clos, dans un endroit sombre et frais. Dans la plupart des cas, le solvant utilisé est un mélange d'eau et d'alcool pour prévenir la fermentation et/ou la détérioration. A la fin de la période de macération qui est propre à chaque plante, le liquide est égoutté, le marc humide pressé, filtré et mis en flacon ou bouteille (**Kemassi et *al*., 2014**). L'alcool améliore l'absorption au niveau de la bouche et des parois del'œsophage. Les principes actifs passent alors rapidement dans le système sanguin et sont distribués à tous les organes, sans subir de potentielles transformations par les enzymes digestives et sans passer directement par le foie (**Muther et *al*., 2015) (figure. 2).**

Figure 2: Procédé de macérations des plantes**.**

4.1.5. Les purs jus de plantes :

Ces jus ressemblent un peu aux jus de fruits ou de légumes préparés à la maison.Produits par pression à froid, et donc exclusivement par mécanique, ils sont sûrs de ne pas contenir de conservateurs, d'alcool et de colorants. En raison d'un problème important de stabilité des jus de plantes (comme le jus de radis noir par exemple), ils sont souvent soumis à une stérilisation qui leur permet une conservation optimale dans le temps (**Nogaret et *al*., 2011**)(figure 3).

Figure 3 : Les jus de plantes sauvages**.**

4.2. Les techniques modernes

Parmi les techniques d'extraction modernes, on retrouve notamment ;

4.2.1. Extraction par CO2 supercritique :

L'extraction par CO2 supercritique est une technique contemporaine employée afin d'extraire de manière efficace et respectueuse de l'environnement des composés des plantes.

L'objectif de cette méthode est de traiter une matière végétale en utilisant du CO2 à l'étatsupercritique, où il agit à la fois comme un gaz et un liquide, ce qui en fait un excellent solvant **(Aggoun et *al*., 2021**). Le CO2 supercritique entraîne les molécules odorantes dans unséparateur, puis elles sont séparées du CO2 à température ambiante, ce qui préserve les qualités des extraits. Cette technique est respectueuse de l'environnement car elle ne produit ni gaz à effet de serre ni polluants, et elle permet d'obtenir des extraits de qualité supérieure (**Penchev et *al*.,2010) (figure 4**)

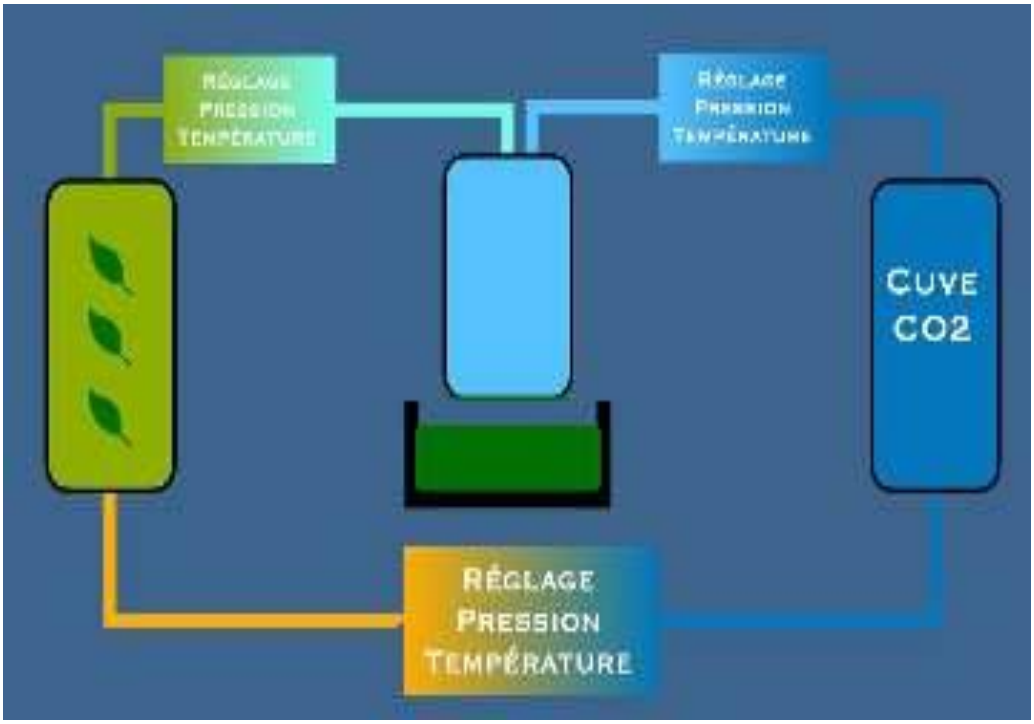


Figure 4 : Extraction par CO2 supercritique.

4.2.2. Extraction par solvants :L'extraction par des solvants volatils implique de dissoudre les composés odorants des plantes dans un solvant, qui est ensuite évaporé (**Bousbia et *al* .,2011**). Cette méthode, utilisée depuisle 18ème siècle avec des substances telles que l'éther, utilise désormais des solvants plus sécurisés comme l'hexane ou l'éthanol (**Boukhatem et *al* .,2019).** Elle est privilégiée pour les plantes dont les composés aromatiques pourraient être altérés par la distillation, ainsi que lorsque le matériel végétal ne peut pas être chauffé, comme

c'est le cas pour le jasmin (*Jasminumofficinale*), ou lorsqu'il présente une faible concentration en substances aromatiques, comme larose (*Rosa centifolia*), ou encore s'il contient des substances résineuses, telles que le benjoin(*Styrax benzoin*) **(Boukhatem et *al*., 2019)**.Dans cette méthode, le matériel végétal est placé dans un appareil en acier appelé extracteur, où il est soumis à des lavages successifs avec des solvants. Ces solvants absorbentnon seulement les parfums, mais aussi d'autres substances telles que les cires, les résines, lachlorophylle et les pigments. Le résidu végétal est ensuite nettoyé à plusieurs reprises pour maximiser la production. Le liquide résultant de cette extraction est appelé "extrait". Après décantation, filtration et évaporation du solvant, l'extrait est concentré dans l'extracteur sous vide. Une fois refroidi, l'extrait concentré se solidifie pour former une substance cireuse et très odorante, connue sous le nom de "concrète" pour les fleurs et de "résinoïde" pour les autres parties végétales (racines, mousses, etc…) (**Günther et Chatelain et *al*., 2017**).La concrète est ensuite soumise à une série de lavages à l'alcool dans des batteu ses mécaniques, suivis de refroidissements, de filtrations et d'évaporations sous vide pour éliminer l'alcool. Ce processus permet d'obtenir une essence pure appelée "absolue**" (Barghout et *al* .,2019)(figure I. 5).**

Figure 5: Appareil d'extraction par solvants**.**

4.2.3. Extraction assistée par micro-ondes

Certaines molécules, comme l'eau, absorbent l'onde et la transforment en chaleur grâceau micro-onde. À la différence du chauffage traditionnel par conduction ou convection, la chaleur est dissipée dans la masse. Dans une plante, les parties les plus riches en eau (les vacuoles, véritables réservoirs liquides des cellules) absorbent les micro-ondes, puis les transforment en chaleur. En conséquence, la température à l'intérieur du matériel augmente brusquement, jusqu'à ce que la pression interne dépasse la capacité d'expansion des parois cellulaires internes. La présence de vapeur entraîne la destruction de la structure des cellules

végétales, ce qui permet aux substances présentes à l'intérieur des cellules de s'échapper librement à l'extérieur du tissu biologique, et entraîne l'évaporation de l'huile essentielle**(Roselló-Soto et *al*., 2015) (figure 6).**

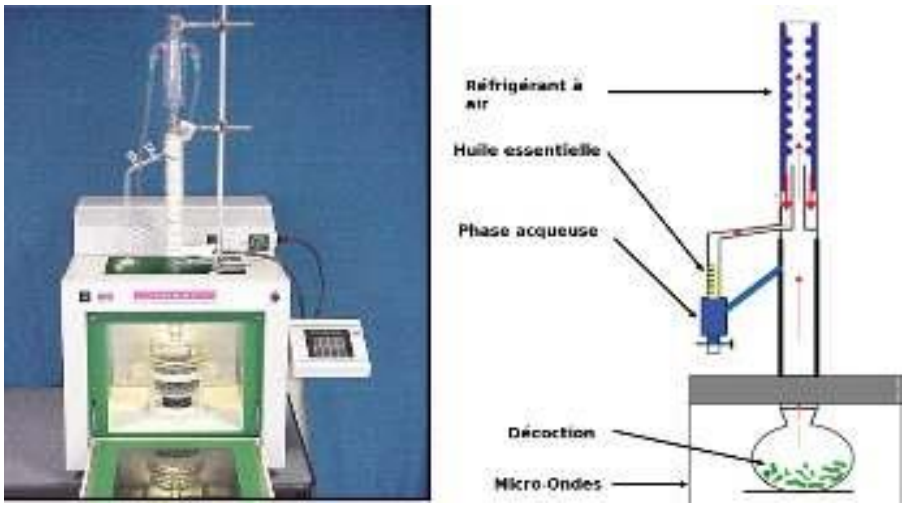


Figure 6: Appareillage Extraction assistée par micro-ondes **(Ferhat et *al* ., 2010).**

- L'extraction par micro-ondes existe sous différentes formes : Soit on peut réaliser une hydro distillation ou une extraction par solvant classique, mais en chauffant le mélange par micro-ondes pour diminuer le temps de l'extraction (**Aboudaou et *al*.,2017**).
- Soit pour utiliser tous les avantages du micro-ondes, on peut utiliser de nouvelles techniques comme : l'ESSAM (Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes) ou le VMHD (Vacuum Microwaves Hydro Distillation : une hydro distillation à la micro-onde sous vide, c'est-à-dire sans eau) (**Aboudaou et *al*.,2017) (figure . 7**)

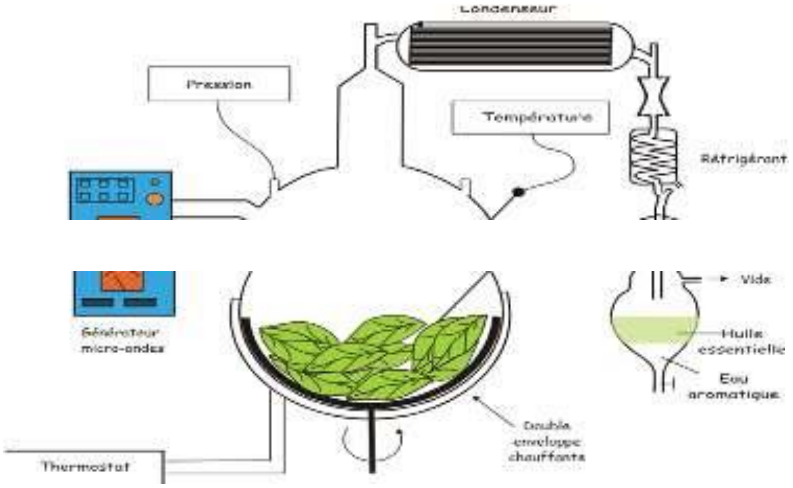


Figure 7: Schéma d'une installation VMHD (**Kanuet et *al*., 2021**).

Chapitre2 : généralités sur la plante L .nobilis

1. Généralités :

Laurus nobilis L. est un membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces **(Barla et *al*.,2007).** Laurus est un nom latin, qui veut dire « toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante. Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grec et romain**(Demir et *al*., 2004)**. Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant long temp semployée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications **(Ferreira et *al*., 2006).**

2. Dénomination international :

Connu largement sous le nom de « Rend » dans la région maghrébine Nord-Africaine, le laurier noble a plusieurs d'autres appellations (tableau 1)

Tableau 01 : Classification botanique du laurier noble selon APG III (**Briot et *al* .,2016).**

Langue	Appellation
Français	Laurier d'Apollon, Laurier commun, Laurier franc, Laurier noble
Allemand	Lorbe ersamen, lorbeer
Anglais	Laurel oil, sweet bay, bay tree, roman Laurel, noble Laurel.
Italien	Olio di alloro
Portugais	Louro
Arabe	الرند
Berbère	Taselt

3. La famille des Lauracées :

On trouve les Lauracées un peu partout dans le Monde. Ainsi, cette famille Botanique sera présente, en Australie, en Amérique du Sud, en Amérique du Nord mais aussi en Asie comme en Chine ou encore en Indonésie.

On trouve également cette famille botanique en Europe et même en France.

D'ailleurs, la famille des Lauracées contient des espèces particulièrement importantes sur le plan économique. Toutefois, on a encore du mal à se représenter la totalité de cette famille à cause de la grande diversité biologique de ces végétaux et par le manque de travaux nécessaires à leur classement.

4. Caractéristiques des lauracées :

Pour reconnaître facilement une plante appartenant à la famille des Lauracées, il faut s'attarder sur sa morphologie. Ainsi, les caractéristiques principales des Lauracées sont :

Les Lauracées sont des arbustes, jamais des plantes herbacées. Il arrive que certaines espèces soient des lianes arbustives (comme les Cassytha), mais pas des lianes herbacées.

Les Lauracées ont aussi la particularité d'être presque toujours des plantes à feuillage persistant. De rares espèces sont néanmoins caduques, comme les Sassafras qui sont caduques.

Une partie de cette famille est menacée à cause de l'exploitation du bois de certaines espèces **(Aniba rosaeodora).**

Les plantes de cette famille ont la particularité d'avoir un fort pouvoir aromatique. Beaucoup d'espèces concentrent de grandes quantités d'huiles essentielles.

Les Lauracées ne poussent que dans des climats tropicaux ou au minimum méditerranéen. Ils ne se trouvent pas à l'état naturel en régions tempérées même si certaines espèces comme le Laurier Sauce (Laurus nobilis) supporte de petites gelées.

D'ailleurs, les autres espèces de Laurier qui peuvent être toxiques, ne sont pas de véritables lauriers, Le fruit des Lauracées est une drupe, Les drupes sont des fruits charnus ne contenant qu'une seule graine.

5. Feuilles :

Le feuillage de Laurus nobilis L. est persistant avec une couleur vert foncé sur le dessus et plus claire en-dessous. La forme des feuilles est allongée voire lancéolée avec des extrémités pointues et un pétiole court. Le limbe possède un bord ondulé légèrement épaissi et recourbé vers l'intérieur. Les feuilles mesurent environ 3 à 5 cm de large sur 10 cm de long. Velues au départ, elles prennent ensuite un aspect brillant et glabre

Figure 8 : Feuille de *Laurus nobilis.*

Au niveau cellulaire, le caractère lignifié des parois et l'enfoncement des stomates augmentent la résistance de la plante aux températures basses comme élevées. Les feuilles présentent également une odeur aromatique caractéristique lors de leur froissement, due à la présence de grandes cellules sécrétrices situées dans le parenchyme palissadique (Figure 02), **(Teuscher E, Anton R, Lobstein A ;et *al* 2005).**

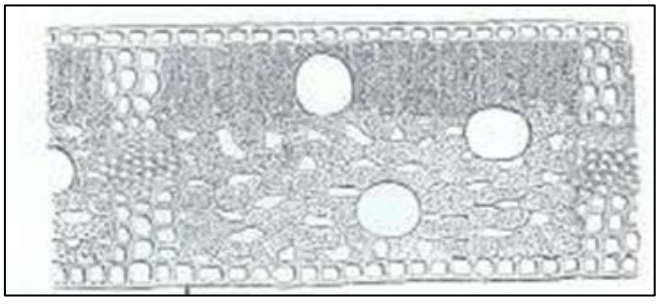


Figure 9: Coupe de feuille de Laurus nobilis montrant les grandes cellules sécrétrices**(Briot, et al 2016)**

6. les fleurs :

Le laurier noble est une plante dioïque c'est-à-dire que les fleurs mâles et femelles sont sur despieds distincts. La floraison a lieu de mars à mai. L'inflorescence est composée de petites ombelles de quatre ou cinq fleurs axillaires. Elle est de couleur blanc-crème à blanc verdâtre (**figure10) (Briotet *et al* ., 2016)**

Figure 10 : Fleurs de Laurus nobilis **(Briotet *et al* ., 2016).**

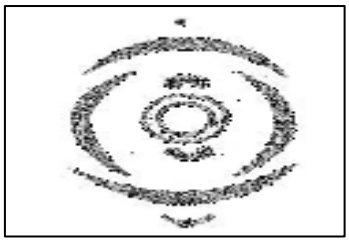


Figure 11: Diagramme floral d'une fleur femelle de Laurus nobilis **(Briotet *et al* .,2016)**

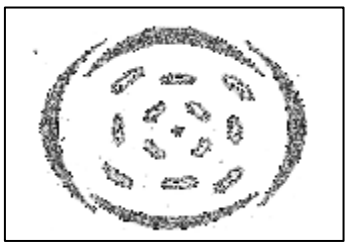


Figure 12 : Diagramme floral d'une fleurmâle de Laurus nobilis (**Briot et *al* .,2016).**

7. Les Fruits :

Les fruits sont des baies ovales d'environ 2 cm de long, vertes puis noir violacé en automne (**figure 13**). Elles contiennent une seule graine formée de deux cotylédons riches en lipides et parfumés. Les matières grasses s'oxydent rapidement ce qui limite la capacité germinative de la graine. Très souvent, les baies restent présentes tout l'hiver sur l'arbre, voire même jusqu'au printemps suivant. L'huile peut en être extraite pour fabriquer des savons (**Briot et *al* ., 2016**).

