

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie et hygiène hospitalière (MHH)

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Application