Figure 13 : Baies entières et coupées de laurier. (**Camille Briot et *al* ., 2016)**

8. Description de l'arbre :

Laurus nobilis est un grand arbuste à écorce grise pouvant atteindre de 2 à 6 m de haut, voire 15 m à l'état sauvage . Afin de simplifier sa récolte, il est fréquemment taillé en arbrisseau. D'allure pyramidale, il présente un feuillage dense vert foncé et persistant. Sa croissance est généralement lente, d'environ 5 à 6 m en vingt ans. Il peut facilement devenir centenaire**. (GEERTS P, et *al*., 2002)**

9. Espèces de lauracées les plus connues :

- Laurier-Sauce (*Laurus nobilis*) : symbolise les Lauracées.
- Laurier des Iroquois (*Sassafras albidum*) Source Photo.
- Avocatier (*Persea americana*).
- Cannelle, une écorce qu'on utilise sous forme d'épice.
- Cèdre blanc de Guyane (*Ocotea guianensis*)

10. Classification phylogénétique :

- **Ordre :** *Laurales.*
- **Famille :** *Lauraceae.*
- **Genre :** *Laurus.*
- **Espèce :** *Laurus nobilis*

Le Laurier affectionne les sols bien drainés, riches, exposés au soleil et abrités du vent froid. Il ne supporte pas les excès d'eau, mais en revanche supporte bien la sécheresse et les embruns marins. Rustique, il résiste à des températures inférieures à -12°C et même s'il peut sembler gelé, ses racines drageonnantes repartent de plus belle au printemps. Très résistant à la taille, on peut ainsi créer des haies de Laurier.

Les feuilles de Laurier se récoltent toute l'année puisqu'il est semper virens, ceci dit la meilleure période reste le matin en été car le soleil estival permet aux feuilles de développer leur arôme. Séchées, elles gardent leur saveur assez longtemps et entrent dans la composition du fameux bouquet garni. **(La rédaction Aroma-Zone et *al*., 2025)**

11. Effet thérapeutique de *laurus nobilis* et l'utilisation en médecine traditionnelle :

- ✓ Le laurier est depuis toujours utilisé pour traiter les troubles de l'appareil digestif.
- ✓ Il ouvre l'appétit, stimule la sécrétion de sucs gastriques dans l'estomac, assure une bonne digestion et évite les fermentations.
- ✓ Il est aussi utilisé pour ses propriétés antiseptiques, c'est pourquoi, il est présent dans de nombreuses marinades.
- ✓ Le laurier serait aussi un bon expectorant en cas de bronchite et sa poudre ferait tomber la fièvre.
- ✓ L'huile essentielle de laurier-sauce (qui ne doit jamais être utilisée en interne) est souvent employée sous forme d'onguents pour combattre les courbatures ou les douleurs musculaires. Son action serait aussi bénéfique sur les douleurs rhumatismales. Les décoctions de feuilles ajoutées à l'eau du bain soulageraient aussi les membres endoloris.
- ✓ Sous forme de cataplasme de feuilles, le laurier-sauce atténuerait la douleur liée aux piqûres de guêpes ou d'abeilles.

  Le laurier-sauce aurait aussi des propriétés intéressantes sur l'appareil urinaire puisqu'il tonifierait la vessie, il éliminerait les calculs rénaux, son écorce soulagerait aussi les affections du foie.

Autre :

Le savon d'Alep est traditionnellement fabriqué avec de l'huile de baies ou de feuilles de laurier.Culture et arts

12. Répartition Géographique :

13. Dans le monde

Laurus nobilis ou Laurier-sauce est une espèce d'arbuste de la famille des Lauracées, originaire du bassin méditerranéen. Originaire d'Asie mineure d'où il fut importé par les grecs et les romains, le Laurier s'est ensuite répandu dans l'ensemble du bassin méditerranéen ainsi qu'en Inde. En France, il pousse à l'état naturel sur le littoral provençal et du sud-ouest ainsi qu'en Corse. En Europe centrale il est cultivé dans des bacs car il supporte mal les hivers froids. Les principaux pays producteurs sont la Turquie qui produit deux tiers du commerce mondial (20M$ de recette annuels), l'Albanie, le Maroc ainsi que la Grèce et l'Italie (**Geerts et *al* .,2002**)

Figure 14 : Distribution des Lauracées à travers le monde **(Djehicheet *al* .,2022).**

14. *Laurus nobilis* en Algérie :

En Algérie, des arbustes de laurier sont présents dans les forêts d'aulnes réparties dans les zones humides d'Annaba, El Kala et Guerbère Senhadja. Malgré que la phytothérapie soit une pratique très ancienne, seule la cité botanique de cette biomasse qui a été largement documenté jusqu'à présent. Ses propriétés biologiques ne le sont que peu (**BenDjamaa et *al*., 2012; Guedouari et *al* .,2012).** Dans la région de relizane ,l'arbre de laurier (*laurus nobilis*) est abondant en raison des conditions favorables.

Chapitre3 : composition et métabolite secondaires

1. Composition chimique de la feuille de *laurus nobilis* :

Leur composition chimique, en particulier les caractéristiques de leurs principaux composés volatils, joue un rôle majeur dans l'activité antimicrobienne **(Guinoiseau et *al* .,2010).**

Les feuilles contiennent environ 1,3% huiles essentielles. Composées de 45% d'eucalyptol 12% d'autre terpènes, 8_12% d'acétate de terpinyle 3_4% de sesquiterpéne, 3%µde méthyleugénol et d'autre αet β pénénes phenllandrénol, linalole, géraniole, terpinéol, de l'acide de laurique.

- **Cent gramme de feuille de laurier contiennent :**

- **Colories :313kcal**
- **Glucides :74,9 g**
- **Proteines : 7,6g**
- **Fibres : 8, 3g.**

Tableau 02 : Les principaux composants des feuilles de laurier (Sangun et *al* ., 2007)

Classes	Composés
Acides phénoliques	**Acide phénylacrylique, acides p-cumarique, fénulique,sinapique**
Flavonoïdes	**Rutine, isoquercitine, hypéroside, kaempférol-3rhamnoside**
Hétérosides de lignanes	**Méthoxisolarecirénol-9-O-xylosides, schizandraside**
Alcaloïdes	**Actinodaphnine, launobine, nandigérine**
Lactones ses quiterpéniques	**Reynosine , santamarine , artémoreine**
Huiles volatiles	**1,8-cinéole, eugénol, acétate de linalyle, sabinène,géraniol**
Tannins	**Cathéchines, procyanidine B4, B5 et B7, proanthocyanidines**
Vitamine E	

2. Partie utilisée :

Les feuilles sont la partie la plus utilisée du laurier, sous forme fraîche ou séchée, dont on extrait des substances telles que les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, le linalol, l'eugénol, le méthyl chavicol et les anthocyanes, aux propriétés médicinales anti-inflammatoires, diurétiques, antioxydantes , digestives et antirhumatismales.

3. Propriétés pharmacologique et activités biologiques :

Laurus nobilis L. est une plante médicinale aromatique abondante, bénéficiant de propriétés thérapeutiques qui attribuant à la médecine traditionnelle et la pharmacologie, diverses propriétés anti-inflammatoire et antiseptique grâce à ses composants **(Bouchaal et *al*., 2015).**

a. L'activité antioxydantes :

Les propriétés antioxydantes trouvées dans l'extrait des feuilles de laurier des composées phénolique.

La combinaison unique d'antioxydants et composées organique contenus dans les feuilles de laurier aide à inhiber la croissance des cellules cancéreuse du sien et colorectales et à protéger votre corps des effets radicaux libre.

L'activité antioxydant de trois (huile essentielle, extrait méthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont Laurus Nobilis ; cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydant pour chacun des trois extraits et elle est plus haute pour les extraits polaires. Dans une autre étude **(Demo et *al*., 1998)**

b. Activité anti – inflammatoire :

L'extrait méthanolique (80%) des feuilles de laurier séchées, administré par intubation gastrique à des rats à une dose de 100 mg / kg, a entraîné une inhibition de 19% de l'oedèmeinduit. L'acétate d'éthyle et l'extraits d'hexane des feuilles, appliquée extérieurement [(TPA)- inflammation de l'oreille] sur des souris à une dose de 20,0 microlitres /animal, étaient actifs comparativement au tétradécanoyl acétate de phorbol **(Olivier et Imael et al ., 2017)**. L'isolement des composés actifs des fruits et des feuilles du Laurus Nobilis L. Àété réalisé Par (**Fang et al, 2005**)

c. Activité antibactérienne :

L'étude de (**Dadalioglu et Evernddilek et *al* .(2004**) a montré une efficacité d'HE sur Salmonella typhymurium, Staphylococcies aureus et E. coli. L'HE a une capacité d'inhiber les souches buccales de Sauteuse avec une importante activité anti-bio film (**Anneliste et *al*. ,2017). (Yahvé et al., (2011)** montrent que les extraits d'autre espèce avec un spectre antimicrobien plus large et à des doses plus faibles.

d. Effet inhibiteur d'enzyme

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques (également appelés biocatalyseurs) qui accélèrent les réactions biochimiques dans les organismes vivants (**Robinson et *al*., 2015**).

Les enzymes antioxydantes de toutes les cellules du corps se composent de trois grandes classes d'enzymes antioxydants qui sont les catalases, les superoxyde dismutases **(SOD)** et les glutathion peroxydases (**GPX**). Tous ces éléments jouent un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie dans les cellules **(He et *al*., 2017**).

e. Autres effets

e**-1-L'activité anti-biofilm** :

Les propriétés et l'extraction des sucres, des huiles essentielles et des huiles grasses de L. nobilis ont démontré son activité anti biofilm. (**Chmit et *al*., 2014**). Les huiles essentielles semblent jouer un rôle important dans l'élimination et le contrôle de la formation de biofilm et peuvent également compléter les antiseptiques et les antibiotiques utilisés à faible concentration. (**El-Tarabily et *al*., 2021).**

e-2Activité anti-diabétique :

Le diabète c'est une dérégulation chronique de la glycémie entraînant une altération de la sécrétion d'insuline, une action anormale de l'insuline ou les deux sont ce qui distingue le diabète en tant que trouble métabolique. À la lumière de ce qui précède, lorsque les besoins de l'organisme ne sont pas satisfaits par la quantité d'insuline plasmatique produite et/ou active, cela devient un problème **(Goldenberg et Punthakee, et *al* ., 2013).**

La capacité des plantes médicinales à retarder la production ou l'absorption intestinale du glucose en inhibant les enzymes hydrolysant les glucides, telles que l'amylase et la glucosidase, est l'une des approches thérapeutiques pour réduire l'hyperglycémie postprandiale **(Kidane et *al*., 2018**). Lα-Amylase, une enzyme clé impliquée dans la digestion des glucides, est l'enzyme cible pour réduire le taux d'absorption des glucides. On trouve des inhibiteurs de l'α-amylase (α-IA) dans les plantes (**Peddio et *al*., 2021).**L'inhibition par l'alpha-amylase de la capacité du tube digestif à décomposer les glucides (amidon) ralentit et prolonge la durée de la digestion. Il diminue également la vitesse à laquelle le glucose est absorbé, abaissant le taux de sucre dans le sang et empêchant le développement de la glycémie (**Bousnina et *al*.,2013**). Les plantes constituent une source importante de constituants chimiques susceptibles d'inhiber l'α-amylase et peuvent être utilisées en tant qu'aliments thérapeutiques ou fonctionnels (**De Sales et *al*., 2012).** Il existe des inhibiteurs naturels de l'α-amylase tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes sont

recommandés comme nouvelle thérapie dans le traitement du diabète de type 2sans risque ou peu d'effets secondaires **(Khan et *al*., 2018).**

e-3-L'activité anti-Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est causée par la lente dégénérescence des neurones qui commence dans l'hippocampe (une partie du cerveau importante pour la mémoire) et se propage ensuite à d'autres parties du cerveau. Les troubles des fonctions exécutives, l'orientation dans le temps et la mémoire récente sont les caractéristiques de cette affection. Le patient perd progressivement ses capacités cognitives et son autonomie **(Inserm,et *al* ., 2017**). Il est une maladie neurodégénérative progressive du système nerveux central (SNC) causant la démence, principalement dans la population âgée. Les principales caractéristiques du développement dela maladie d'Alzheimer (MA) comprennent, entre autres, la perte des neurones cholinergiques,l'élévation des activités de butyrylcholin estérase (BChE) et d'acétylcholinestérase (AChE) et l'accumulation de dépôts intra- et extracellulaires de β-protéine amyloïde dans le tissu cérébral.Il a déjà été démontré que, en dehors de l'hydrolyse de l'acétylcholine, conduisant à des déficits dansles voies cholinergiques, AChE favorise l'agrégation de β-amyloïde protéine suivie par la formation d'un complexe avec β croissant fibrilles amyloïdes (**Szwajgier et Borowiec ,et *al* ., 2012).**

4. La composition de l'hydrolat de laurier noble :

Hydrolat de laurier Matière Brute est obtenu par distillation de la plante fraîche au cœur de sa belle saison. Il dote les soins et cures Matière Brute de nombreuses propriétés bénéfiques pour la peau, mais aussi pour le bien-être général Voici les principales molécules que l'on retrouve dans un bon hydrolat de laurier noble :

- 1,8 — cinéole (eucalyptol) en majorité : un composé naturel incolore retrouvé chez de nombreux végétaux. On parle aussi d'oxyde terpénique. C'est ce composé qui est le responsable du parfum très frais et épicé du laurier.
- Eugénol : un composé aromatique également présent dans le clou de girofle par exemple.
- Terpènes (alcools mono terpéniques), entre autres le linalol et α-terpinéol : le linalol est souvent retrouvé chez les conifères et donne une légère odeur de muguet. L'alpha-terpinéol quant à lui rappelle d'autres végétaux comme la lavande, le romarin, le genévrier. Il confère par ailleurs un parfum très fleuri.

- Esters, monoterpènes et sesquiterpènes : ces composés sont retrouvés suite à la transformation de la plante en hydrolat.

5. Les propriétés organoleptiques de l'hydrolat de laurier noble :

- **Son aspect** : liquide et mobile.
- **Son odeur** : assez forte, gage de qualité et de pureté, mais agréable, fraîche et facilement reconnaissable.
- **Sa couleur** : totalement incolore.
- **Son goût** : frais et puissant.
- **Son pH** : entre 4,5 et 6,0.

6. Le métabolisme secondaire :

➢ **Généralités :**Le métabolisme secondaire désigne l'ensemble des activités biochimiques par les quelles les cellules génèrent les métabolites et l'énergie essentiels à leur survie, en décomposant des matières organiques complexes **(Tahtah et *al* ., 2022).** Les métabolites primaires sont des composés organiques présents dans toutes les cellules d'un organisme végétal, assurant ainsi son fonctionnement de base (**Messaoud et *al* .,2023**). En revanche, les métabolites secondaires sont spécifiques à certaines espèces végétales et remplissent des fonctions cruciales pour leur survie et leur propagation. Ils agissent notamment comme des signaux chimiques, protégeant les plantes productrices contre les herbivores et les pathogènes, et contribuent aux réponses allopathiques, qui consistent en la compétition entre les plantes pour la germination et la croissance **(Ley-Ngardigal, et *al* ., 2023)**

a. Les métabolites primaires :

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie **(Epifano et *al*., 2007).**

b. Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires ont une répartition limitée dans les différentes espèces de végétaux. Ils ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes. Comme ils participent à des réponses allopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance) **(Jeaun et *al* ., 2005).**

➢ Les composés du métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes : **(MERGHEM R et *al* ., 2009.)**

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tannins), et les quinones.
- Les terpénes et leurs dérivés.
- et enfin les alcaloïdes.

Ces biomolécules très diversifiées, illustrent l'extraordinaire richesse métabolique des plantes supérieures

.

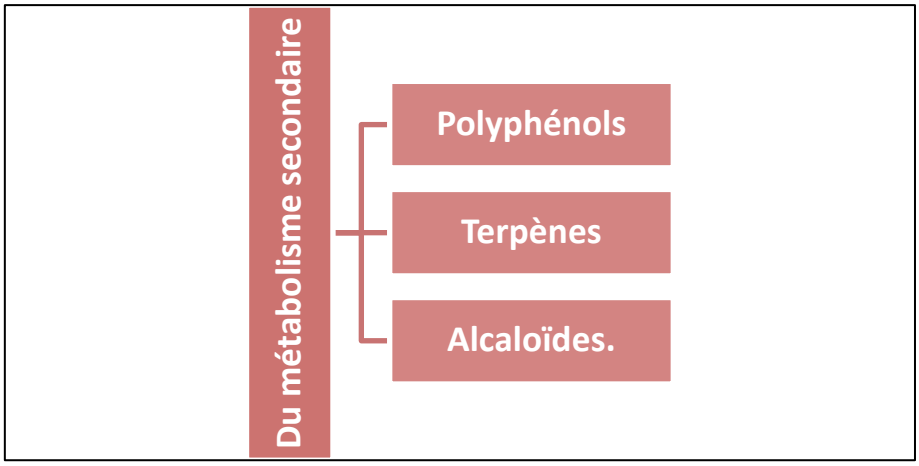


Figure 15:Métabolisme secondaire

7. Rôle biologique des métabolites secondaires :

Ils participent à la vie de relation de la plante avec l'environnement et ils ont des rôles très variés. Ils peuvent servir de défense (secrétions amères ou toxiques pour les prédateurs) ou au contraire, attirer certaines espèces ayant un rôle bénéfique (pollinisateurs).

8. Les terpenoids :

Les terpénoïdes sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures, ils sont situés dans le cytoplasme de la cellule végétale et sont généralement liposolubles. Production des huiles essentielles soit dans des cellules glandulaires spéciales en surface des feuilles, soit dans la feuille et le pétale pour le cas des caroténoïdes. Un nombre considérable de différentes fonctions ont été attribuées aux terpénoïdes des végétaux englobant les arômes et les parfums, les antibiotiques, les hormones végétales et animales, les lipides membranaires, les attracteurs

d'insectes et les médiateurs des processus essentiels de transport d'électrons qui sont les étapes génératrices d'énergie de la respiration et la photosynthèse(**BELGUIDOUM et *al*.,2018)** les terpénoïdes présentent largement dans plusieurs médicaments pour leurs propriétés biologiques (**MOUSAVI et *al*., 2019**).

9. Rôle de terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures organiques produits par un grand nombre de plantes et même certains animaux.

Ils sont en partie responsables des arômes et des saveurs spécifiques de chaque plante.

10. Différents types de terpènes :

- **Pinène :** ses propriétés anti-inflammatoires et bronchodilatatrices.
- **Mycènes :** des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et relaxantes.
- **Limonène :** ses propriétés antibactériennes, antifongiques et stimulantes pour l'humeur.
- **Linalol** : anti-anxiété et anti-inflammatoires

11. **Les alcaloïdes** :

Sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, Les métabolites secondaires et les activités biologiques24degré variable de caractère basique (**Yinyang et *al* ., 2014**). Depuis l'identification du premier alcaloïde, à savoir la morphine à partir de l'opium en 1806, il a été déclaré que plus de dix mille alcaloïdes ont été isolés des plantes ; ainsi que certains parmi eux sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées, à titre d'exemple : un dérivé de la pervenche de Madagascar (*Vincaroseasyn Catharanthusroseus*) employé pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone (*Atropa belladonna*) , ont une action directe sur le corps : activité sédative, effets sur les troubles nerveux tels que la maladie de Parkinson (**Djehiche et *al*., 2022**).

12. **Rôles des alcaloïdes :**

Ils possèdent une activité pharmacologique significative. Bien que beaucoup d'entre eux sont employés pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans la cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents

anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine), mais certains d'entre eux sont toxiques (comme la strychnine où l'aconitine) (**Zenk et Jueng , et *al* ., 2007).**

13. -Rôle biologique des composés phénoliques :

Le rôle des composés phénoliques est reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans leurs utilisations par l'homme. Ils peuvent en effet intervenir :

- ✓ Dans certains aspects de la physiologie de la plante (régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains parasites).
- ✓ Dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique(relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV).
- ✓ Organes végétaux (fruit, légumes) et des produits qui en dérivent par transformation.(**Macheix et *al*., 2009)**

Tableau 03 : Certaines classes des polyphénols et leurs activités.

Certaines classes des polyphénols	Activités	Références
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydant	**(Stavric et Matula et *al* 1992).** **(Das et *al.* 1994).** **(Bidet et *al.* 1987).** **(Bruneton et al 1993).** **(Aruoma et *al.* 1995)**
Tannins	Antioxydant Antibactérienne et antiinflammatoire Anti tumoral Anti diarrhéique Digestibilités des protéines	**(Okuda *et al*., 1983).** **(Mota et *al*., 1985).** **(Paolini et *al*., 2003).**
Tannins galliques	Antioxydant	**(Okuda et *al*.,1983)**
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant	**(Bruneton J.,1993).**
Coumarines	Protectrices vasculaires, antiinflammatoires, anti parasitaires analgésiques et anti œdémateuses	**(Ito C., Itoigawa et *al* .,2005).** **(Smyth T *et al*.., 2009).**

14 Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont omniprésents dans les plantes ; presque tous les tissus végétaux sont capables de les synthétiser (**SAIDI et *al* ., 2018**). Ces molécules sont responsables principalement de l'arôme et de couleur vive des fleurs et des fruits des feuilles (**TOUBAL et *al* ., 2018**). Il présente également plus de 5000 flavonoïdes différents **(MOUSAVI et . , 2019**). Les flavonoïdes représentent une source importante de produits pharmaceutiques (**TOUBAL et *al* ., 2018**) ; parce qu'ont un potentiel très élevé d'activité biologique surtout dans l'activité antioxydants (**MOUSAVI et *al* ., 2019).**

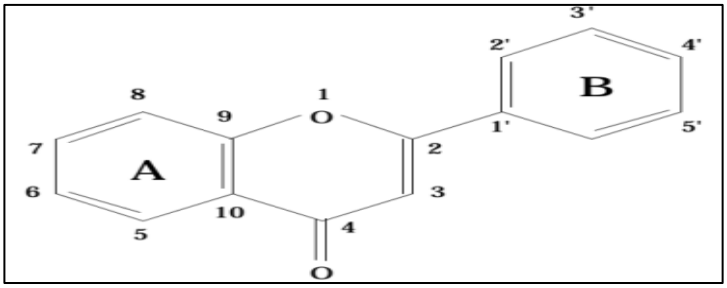


Figure16: Structure de base des flavonoïdes **(Cowanet *al* .,1999)**

15 Fonction des métabolites secondaires :

✓ Favoriser la coopération avec les animaux

✓ Lutter contre la compétition d'autres plantes par l'inhibition de la germination

✓ La défense contre la prédation et les attaques des agents pathogènes

(microorganismes, champignons, insectes, herbivores) comme une barrière chimique.

✓ La défense des parois et des organites cellulaires contre les attaques microbiennes et le retard à la décomposition des feuilles qui permet un apport plus constant de substrat au sol tels quelle tanins (**KRIEFet *al..*, 2003**)

✓ La défense contre divers types de stress environnementaux (**Mousavi et *al..*, 2019)**

✓ La protection des plantes contre les radiations UV.

Mécanisme d'actions :

Les composants bioactifs de la plantes aromatiques ont des actions spécifiques. Ilsagissent en particulier au niveau de la membrane et du cytoplasme, et dans certains cas modifient complètement la morphologie des cellules (**Bouyahya et *al* . , 2017)**

✓ **Action sur la membrane cellulaire:** Le mécanisme d'action est attribué à l'interaction des molécules constituant Ducaractère lipophile avec les constituants de la membrane cellulaire. Ils sont capables de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire et s'accumulerentre les phospholipides, entrainant des modifications de conformation et éventuellement un manque de régulation de la membrane cellulaire, ce qui perturbe le transport membranaire dessubstances nutritives. Et peut aussi dis réguler le transport membranaire via la perturbation du gradient ionique de deux coutés de la membrane cytoplasmique. Mais, certaines souches bactériennes lui permettant de contrebalances cet effet grâce à l'utilisation de la pompe ionique (**Bouyahya et *al* ., 2017**).

✓**Action sur les acides gras membranaires**: La diminution du taux des acides gras insaturés qui responsables de la fluidité membranaire. Cela cause des perturbations au niveau de l'enveloppe externe de la cellule, et des modifications structurales de la membrane tels que, le thymol, le carvacrol et l'eugénol (composés phénoliques) **(Bouyahya et *al* ., 2017).**

✓**Action sur les protéines** :Les composants secondaires peuvent effectuer les protéines présentes dans les bactéries d'inhiber la division cellulaire. Par exemple, le cinnnamaldéhyde capable d'inhiber la séparation des cellules de Bacillus cereus par l'inhibition de l'assemblage du complexe FtsZ (un régulateur de division cellulaire chez les procaryotes) avec les anneaux-Z- localisés sur les sites de division cellulaire (perturber la morphologie des anneaux-Z et inhiber la polymérisation des FtsZ (**Bouyahya et *al*., 2017).**

✓**Mode d'action contre l'ATP :** Les procaryotes produisent l'ATP au niveau de membrane par la chaine respiratoire et dans le cytosol par la glycolyse. Mais, la modification dans la membrane cellulaire par les substances de métabolites secondaires affecte au processus du couplage énergétique conduisant à une perturbation entre l'équilibre du pool d'ATP intracellulaire et extracellulaire .Par exemple, l'utilisation de l'EH contre listeria monocytogenes et staphylococcus aureus adiminué significativement le taux d'ATP intracellulaire

✓**Action contre le quorum sensing** :Le quorum sensing (QS), ou phéromones bactériennes sont des molécules qu'utilisent les bactéries pour assurer la communication entre elles. Pour permet nombreux des fonctions cellulaires tels que la bioluminescence, la sporulation, la formation de biofilms, l'accouplement et l'expression des facteurs de virulence.

✓**Autre mécanisme d'action des métabolites secondaires contre les prédateurs** :

✓**L'inhibition de la germination d'autres plantes voisins végétales** .Tels que les feuilles de noyer contiennent un glucoside phénolique qui, lorsqu'elles tombent au sol, s'hydrolyse et s'oxyde en jugulons sous l'action de la pluie. La jugulons est une naphtoquinone , toxique pour la plupart des plantes(**KRIEF et *al*., 2003**).

✓ Texture coriace et diminution de l'appétence par exemple les tanins et alcaloïdes.

✓ Toxicité et réduction de la digestibilité par la formation de complexes avec les protéines et astringence, provoquant l'inhibition de digestion des protéines (**Krief et *al*., 2003**)

Tableau 04 : Principaux composés identifiés dans le compartiment vacuolaire. (MERGHEM R et *al* ., 2009)

Métabolites primaires	**- Glucides : saccharose. Acides aminés : Arg , Lys , Trp** **- acides organiques : ascorbique, malique, oxalique, citrique.**
Ions	K+, Na+, Cl-, Ca++, Mg++
Hormones	Gibbérellines, acide abscissique
Enzymes hydrolytiques	Invertase, phosphatase acide, protéases, Fructosidase
Métabolites secondaires	- Flavonoïdes, anthocyanes, tannins, - Acide coumarique , glucosides cyano géniques - Alcaloïdes : ajmalicine , serpentine

Deuxième partie

Matériel et méthodes

Deuxième partie : Partie expérimental

1. Matériel Végétal :

Notre étude a été réalisée sur les feuilles de *Laurus Nobilis* L que nous avons récolté en mois de Mars 2024 dans la région de Oued rehiou wilaya de Relizane . La récolte de la plante a touché deux stades végétatifs différents (feuilles Jeune et feuilles mature), la récolte a été effectuée très soigneusement de manière à ne pas détériorer les éléments organiques et minéraux présents .Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté de science da la nature et de la vie de l'université Relizane .

Figure 17 : les feuilles mature et jeune de *laurus nobilis* L.

2. Étude phytochimique de la plante:

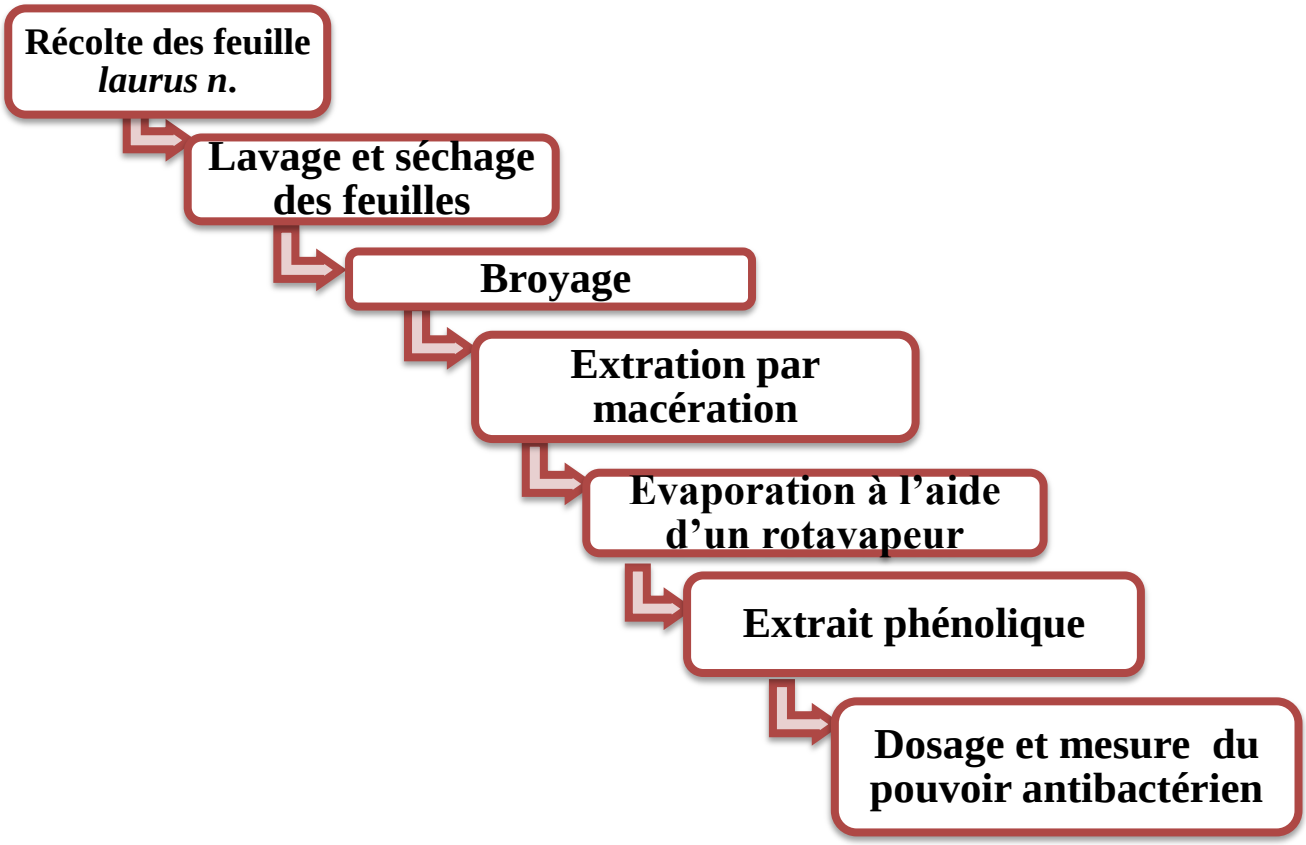


Figure 18 : Protocole expérimentale

Après la récolte ,les feuilles(jeune et mature)ont été nettoyées lavées avec de l'eau de robinet a fin de ce débarrasser de toute poussière et matière étrangère comme le sable; sol et d'autres puis ont été séchées pendant 20jours dans un endroit sec et à l'ombre ,pour préserver au maximum l'intégrité des molécules .Ensuite ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui a été servi pour la préparation des extraits afin de les utiliser dans l'étude de l'activité antibactérienne.

3. Broyage des parties séches :

Les organes des plantes sélectionnées ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique, pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation.

4. Préparation des extraits :

Cinquante 50 g de la poudre végétale a été macéré dans un mélange hydro-alcoolique méthanol/eau (70%, 30%) sous agitation et resté 72 heures, le mélange est filtré sur papier filtre Whatman (0,5 µm), la macération a été répété trois fois pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures pour permettre la solubilisation maximum des composées .Les trois macéras filtrés sont réunis pour donner l'extrait Méthanolique ; celui-ci est évaporé à sec sous pression réduit à 43 Cº au rotavapeur et pesé pour déterminer le rendement d'extraction ,le résidu sec et conservé dans une boite de pétri en verre comme extrait phénolique jusqu'à l'utilisation.

A. Extraction :

- **Objectif :**

Le but de cette étape se compose à extraire le maximum de biomolécules contenues dans les parties aériennes de la plante *Laurus Nobilis* L. On utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction selon la littérature.

- **Rendement d'extraction :**

Le rendement de l'extraction correspond au pourcentage de métabolite secondaire dans un solvant organique ou aqueux utilisé pour l'extraction **(Abe et *al*., 2010**). Il est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant et la masse de la poudre végétale utilisé. Ce rendement est calculé par l'équation suivant :

$$R\ (\%) = [M1/M0] * 100$$

R (%) : Rendement des extraits exprimé en pourcentage %.

M1 : La masse de l'extrait sec.

M0 : La masse de poudre la poudre végétale.

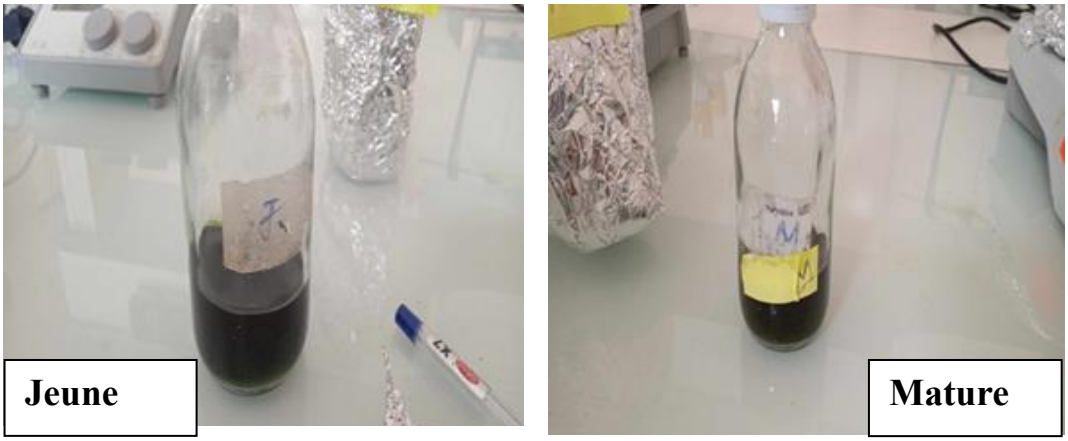


Figure 19: les macéras hydro méthanoliques (extraction par Macération)

A. Macération :

➢ Principe

La macération est une méthode qui laisse la poudre végétale en contact prolongé avec un solvant, pour en extraire les principaux actifs .Elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules.

➢ Protocol :

On a utilisé 50g des parties ariennes de la plante *Laurus Nobilis* L. sous forme de poudre dans un flacon, contenant un mélange solvant : (Méthanol : Eau) (70 : 30) : (V/V) et puis laisser macérer pendant 72 heures. Cette macération est répétée 3 fois. Les macérats hydro méthanolique ont été filtrés.

➢ Filtration :

Après macération, les trois macérats ont été filtrées à l'aide de papier filtre. Chaque filtrat obtenu a été couvert par du papier aluminium et conserver dans le réfrigérateur. La filtration se fait à température ambiante pendant 24h.

Figure 20: Filtration des macérâts hydro méthanolique .

- **Évaporation à sec :**

Près filtration, les macérats ont été évaporés par rotavapeur , à température 43°C. Jusqu'à élimination du solvant complètement. Les deux extraits secs sont conservés dans réfrigérateur jusqu'à l'utilisation. La pesée a été faite pour déterminer le rendement d'extraction.

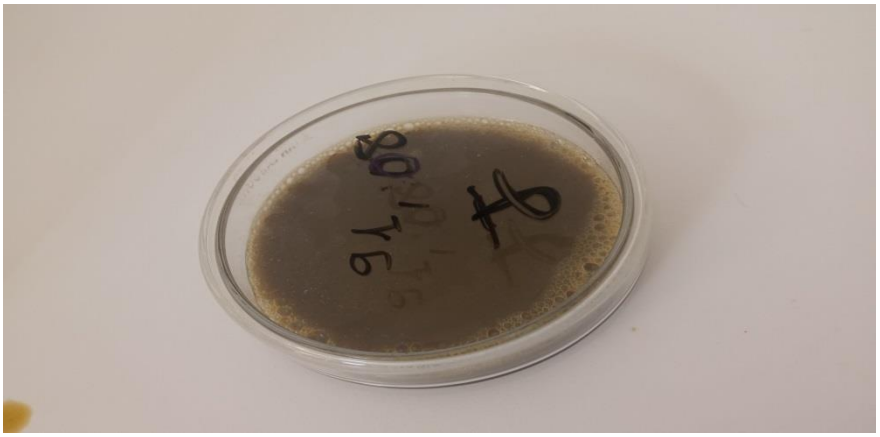


Figure 21: Les extraits hydrométhanoliques destinés à l'évaporation

Figure 22 : Evaporation del'éxtrait de *l. nobilis*

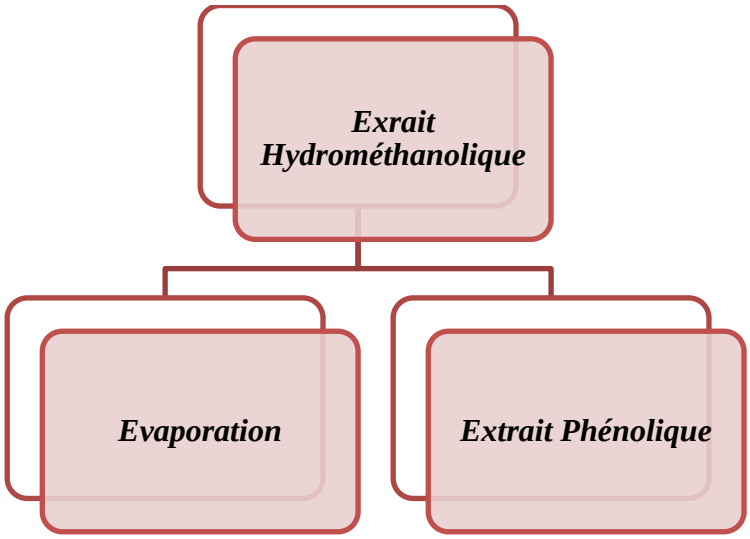


Figure 23: préparation d'extrait Phénolique

Après cette étape on ajoute une goutte de Méthanol dans le ballon pour gratter l'extrait organique brut par une spatule pour le récupérer dans une boite pétri en verre stérile puis conservé au réfrégirateur jusqu'à l'utilisation.

5. le Rendement d'extraction:

Les valeurs des rendements sont exprimées par rapport à la matière sèche. Le rendement (R) en extrait Méthanolique est le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$Rdt\ (\%) = 100 M\ ext / M\ écha.$$

Rdt : Rendement de l'extrait en pourcentage %.

M ext : La masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg.

M écha : la masse sèche de l'échantillon végétal en mg. **(Tass et Yahi et *al*., 2022)**

6. Dosage des Polyphénols Totaux :

Principe : Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique utilisant le réactif de FolinCiocalteu .Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide Phosphotungstique (H3 PW12 O4) et d'acide Phosphomolybdique (H3 PMO12 O40). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dont l'absorbance est comprise entre725 et 760 nm **(Lit et *al* ., 2007).**

A. Méthode :

Un Volume de 0.2 ml d'extrait a été mélangé avec 1.5 ml de Folin Ciocalteu (10%).

Après 5 minutes, on rajoute 1.5 ml d'une solution de Carbonate de sodium (6%). Le mélange est soumis sous agitation puis incubé à température ambiante à l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm sur un Spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en miligramme équivalents d'acide gallique par g d'extrait sec (mg EA/g d'extrait)

$$\text{Polyphénols} = a.\ f/C$$

a : Concentration de Polyphénols (mg Eq Acide Gallique/g d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution (×22).

C : Concentration de l'extrait.

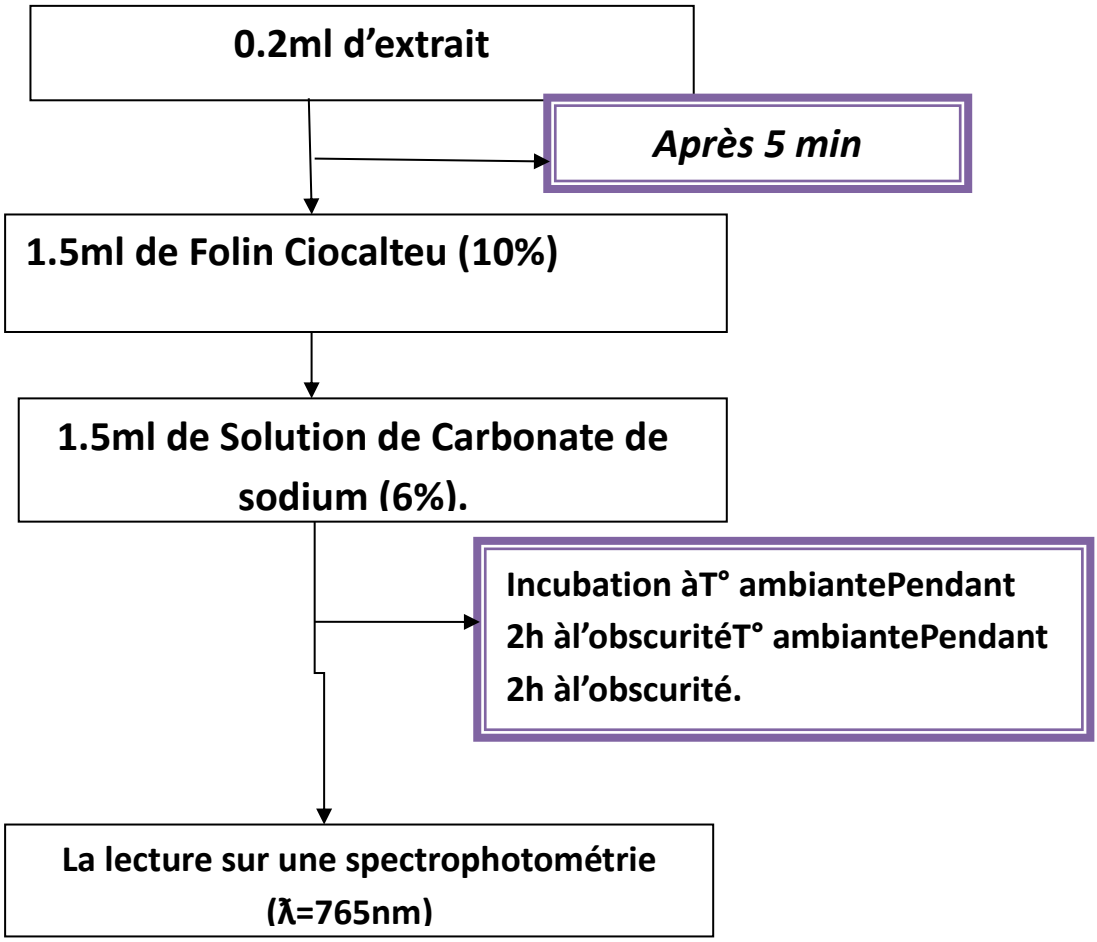


Figure24 : Protocol de dosage des Polyphénols totaux (**Lit et *al.*., 2007)**

B. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique AG:

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations de 0.1 à 10 µg/ml, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale.

7. Dosage des Flavonoïdes totaux :

Principe : Les flavonoïdes sont quantifiés par une méthode colorimétrique au trichlorured'aluminium (AlCl3) 2%. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, qui absorbe dans le visible à 510 nm (**Ardestani et Yazdanparast et *al* ., 2007).**

A. Méthode :

Un Volume de 1 ml d'extrait a été additionné à 1 ml de Trichlorure d'aluminium à 2% (Alcl3). Le mélange a été placé à température ambiante et a l'obscurité pendant 10 min puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm sur un Spectrophotomètre. La Quercétine est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en miligramme équivalents Quercétine par g d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait).

$$\text{Flavonoïdes} = a.\ f/C$$

a : Concentration de flavonoïdes (équivalent decatéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution (×10).

C : Concentration de l'extrait.

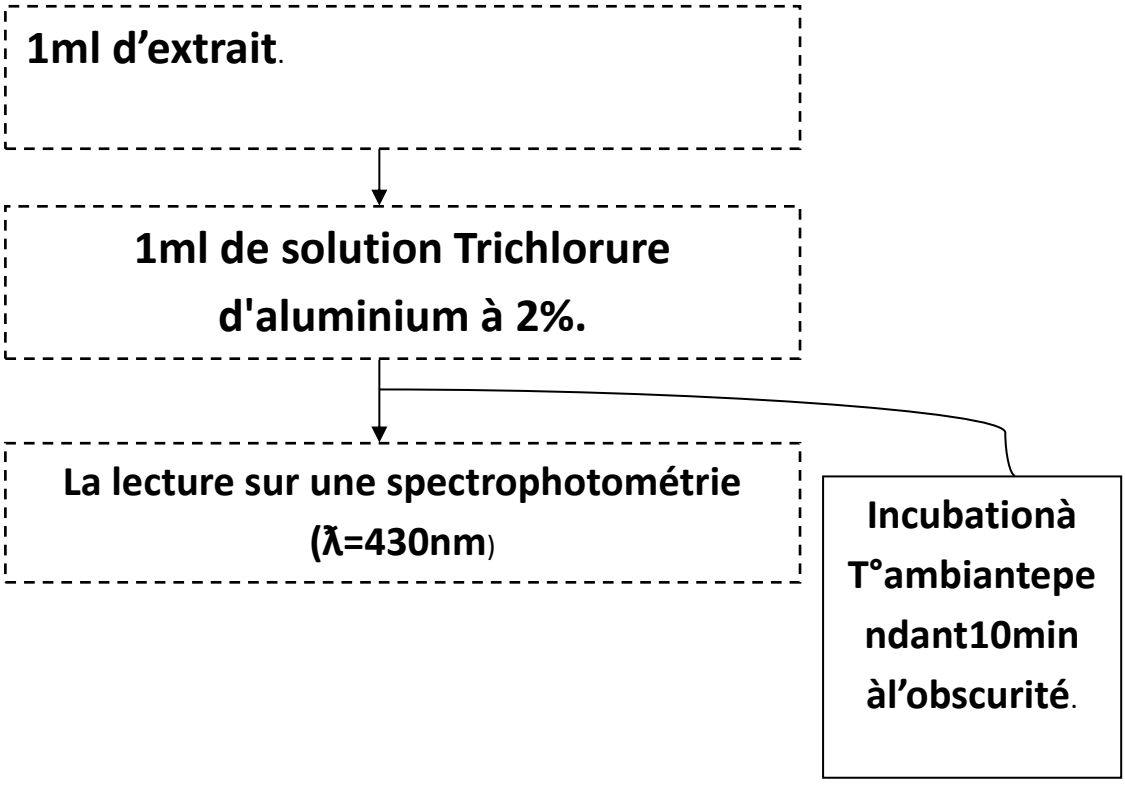


Figure 25 : Protocol de dosage des Flavonoïdes totaux (**Ardestani et Yazdanparast et *al* ., 2007)**

B. Courbe d'étalonnage de la Quercétine :

La courbe d'étalonnage est effectuée par la Quercétine à différentes concentrations de 0.1 à 10 µg/ml, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme équivalents de Quercétine par gramme de matière végétale.

8. Etude du l'activité antibactérienne:

8_1.Mise en évidence du pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion sur milieu gélose.

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait de *L. nobilis* , nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé Muller-Hinton décrite par **(BARRY et *al* ., 1985)**. L'activité antibactérienne est déterminée par le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne produite autour des disques après l'incubation (**BUZID et *al* ., 2011)**

A. Milieu de culture :

- **Principe :**

La gélose Mueller–Hinton (MH) est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries pathgènes aux agentsantimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose

Figure 26:préparation de milieu de culture MH

➢ **Les souches bactériennes :**

Tableau 05 : Les souches bactériennes testées

Famille/ éspèce	Gram	Origine
E. coli	**Gram -**	**Souches isolés et identifier au laboratoire d'hygiéne de la wilaya de Relizane « service contrôle des denrées alimentaires ».**
Pseudomonas aeruginosa	**Gram -**	
Entérocoques	**Gram +**	
Mésophiles		**Souches isolés au laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté SNV, Univ. Relizane**

B. Repiquage et revivification des bactéries pathogènes

Les souches sont conservées dans des milieux appropriés. Elles sont activées et maintenues par un repiquage. On prélève à l'aide d'une anse à platine des colonies, on les ajoute à 9 ml de bouillon nutritif, on ferme bien les tubes à essai puis on agite pour rendre parfaitement le mélange homogène et enfin on incube à 37° C pendant 72 heures.

C. Préparation des suspensions des bactéries pathogènes

Ā partir des tubes à essai, on prélève 100 µL à l'aide d'une micropipette et en utilisant de la méthode d'ensemencement en masse, on l'ensemence sur le milieu sélectif gélosé coulé sur la boite de pétri puis on incube à 37° C pendant 24 à 48 heure.

La préparation des suspensions bactériennes se fait par le transfert de quelques colonies à l'aide d'une pipette pasteur à partir des cultures bactériennes jeunes dans une solution de Mueller Hinton liquide (MH) pour avoir un inoculum de 10^8 UFC /ml . **(Ndip et *al*.,2007).**

D. Spectre antibactérien des extraits

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits phénoliques, la méthode de diffusion à partir d'un disque de papier a été utilisée **(Saadabi et *al* ., 2011)**.

Les différents extraits phénoliques sont dissous dans l'eau distillée stérile et le DMSO a été utilisé comme témoin négatif. Des boites de pétri de 90 mm de diamètre contenant le milieu Mueller Hinton agar, sont inoculées par la suspension bactérienne pathogène une pré-culture préparé 16 heures au préalable et ajustés à 10^8 UFC /mL . Ensuite un disque de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre imbibé par 20 µl d'extrait (reconstitué selon la concentration voulue) est déposé à la surface de la gélose ensemencée (**Gupta et *al*., 2012).**
L'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire claire dans laquelle il n'y a pas de croissance de microorganismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible.

8-2 .Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) représente la plus faible concentration d'extrait antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après une incubation de 18 à 24h **(Skandamis et *al*., 2001).**La détermination de la concentration minimale inhibitrice a été réalisée par la méthode des micro dilutions en milieu solide décrite par (**Billerbeck et *al*., (2002).**

La CMI du meilleur extrait de polyphénols de laurier a été déterminée par la méthode de micro dilution en bouillon selon le **CLSI (2008).** Une suspension bactérienne de 100 µL a été ajoutée aux puits d'une plaque de micro titration à 96 puits stérile contenant déjà 100 µL des échantillons de *L. nobilis* testés dilués à concentrations croissante, ensuite était incubée pendant 24 heures à 37 °C. La concentration finale de l'inoculum était d'environ 5.10^5 UFC/mL.

Lecture : - Présence d'un halo ou d'un dépôt au fond de la cupule montre la présence d'une croissance bactérienne que veut dire la résistance bactérienne.

- L'absence d'un halo ou de dépôt au fond de la cupule montre l'absence d'une croissance bactérienne que veut dire la sensibilité bactérienne.

Donc La CMI de chaque extrait correspond à la concentration de la première cupule claire (pas de culture par rapport au témoin négatif). Classer les bactéries dans la catégorie résistant (R)ousensible (S) selon le résultat.

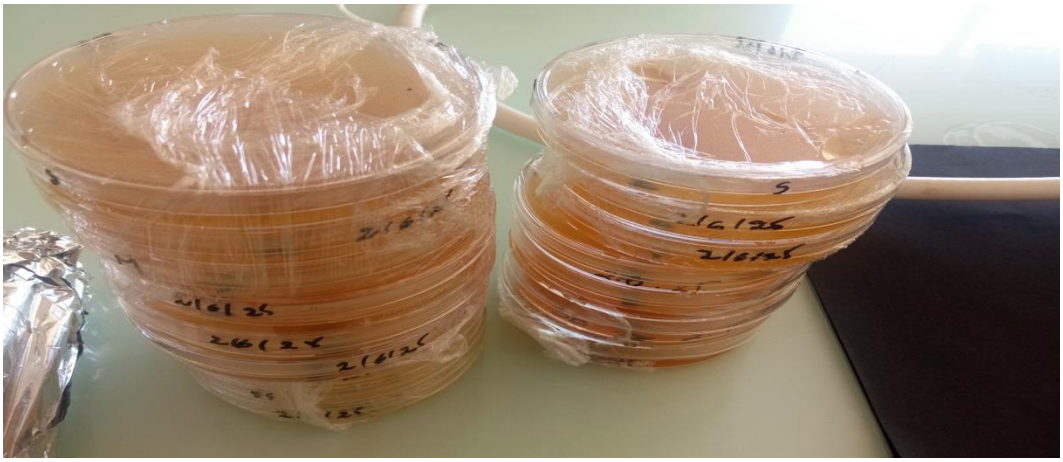


Figure 27:Les boites pétri après incubation à 37°C

- **Lecture :** L'évaluation de l'activité antibactérienne se fait par la mesure de diamètre de zone d'inhibition autour de chaque disque en mm .
  - Une large zone d'inhibition indique une forte activité antibactérienne.
  - Une petite ou aucune zone d'inhibition indique une faible ou aucune activité antibactérienne.
  - Inférieur à 6 : la souche est résistante.
  - Entre 6-8 : la souche est sensible +
  - Entre 8-14 : la souche sensible++
  - supérieure à 14 :la souche est hautement sensible +++

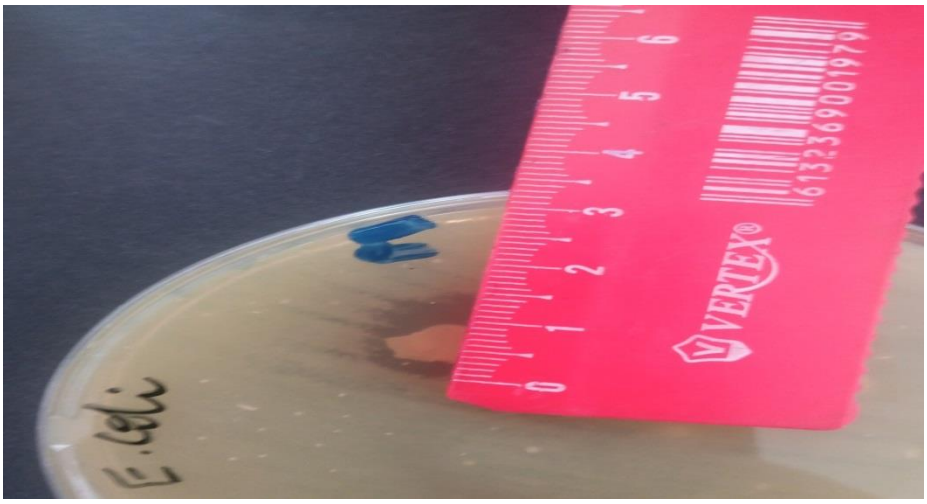


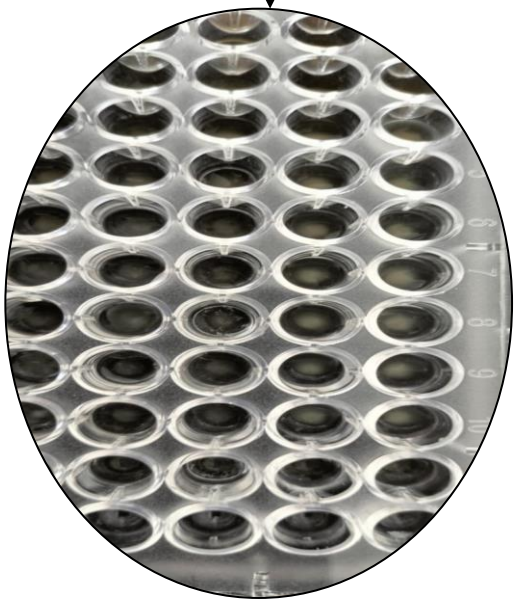
Figure 28: Mesurer le diamètre des zones d'inhibition

Figure 29: Microplaque après incubation test de la CMI

Etude du l'activité antibactérienne

Mesure de la CMI

Méthode de diffusion sur milieu gélosé



Détermination des concentrations minimale inhibitrice (CMI) pour les extraits de *L. nobilis.*

L'évaluation de l'activité bactériostatique

Figure 30 : Etude du l'activité antibactérienne

Troisième partie

Résultats et discussion

Résultats et discussion.

1. Propriétés des extraits phénoliques :

Les propriétés organoleptiques des extraits phénoliques :

Les extraits phénoliques de *Laurus nobilis* sont obtenus par la méthode d'extraction solide-liquide.

Tableau 06 : Caractéristiques organoleptiques des extraits phénoliques

La plante	Aspect	Couleur	Odeur
*Laurus nobilis*mature	visqueux	Vertpale	Moins prononcé, caractéristique d'herbe
*Laurus nobilis*jeune	visqueux	Vert vif	Prononcé, caractéristique d'herbe

2. Le rendement de l'extraction

Les rendements des extraits en fractions organiquesvarient de **21%** à **29%** pour les stadesmature et juvénilerespectivement.

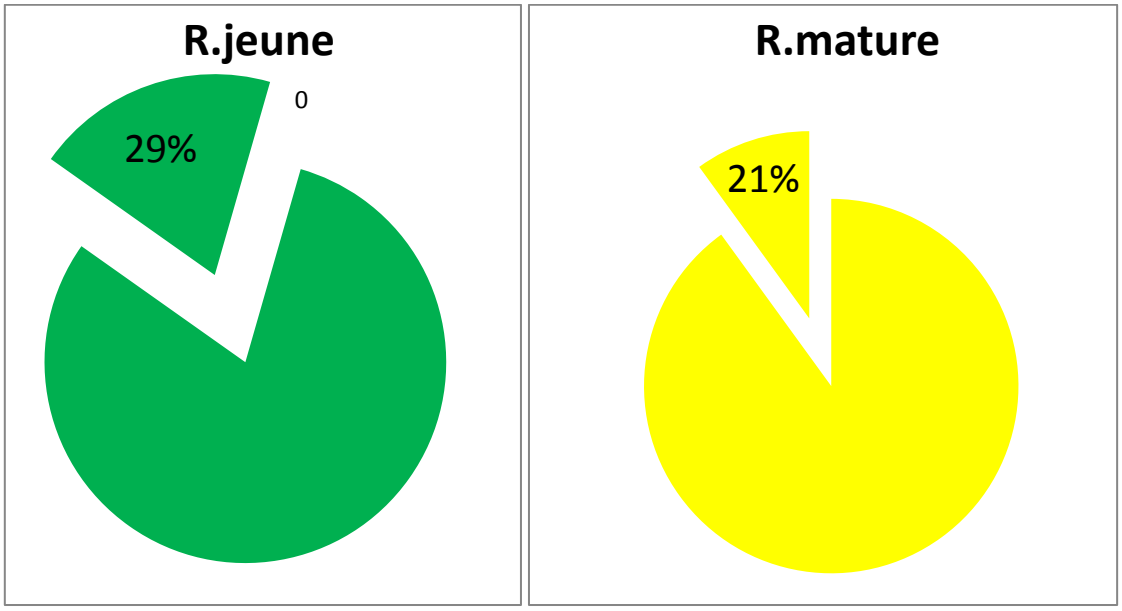


Figure 31: Rendement d'extraction des feuilles de *Laurus nobilis* L

Dans notre étude, on a remarqué que le rendement d'extraction par macération de *L. nobilis* stade mature est inférieur à celui du *L. nobilis* stade jeune.

On peut dire que le méthanol est sans doute un bon solvant, le méthanol peut dissoudre une large gamme de substances organiques et inorganiques, les rendements peuvent être influencés par plusieurs paramètres et dépendent entre autres de la qualité de la matière végétale. La variété de la plante, son stade de croissance, et ses conditions de culture qui peuvent toutes influencer le rendement de l'extraction. Mêmes les conditions d'extraction citant ; la température, le temps d'extraction et les conditions de mélange peuvent également jouer un rôle dans le rendement de la macération des extraits **(Temmimi et Nahoui, et *al* ., 2021).**

La bonne solubilité a été détecté dans le méthanol, puisque la polarité des solvants utilisésest influencée par la solubilité différentielle des différents composés phénoliques et d'autres métabolite secondaires contenus dans l'extrait méthanolique et ses fractions**(Ghazghazia et *al*., 2013).**

Le résultat de rendement d'extraction trouvé à partir de cette méthode d'extraction des feuilles de *Laurus nobilis* avec le méthanol est supérieur à celui déterminé par (**Ayman et *al*.,2019)** qui ont révélé que le rendement par une macération en (80%) de méthanol est égal à (15,49%), et inférieur par rapport aux résultats de l'étude de(**Humaira et *al*., 2019)**,(52% MeOH) de rendement.

Selon (**Michel et *al* .(2012),** le rendement d'extraction dépend principalement de la nature du solvant utilisé pour l'extraction et des propriétés chimiques des molécules à extraire. De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique de l'extrait préparé **(Tefiani et *al* .,2015).**

Cette différence peut s'expliquer par une teneur plus élevée en composées hydrosolubles dans les jeunes feuilles,ou encore par une perméabilité cellulaire plus importante,facilitant l'extraction des métabolites secondaires.

3_Dosage des Composés Phénolique :

A. Teneur des Polyphénols totaux dans les extraits des feuilles de *Laurus nobilis* L.

L'étude quantitative des extraits bruts, préparés à partir des feuilles de*Laurus nobilis*, par le moyen des dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneurdes polyphénols totaux.La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effetspharmacologiques des plantes leur sont attribués.

La mise en évidence des polyphénols dans les extraits méthanoliques de la plante *Laurusnobilis*étudié a révélé que cette espèce est très riche en polyphénoles surtout en stade juvénile.

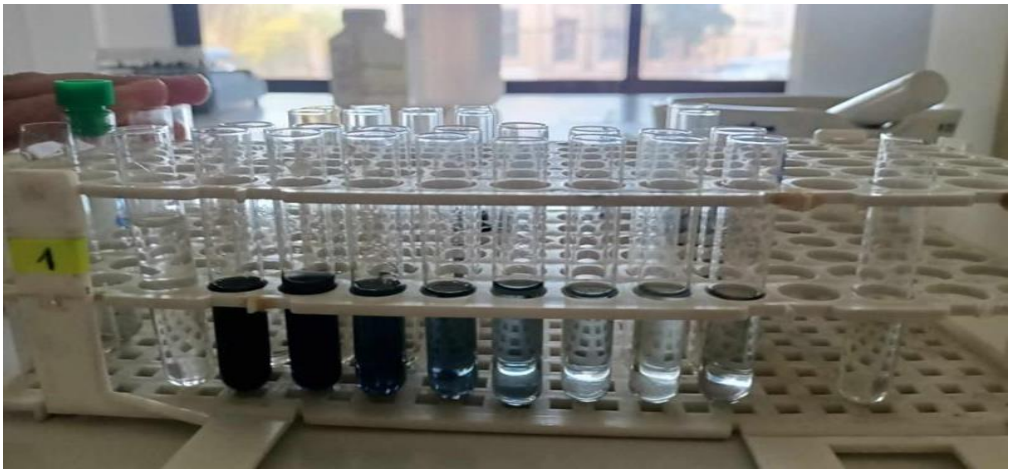


Figure 32 : Le criblage des polyphénols totaux chez l'espèce *Laurus nobilis* L.

La teneur en polyphénols totaux de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage linéaire (y = ax+b) (Figure 33) et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) réalisée à différentes concentrations.

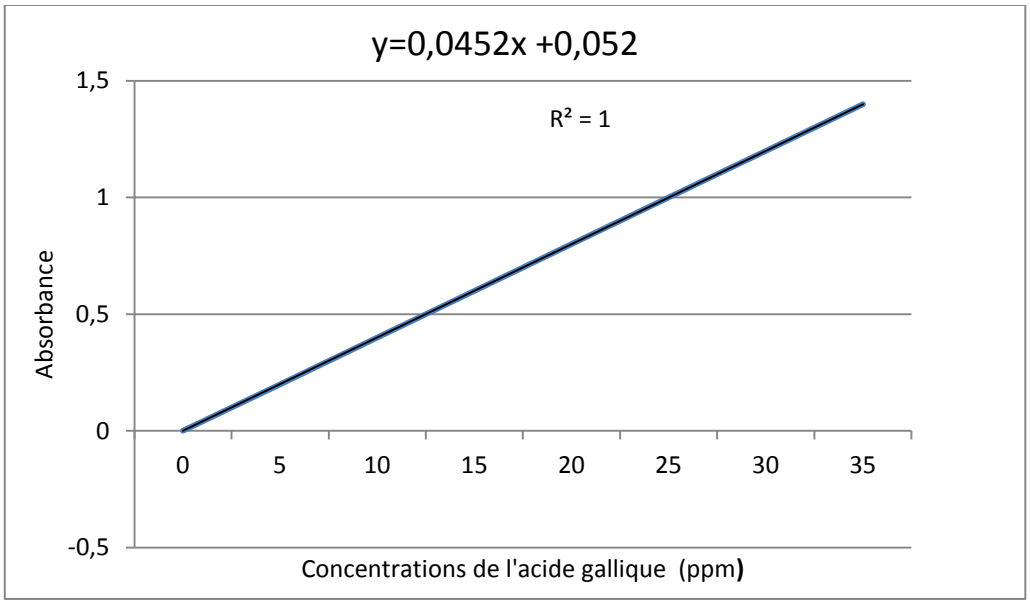


Figure 33 : Courbe étalon de l'acide gallique(λ= 725nm)

Tableau 07 : La Teneur des polyphénols totaux des extraits des feuilles de laurier matures et Jeûnes.

Feuilles de '*Laurus nobilis* L' matures (mg EAG/g)	Feuilles de '*Laurus nobilis* L' jeûnes (mg EAG/g)
204.955 ± 0.26	219.11 ± 0.17

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux des feuilles matures et jeunes de *Laurus nobilis* L sont représentés dans le tableau ci-dessus. On observe que les résultats obtenus montrent que les feuilles jeunes de *Laurus nobilis* L possèdent une teneur en polyphénols totaux égale à **(219.11 mg EAG/g)** est supérieure à celletrouvé chez les feuilles matures de la même plante qui possèdent une teneur en polyphénols totaux égale à **(204.955 mg EAG/g)** ce qui s'explique par la diminution du profil phénoliqueau cours de la maturation des végétaux.

D'une manière générale, l'estimation de la teneur des phénols totaux, indique que cette plante est riche en ces composés.

Nos résultats ont montré des valeurs relativement plus supérieures à ceux trouvé par (**DIAS et *al*., 2014)** qui ont trouvé un taux en polyphénols totaux de (55.38mg EAG/g).

Par rapport aux résultats obtenus, nos résultats sont relativement supérieures avec les résultats de(**Ameni, et al .,2018**)qui a obtenu une valeur de (14,37±0,79 mg EAG/g). Mais sont relativement similaires à ceux trouvés par(**Yakhlefet *al*, 2010)** qui ont obtenu des teneurs en polyphénols de l'extrait méthanolique de (166,81±8,69 mg EAG/g)

B_ Dosage des Flavonoïdes totaux dans l'extrait des feuilles de *Laurus nobilis* L.

Le dosage des flavonoïdes a été calculé à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire (y = ax+b) (Figure 35) et est réalisée avec des solutions étalons de la Quercétine à différentes concentrations (mg EQ /g).

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 430 nm, les résultats sont portés sur le (Tableau 08)

La mise en évidence des flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de la plante *Laurus nobilis* L. a révélé que cette espèce présente une faible teneur en flavonoïdes.

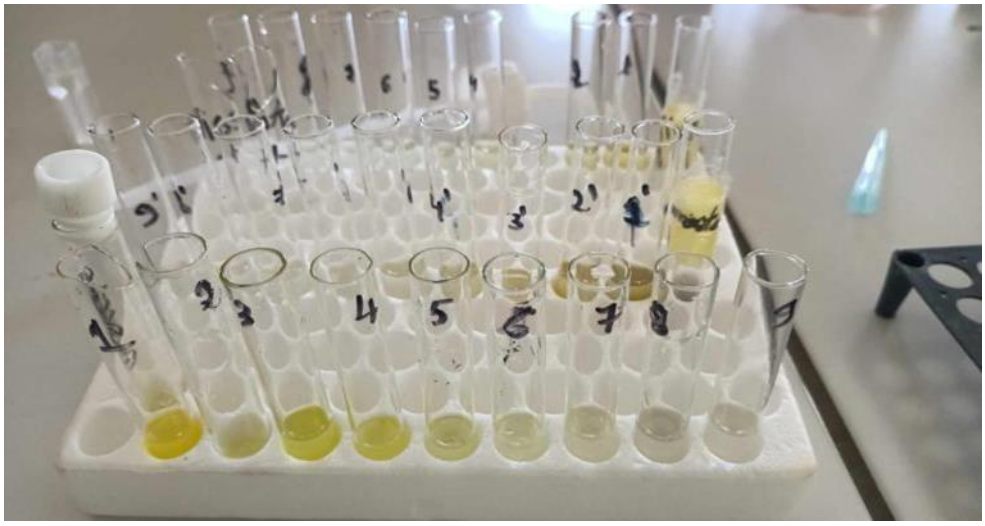


Figure 34: Dosage des flavonoïdes totaux chez l'espèce *Laurus nobilis* L

L'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimée en mg Eq. Quercétine par g d'extrait.

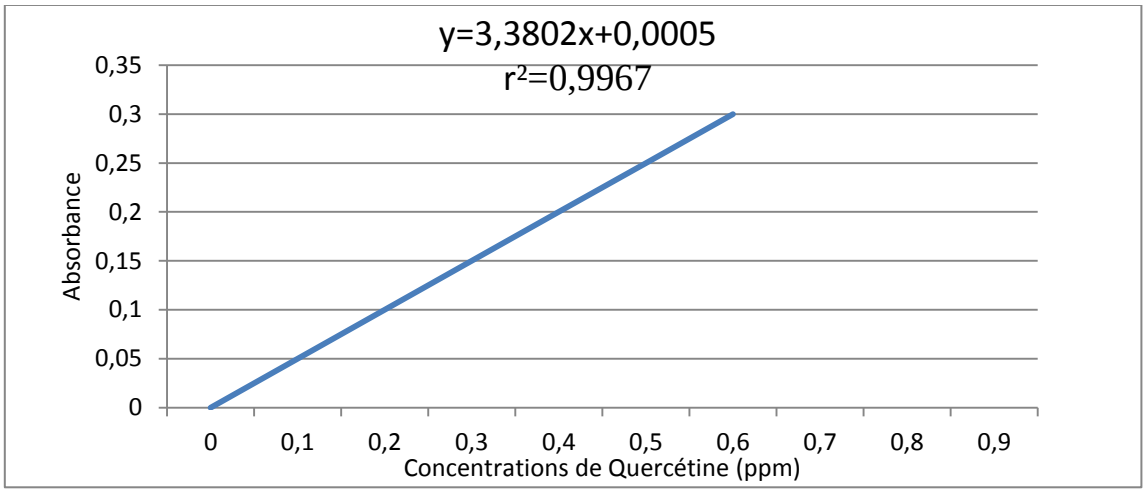


Figure 35 : Courbe étalon de Quercétine

Tableau 08. La teneur en flavonoïdes totaux dans les feuilles de *Laurus nobilis* L. matures et Jeûnes

Feuilles de '*Laurus nobilis* L' matures (mg EqQ/g)	Feuilles de '*Laurus nobilis* L' jeûnes (mg EqQ/g)
0.40 ± 0.001	0.42 ± 0.01

Suivant le tableau on remarque que les teneurs des flavonoïdes dans les deux extraitssont faibles proportionnées vont de **(0.40 mgEqQ/g)** à **(0.42 mgEqQ/g)**, la valeur la plus élevéea été détecté dans la stade juvénile (0.42 ± 0.01 mgEqQ/g). La quantité enregistrée avec lesdeux extraits sont presque similaire dans les deux stades mature et juvénile.

L'étude réalisée par(**Yakhlef et *al* ., 2010)** sur les feuilles de la même espèce a trouvé une teneur importante en flavonoïde pour l'extrait méthanolique (4,75±0,03 mg EQ/g d'extraits) par rapport à nos extraits.

Ces teneurs en flavonoïdes sont responsables des multiples propriétés analgésiques, antifongique, antioxydant, antibactérienne et hémostatique de laurier (**Kabran et *al*., 2012)**

A partir de nos données, nous avons observé des teneurs faibles en flavonoïdes dans les deux extraits. Les résultats des travaux de (**Taroq et *al*.(2018)** sur l'extrait méthanoliques des feuilles de laurier récoltées en avril 2014 au Maroc sont supérieurs par rapport à nos résultats ,avec une teneur des flavonoïdes de 101.45±1.48 rutine mg/g.

L'étude faite par(**Aala et *al*. (2022)** montre que la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux des feuilles de *L. nobilis* est de 151.26 mg catéchine/g extrait. La différence dans les résultats peut être due à la nature des solvants utilisés.

(Fanit et Hadij et *al*., 2020) ont réalisé des tests phyto chimiques sur *Laurus nobilis* et ils ont trouvé que la plante présente la même composition chimique tels que les tanins, les flavonoïdes, les terpènes, les alcaloïdes, les saponines, les anthocyanes et les dérives les anthracéniques. La présence des composés chimiques signifie la présence d'une activité biologique intéressante (activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante…).

4-Evaluation de l'activité antimicrobienne

A. Méthode de diffusion sur milieu gélosé

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques de *Laurus nobilis* par la méthode des disques de diffusion en milieu MH.

L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits testés vis-vis de 04 souches bactériennes (*E .coli, pseudomonas aeruginosa, Entérocoques, mésophiles*). Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 09.

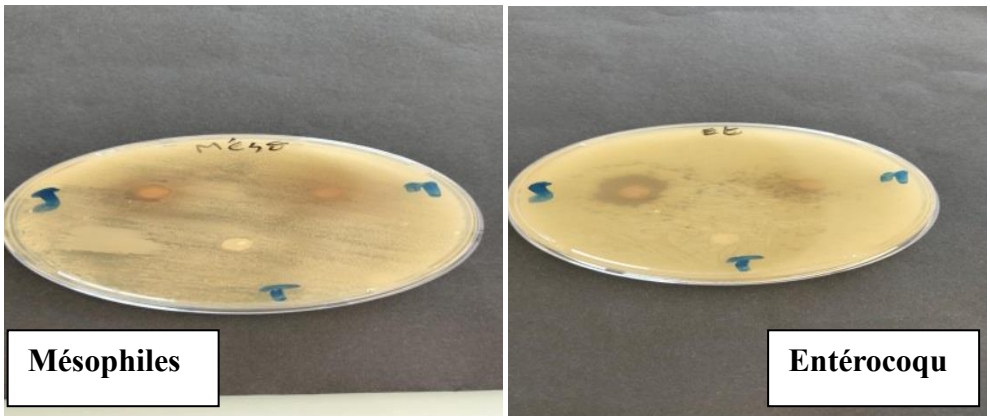


Figure 36: Les zones d'inhibitions des extraits testés vis-à-vis les mésophiles et les Entérocoques

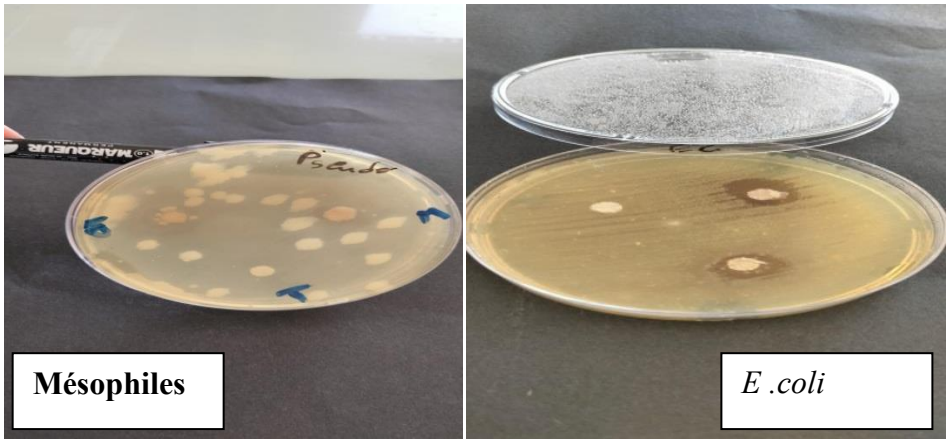


Figure 37: Les zones d'inhibitions des extraits testés vis-à-vis *pseudomona aeruginosa et E .coli*

Tableau 09: Diamètre des zones d'inhibition (mm) illustrant l'activité antibactérienne d'extrait phénolique

Souche bactérienne	Stade jeune	Sensibilité	Stade mature	Sensibilité
E .coli	13±0,33	R	11±00	R
Pseudomonas aeruginosa	14±0,66	S+	12±0,66	R
Entérocoques	15±0,66	S++	12±0,33	R
Mésophiles	17±0 ,66	S+++	11±00	R

R = résistances ; S = sensible ++ ; H = haut sensible +++.

* Pour les résultats du test négatif (DMSO), le diamètre de la zone d'inhibition est 00.00 mm.

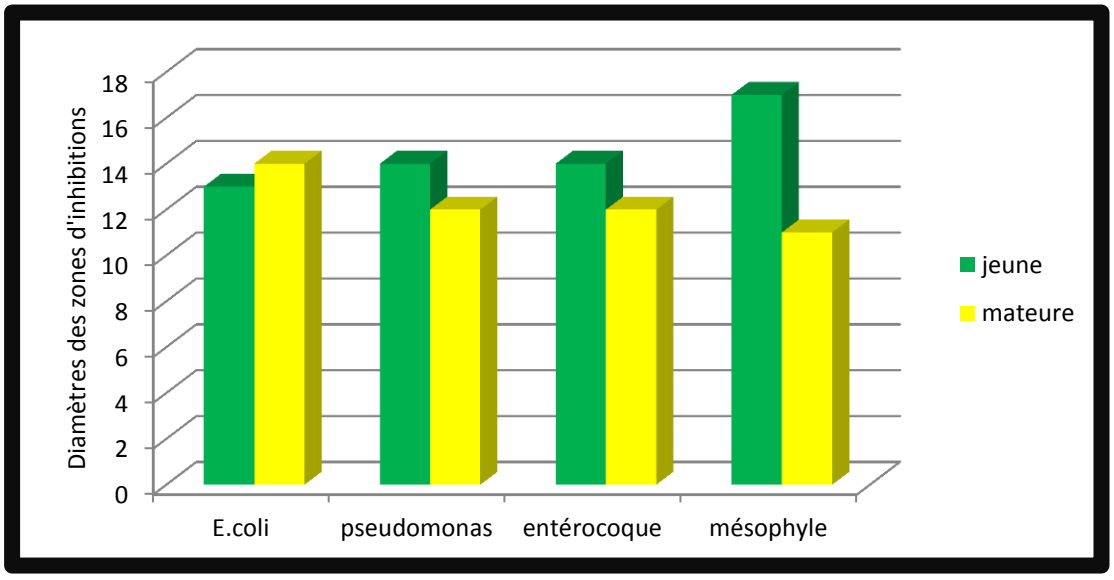


Figure 38:Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques des feuilles de *Laurus nobilis*

D'après les résultats obtenus, l'extrait phénolique de *Laurus nobilis* présente un effet inhibiteur. Les extraits phénoliques des feuilles exercent un effet inhibiteur sur les bactéries pathogènes d'une manière différente selon le stade de la récolte.

Laurus nobilis a montré un effet inhibiteur significatif contre certaines souches bactériennes. En particulier, celles observées chez les souches les plus sensibles sont les mésophiles et les entérocoques avec des diamètres de **(17±0,66 mm)** et **(15±0,66 mm)** respectivement et que la souche la plus résistante est *E. Coli* avec un diamètre de **(13±0,33 mm)** suivis de *pseudomonas aeruginosa* **(14±0,66 mm)**chez le stade juvénile. Tandis que les souches ont marqués une résistance modéré vis-à-vis l'extrait phénolique du stade mature avec des diamètres allant de **(11±00 mm)** à **(12±0,66 mm)**.

On remarque de larges écarts dans les diamètres des zones d'inhibitions obtenues, les résultats montrent une grande variabilité des qualités bactériostatiques de l'extrait phénolique de *L. nobilis* vis-à-vis des différentes souches. L'extrait est jugée remarquablement actif contre les souches .L'efficacité varie selon le stade de croissance, le stade mature est moins efficace contre les cultures bactériennes, indiquant une influence notable de l'âge végétatif sur l'efficacité de l'extrait et témoigne que le potentiel bactériostatique est différentiel selon le type de bactérie ou microbe et l'âge de la plante.

L'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé est en partie dépendante de la méthode d'extraction, les conditions de séchage, le contenu en métabolites et la nature du solvant utilisé, la concentration d'extraits et la souche bactérienne étudiée (**Burnichon et Texier, 2003 ; Toty et *al*., 2013).**Parmi ces facteurs, on note notamment :Le stade physiologique de la souche bactérienne ,La nature et la concentration de l'extrait utilisé, Les conditions de préparation de l'extrait et la méthode d'application.

Selon L'étude de (**Rahel hanene , Bendib fairouz et *al*., 2023)**l'activité d'extrait méthanolique de *Laurus nobilis*, On remarque delarges écarts dans les diamètres des zones d'inhibitions obtenues, allant de 10 à 12 mm les résultats montrent une grande variabilité des qualités bactériostatiques.

Selon (**TOUMIA et *al.* ., 2020)**, l'étude de l'activité de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* collecté à Skikda Ont été remarqué active contre les souches à gram négative *Escherichia coli*, et à gram positif *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition, respectivement de (13,73 et 12,13 ; 14,50 et 13,03) mm et de concentration inhibitrice minimale, respectivement de (0,5 et 0,33 ; 0,26 et 0,66) mg/ml, Cela contredit les résultats que nous avons obtenus.

L'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé est en partie dépendante de la méthode d'extraction, les conditions de séchage, le contenu en métabolites et la nature du solvant utilisé, la concentration d'extraits et la souche bactérienne étudiée (**Burnichon et Texier, 2003 ; Toty et *al.* ., 2013)**

Ces observations sont en accord avec les travaux antérieurs (qui soulignent que la performance antibactérienne d'un extrait végétal dépend non seulement du végétal lui-même, mais aussi de l'ensemble du protocole expérimental appliqué.

B. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les valeurs des CMI des extraits testés sont présentées dans le tableau 10.

Tableu 10 : Concentration minimale inhibitrices (CMI) de l'extrait phénolique des feuilles de *Laurus nobilis* (µg /ml)

Souche bactérienne	CMI (*L. nobilis* Jeune)	CMI(*L. nobilis*Mature)
E .coli	**2.5**	**5**
Pseudomonas aeruginosa	**1.25**	**5**
Entérocoques	**0.75**	**2.5**
Mésophiles	**0.5**	**1.5**

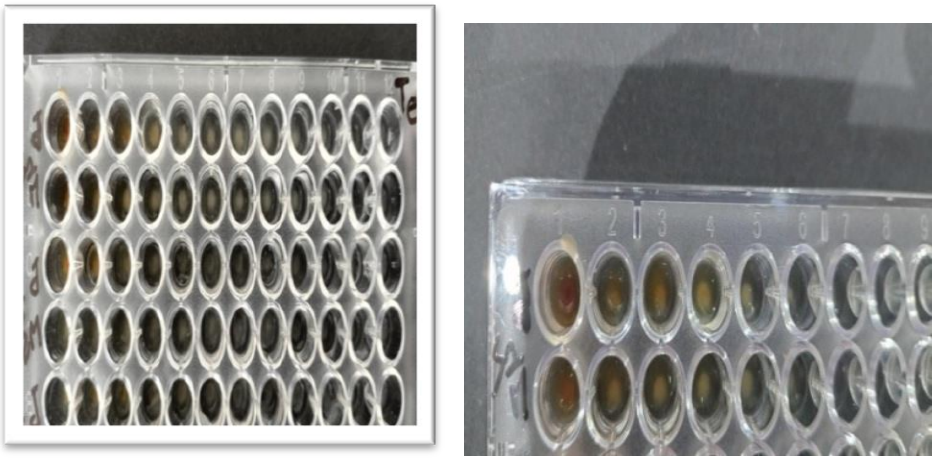


Figure 39: Test de la CMI

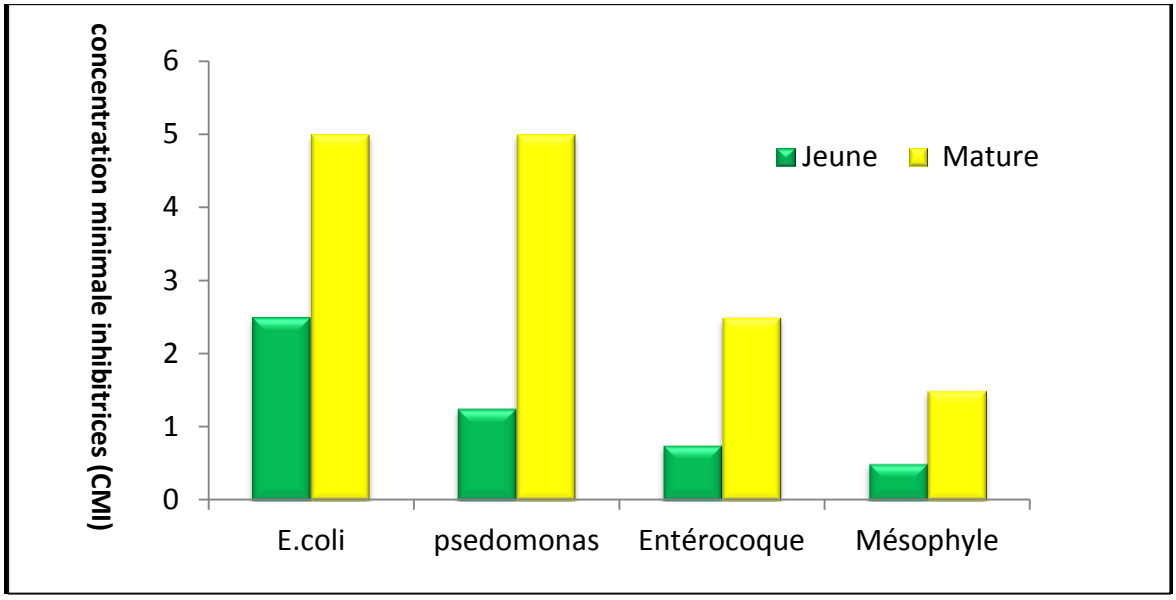


Figure 40: concentration minimale inhibitrices (CMI) de l'extrait phénolique des stades jeunes et matures de *Laurus nobilis*.

D'après les résultats obtenus, l'extrait phénolique issu des feuilles jeunes présentent une activité inhibitrice notable contre plusieurs souches bactériennes, à savoir : *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa*, Entérocoques et les bactéries Mésophiles. Cette activité est attestée par la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui se situe entre 0,5 µg/ml et 2.5 µg/ml selon la souche testée et le stade de la récolte, ce qui témoigne une efficacité significative.

En revanche, l'extrait obtenu à partir de feuilles matures montre une activité plus faible, voire dans la majorité des cas, indiquant une certaine résistance bactérienne, notamment contre les mêmes souches. La souche *E. coli*s emble légèrement affectée par cet extrait, mais à une concentration plus élevée, atteignant 5 µg/ml, ce qui dénote une réduction marquée de l'activité antimicrobienne. Seule les souches pathogènes Entérocoques et les bactéries Mésophiles semblent affectées par des concentrations minimales respectivement de 1.5, 2.5 µg/ml.

Les résultats mettent en évidence une corrélation inverse entre l'âge des feuilles et leur efficacité antibactérienne. Plus précisément :

- Les feuilles jeunes (J) présentent des valeurs de CMI très faibles, indiquant une activité antibactérienne plus forte.
- Les feuilles matures (M) sont associées à des valeurs de CMI plus élevées, reflétant une activité nettement réduite.

Cette différence est particulièrement notable chez la souche *E. coli*, pour laquelle la sensibilité de la bactérie diminue d'environ cinq fois lorsque l'on passe de l'extrait de feuilles jeunes à celui de feuilles matures. Cela suggère que les composés bioactifs responsables de l'effet antimicrobien sont présents en plus grande concentration ou plus biodisponibles dans les feuilles jeunes, ou bien que leur structure chimique se dégrade avec la maturation de la plante.Cette activité pourrait êtreliée à sa richesse en polyphénols particulièrement les tanins galliques qui possèdent une activité antibactérienne très important

Les valeurs de CMI qui ont été déterminées dans une étude réalisée par (**Luciano-Montalvo et *al.* (2013)**)pour une panoplie d'autres plantes qui ont montré une activité inhibitrice sont: *G. barbadense* (le cotonnier) contre *S. aureus* et *S. saprophyticus* (0.5 µg/ml, 0.75 µg/ml), avec *T. ananassae* (plante vivace appelée Rose de Malaisie) (0.5, 0.5, 0.015 et 2.0 µg/ml) contre *P. aeruginosa, P. vulgaris, S. aureus* et *S. saprophyticus* respectivement, avec *P. calomelanos* (Fougère) (2.0 µg/ml) contre *P. aeruginosa.*

En général, dans la plupart des études, les extraits de plantes ont montré que les souches à Gram positif sont considérées comme plus sensibles aux agents antibactériens par rapport aux

souches à Gram négatif en raison de différences dans la structure de la paroi cellulaire **(Ahmed et Beg et *al* .,2001).**

Les souches Gram négatif possèdent une membrane phospholipidique externe portant les composants structurels du lipopolysaccharide. Ainsi, cela rend la paroi cellulaire imperméable aux substances chimiques antibactériennes. Par rapport à la souche Gram positive, la membrane contient une couche externe de peptidoglycane qui n'est pas une barrière de perméabilité effective. L'efficacité antibactérienne d'un composé phénolique dépend de ses propriétés physico-chimiques et de l'hétérogénéité desa structure **(Basli et *al*., 2012).**

★ **Relation entre les différents résultats**

Il existe une relation logique et cohérente entre les différents résultats

→ Un meilleur rendement d'extraction ; une perméabilité cellulaire plus élevée, permettant une meilleure libération des composées bioactifspolyphénols etflavonoïdes.

↓

Une activité antibactérienne plus élevée avec zones d'inhibitions plus large et CMI plus faibles.

Conclusion et perspectives

L'étude menée sur les extraits phénoliques des feuilles de Laurier, dans le but d'évaluer leur activité antibactérienne, a permis de mettre en évidence un certain nombre de résultats significatifs, aussi bien sur le plan expérimental que sur le plan scientifique et applicatif. Grâce à l'approche combinée de techniques classiques à savoir la méthode de disques de diffusion de sur milieu gélosé, nous avons pu constater une différenciation marquée de l'activité antibactérienne en fonction du stade de développement foliaire.

Les données recueillies ont montré que les feuilles jeunes présentent non seulement un rendement d'extraction plus élevé (environ 29 %) comparé aux feuilles matures (21 %), mais également une efficacité antimicrobienne nettement supérieure. Cette supériorité s'est manifestée par des valeurs plus faibles de la concentration minimale inhibitrice (CMI), traduisant une action inhibitrice plus puissante contre plusieurs souches bactériennes pathogènes. Parmi les micro-organismes ciblés, on peut citer *Escherichia coli*, *Pseudomonasaeruginosa, Enterococcus spp*. ainsi que les bactéries mésophiles, toutes connues pour leur rôle dans diverses infections humaines.

Cette efficacité antibactérienne accrue des extraits de feuilles jeunes pourrait s'expliquer par une teneur plus importante en métabolites secondaires bioactifs, tels que les flavonoïdes, les composés phénoliques, les tanins, ainsi que certaines huiles essentielles volatiles (e.g. 1,8-cinéole, eugénol, linalol). Ces molécules, reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes, tendent à se concentrer davantage au cours des premiers stades de développement de la plante, puis à décroître au fur et à mesure de sa maturation, ce qui justifie la moindre efficacité des extraits obtenus à partir de feuilles matures.

En revanche, les extraits issus des feuilles matures ont affiché une activité antibactérienne plus modeste, voire nulle dans certains cas, ce qui met en lumière l'importance cruciale du choix du stade de récolte pour une éventuelle valorisation pharmacologique. Ces observations viennent appuyer l'hypothèse selon laquelle le potentiel thérapeutique des plantes médicinales n'est pas uniquement déterminé par l'espèce elle-même, mais aussi et surtout par des facteurs dynamiques tels que le stade phénologique, les conditions environnementales, ou encore le mode et le solvant d'extraction.

Les résultats obtenus dans cette recherche revêtent ainsi une double importance : d'une part, ils confirment scientifiquement l'usage traditionnel du Laurier noble comme plante

médicinale à activité antibactérienne ; d'autre part, ils ouvrent des perspectives nouvelles en matière de phytothérapie et de développement de produits antimicrobiens naturels, susceptibles de renforcer ou de remplacer les antibiotiques de synthèse, de plus en plus inefficaces face à la résistance bactérienne croissante.

Dans un contexte mondial alarmant, où l'antibiorésistance est considérée comme une menace majeure pour la santé publique, les plantes médicinales comme le *Laurus nobilis* apparaissent comme une source précieuse, durable et renouvelable de principes actifs. L'intégration de telles ressources naturelles dans la recherche pharmaceutique pourrait contribuer à la conception de nouveaux traitements à la fois efficaces, accessibles et respectueux de l'environnement.

Enfin, cette étude contribue également à la valorisation des ressources végétales locales, en mettant en lumière le potentiel thérapeutique d'une espèce largement disponible dans la région de Relizane , et souvent sous-estimée. Elle plaide pour une exploitation raisonnée et scientifiquement encadrée du patrimoine végétal algérien, dans le but de développer des solutions de santé innovantes, tout en préservant la biodiversité.

En perspective, il serait pertinent, à l'avenir, de poursuivre les investigations en élargissant l'étude à d'autres méthodes d'extraction (hydro alcoolique, supercritique, etc.), à d'autres parties de la plante (fleurs, racines), ainsi qu'à des tests in vivo ou cliniques pour confirmer les résultats in vitro obtenus. De plus, l'identification et la quantification précise les métabolites responsables de l'activité observée permettraient d'envisager des formulations standardisées à visée thérapeutique.

Ainsi, le Laurier noble, et plus particulièrement ses jeunes feuilles, s'impose comme un candidat de choix dans la recherche de molécules antimicrobiennes naturelles, combinant efficacité, faible toxicité et accessibilité, dans une perspective de santé intégrative et durable.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- **-A-**

- Abdoulaye, M. M. (**2023).** *Synthèse et étude d'activités antidiabétiques d'hétérocycles azotés dérivés de l'aniline et de l'acide cinnamique : Screening phytochimique de Dicliptera verticillata* [Thèse de doctorat].
- Aggoun, C., Bentafer, I., & Larkeche, O. **(2021).** Étude expérimentale de l'effet des prétraitements de la matière végétale sur l'extraction par CO_2 supercritique et hydrodistillation.
- Azouaou, K., Touazi, K., Ayadi, B., & Seddaoui, A. **(2020).** Contribution à l'étude de la phytothérapie traditionnelle dans la région de Tizi-Ouzou et à l'étude d'*Asphodelus tenuifolius* Cav.
- Ahmad L, Beg AZ. **(2001).** Antibacterial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. J. Ethnopharmacol. 74: **113-123.**

- **_B_**

- Ballabio, R., & Goetz, P. (**2010).** Huile de graine/fruit de laurier. *Phytothérapie*, 8(2), **141-144.**
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. **(2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. 3(4), **1653-1659**
- Bousta D. et Ennabili A. (**2011).** L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. Phytothérapie, 9, **297–303.**
- Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G., & Kingston, D. G. I. (**2007**). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. *Food Chemistry*, 104(4**), 1478-1484.**
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (**2009)**. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press.
- Billerbeck V. G, Roques C, Vanière P, Marquier P. **(2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. J. Hyg. 3**: 248-251.**

Références Bibliographiques

- BELGUIDOUMMahdi. (**2018)** Étude de métabolites secondaires et quelques activités deplantes algériennes de la famille Zygophyllaceae (thèse doctorat) p **:52**
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (**2010)**. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications* (2e éd.). CRC Press.
- Batista, D., Falé, P. L., Serralheiro, M. L., et al. (**2015)**. New in vitro studies on the bioprofile of *Genista tenera* antihyperglycemic extract. *Natural Products and Bioprospecting*, 5(6), **277–285.**
- Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S, Tümen G., Kingston D.G.I. **(2007).** Identification of cytotoxic sesquiterpenes from Laurus nobilis L. Food chemistry, 104(4): **1478-1484.**
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (**1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, **493–496**.
- Basli A, Chibane M, Madani K, Oukil N. **(2012**). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: Origanum glandulosum Desf. Phytothér. 10: **2-9**

- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (**2019**). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Journal des Sciences*, 3(4), 1653–**1659.**
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., et al. **(2017**). Phytothérapie et usage médicinal des plantes au Maroc.
- Billerbeck V. G, Roques C, Vanière P, Marquier P. **(2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. J. Hyg. 3**: 248-251.**

- **_C_**

- Chmit, M., Kanaan, H., Habib, J., Abbass, M., Mcheik, A., et Chokr, A. (**2014).**Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extractedfrom Laurus nobilis growing in Lebanon. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 7, **S546-S552**.

Références Bibliographiques

- Chabrier J.Y. **(2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.Thèse de doctorat, Université Henri Poincare-Nancy 1, **165 p.**
- Chabrier, J. Y. (**2010)**. *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* [Thèsededoctorat,UniversitéHenriPoincaré–Nancy1]
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M100–S18**. (2008).** Performance
- standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth Informational Supplement Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne.

- **-D-**

- Debuigne, G., et Cauplan, F**. (2013).** Le Petit Larousse des plantes qui guérissent: 500plantes et leurs remèdes. Ed. Larousse, Paris, **1032 p**
- Demir V., Gunhan T., Yagcioglu A K., & Degirmencioglu A., **2004.** Mathematical modelling and the determination of some quality parameters of air -dried bay leaves. Biosystems engineering, 88 : p. **325-335.**
- De Sales, P.M., Souza, P.M., Simeoni, L.A, Magalhães P.D., Silveira, D **(2012).** α-Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. JPharm Pharmaceut Sci, 15(1**) 141 – 183.**
- Dessouroux, A., Seyrig, C., et Leclerc, C. (**2011).** Point sur la qualité des extraits fluides glycérinés de plantes fraîches standardisés (EPS) et leur intérêt pharmacologique. Phytothérapie, 9(4), **249-254.**

- -**E**-

- El-Tarabily, K.A., El-Saadony, M.T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G.E., Khafaga,A.F., Elwan, H.A.M., Elnesr, S.S et El-Hack, M.E. **(2021**). Using essential oils to overcomebacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. Saudi Journal of BiologicalSciences. 28 (9**), 5145-5156**

- -**G-**

- Ghazghazia, H., Chediab, A., Abderrazakb, M., & Brahima, H**. (2013).** Comparaison des contenus en polyphénols et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre plantes collectées du nord de la Tunisie. *Microbiol Hyg Alim*, **25(73), 37–41.**

Références Bibliographiques

- Günther, E., et Chatelain, C. (**2017)**. Extraction of natural products using near-critical solvents. In Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice (pp. **123-145**). WileyVCH.
- Gupta R.K, Nand P, Drabu S. (**2012).** In vitro antibacterial and antioxidant potential of medicinal plants used in the treatment of acne. Int. J. Pharm. Sci. 4: **185-190.**
- Goldenberg R, Punthakee Z**. 2013**. Définition, classification et diagnostic du diabéte, duprédiabéte et du syndrome métabolique. Canadian diabétes association. 37 **S369-S372.**
- Ghedira, K. (**2005)**. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), **162–169.**

- -**H**-

- Han, Y. (**2010).** Mise au point d'un essai de caractérisation environnementale sur matériau monolithique par percolation ascendante (Doctoral dissertation, Ecole Centrale deLille).

- -**K**-

- Kidane, Y., Bokrezion, T., Mebrahtu, J., Mehari, Gebreab, Y.B., Fesseways, N., Achila,O.O. **(2018).** In Vitro Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Extracts fromPsiadiapunctulata and Meriandrabengalensis. Evidence-Based Complementary andAlternative Medicine, **p1 -9.**
- Kemassi, A., Darem, S., Cherif, R., Boual, Z., Sadine, S. E., Aggoune, M. S., ... et Ould El Hadj, M. D. **(2014**). Recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractèrehypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab(Sahara septentrional Est Algérien). Journal of advanced research in science andtechnology, 1(1**), 1-5.**
- Khan, M., Alam, A., Khan, K.M., Salar, U., Chigurupati, S., Wadood, A., Ali, F.,Mohammad, J.I., Riaz, M., et Perveen, S. **(2018).** Flurbiprofen derivatives as novel α-amylase inhibitors: Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation.

Références Bibliographiques

- -**M**-

- Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. **(2006).** *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR Presses Polytechniques.
- Mueller, J. H., & Hinton, J. (**1941).** *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 48, **330–333**.
- MOUSAVI Matha. (**2019)** isolement de métabolites secondaires et caractérisation decomposés bioactives issus de matrices végétales (Thèse doctorat) p :**29-31**
- Muther, L. **(2015).** Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Faculté de pharmacie de Clermont Ferrand, **p122.**

- **_N_**

- Nogaret, A. S. (**2011**). La phytothérapie: Se soigner par les plantes. Editions Eyrolles.
- **N**CCLS. (**1984**). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests* (M2-A3, 3rd ed.). National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- NF EN ISO 10272-1. **(2006).** Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter spp.*
- NF U47-106. (**2004).** Méthodes d'analyse en santé animale. Détermination in vitro de la sensibilité des bactéries aux anti-infectieux par la méthode de dilution en milieu gélosé .
- Ndip R.N, Tarkang A.E.M, Mbullah S.M, Luma H.N, Malongue A, Ndip L.M, Nyongbela K, Wirmum C, Efange S.M.N. **(2007**). In vitro anti-Helicobacter pylori activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon. J. Ethinopharmacol,114: **452-457.**

-L-

- Luciano-Montalvo Claribel, Isabelle Boulogne and Jannette Gavillán-Suárez (**2013).** A screening for antimicrobial activities of Caribbean herbal remedies. Complement. Altern. Med. 13:**126, 2-9.**

Références Bibliographiques

- **-O-**

- Ouedraogo, S., Yoda, J., Traore, T. K., Nitiema, M., Sombie, B. C., Diawara, H. Z., et Semde, R. **(2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à basedeplantes médicinales. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 15(2**), 750-772.**

- **-P-**

- Peddio, S., Padiglia, A., Cannea, F. B., Crnjar, R., Zam, W., Sharifi-Rad, J. et Zucca,P. **(2022).** Common bean (Phaseolus vulgaris L.) α-amylase inhibitors as safe nutraceuticalstrategy against diabetes and obesity: An update review. Phytotherapy Research, 36(7), **2803-2823.**

- **-R-**

- Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Parniakov, O., Galanakis, C. M., Lebovka, N., Grimi, N., et Vorobiev, E. **(2015).** High voltage electrical discharges, pulsed electric field, and ultrasoundassisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel. Food and BioprocessTechnology, 8, **885-894**.

- **-S-**

- Szwajgier, D., et Borowiec, K. **(2012).** Phenolic acids from malt are efficientacetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. Journal of the Institute of Brewing**,118(1**), **40–48**
- Saadabi A.M.A, Moglad E.H. (**2011)**. Experimental Evaluation of Certain Sudanese Plants used in Folkloric Medicine for Their Antibacterial Activity (In- Vitro Tests). J. Appl. Sci. Res. 7**: 253-256.**
- Skandamis P., Koutsoumanis K., Fasseas K., Nychas G.J.E**. (2001).** Inhibition of oregano essential oil and EDTA on Escherichia coli O157: H7. Ital. J. Food Sci. **13: 65–75.**

- **-T-**

- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. **(2005).** *Plantes médicinales : dictionnaire de phytothérapie et de pharmacognosie*.

- **-Y-**

- Yakhlef, G. **(2010).** *Étude de l'activité biologique des extraits de feuilles de Thymus vulgaris L. et Laurus nobilis L* [Mémoire de master, Université de Batna 2].

- **Sites web consultés**
- https://www.aujardin.info/fiches/macerations.php
- https://www.educalcool.qc.ca/informer/sante-bien-etre/effets-corps-particularitesindividuelles/alcool-et-le-corps-humain/
- https://www.gammvert.fr/conseils-idees/decoction
- https://www.velp.com/fr-ww/ser-148-extracteur-semi-automatique-de-solvants.asp
- https://alvareznursery.com/product/laurus-nobilis/
- https://monde-vegetal.fr/blogs/blog/lauracees
- https://www.boutique-vegetale.com
- https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-38070-synthese
- https://www.atamanchemicals.com/
- https://www.tuasaude.com/
- https://www.aroma-zone.com (consulté le 28/01/2025)

Annexe

préparation de milieu de culture gélose et bouillon

Egalement nommé :GELOSE M-H

Principe :milieu recommande, utilisé pour effectuer des testes des sensibilité aux aantibiotiques et aux sulfamides avec des microorganismes pathogéne provenan dévhantillons cliniques,selon la méthodoloqie kiby-bauer et Ericsson.

Les composants :pour 1litre de milieu :

- hydrolysat acide de caséine ……..17 ,5g
- Extrait de viande …….....2,0g
- Amidon soluble……1,5g
- Agar agar bactérioologique…….17g

PH du milieu prèt-à-l'emploi à 25C° :7,3=7,2

Ajuster et /ou comléter au besoin pour répondre aux critére de performance

- **Préparation :**

- Mettre en suspension 38,0 g de milieu déshydraté dans 1litre dé'eau distilée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébulition sous agitation canstate et l'y maintenir durant le temps néccesaire àsa dissolution compléte.
- Répartir en tubes ou en flacons .
- Stériliser à l'autooclave à 115C° pendant 15 minutes .
- Refroidir en maintenir le milieu à 44_45C° .
- Couler en boite de petri stériles et laiiser solidifier sur une surface froide.

BOUILLON DE MUELLER-HINTON :

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon de Mueller Hinton est utilisé comme milieu non sélectif pour la culture de très nombreux microorganismesde diverses origines, ainsi que pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices par la méthode en dilutions.

2 HISTORIQUE

Dans leurs travaux de mise au point d'un milieu capable de résister à l'autoclavage, Mueller et Hinton ont sélectionnéle milieu complexe de Gordon et Hine pour essayer d'en déterminer les composants essentiels. Les auteurs onttrouvé que l'amidon pouvait remplacer l'extrait de pois au niveau nutritif et aussi comme agent protecteur agissantcontre les substances toxiques présentes dans le milieu. Par la suite, ils trouvèrent que la peptone pancréatique deviande pouvait être remplacée par l'hydrolysat acide de caséine, favorisant ainsi la croissance des gonocoques et des méningocoques.

3 PRINCIPES

Le choix des ingrédients est déterminé de façon à obtenir une très faible quantité de thymine et de thymidine(substances connues pour inhiber l'activité antibactérienne du triméthoprime) ainsi qu'une très faible quantité d'acidepara-aminobenzoïque (PABA) et de ses analogues de structure qui sont des antagonistes de l'activité dessulfonamides.L'infusion de viande et l'hydrolysat acide de caséine sont des sources d'acides aminés et d'autres substancesazotées qui favorisent la croissance des microorganismes.L'amidon agit comme détoxifiant.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

Hydrolysat acide de caséine ..... 17,5 g

Infusion de viande ..... 2,0 g

Amidon ..... 1,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4 ± 0,2.

5 PREPARATION

 Mettre en solution 21,0 g de milieu déshydraté (BK108) dans 1 litre d'eau distillée Oudéminéralisée

 Agiter lentement, jusqu’à dissolution complète.

 Répartir en tubes ou en flacons.

 Stériliser à l’autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

 Refroidir à température ambiante.

6 MODE D’EMPLOI

Cultures en tubes :

 Inoculer le milieu avec des cultures purifiées ou bien avec d’autres types d’inoculum à microflore mixte.

 Incuber à la température optimale requise en aérobiose ou bien en jarre, suivant la nature des germes à cultiver.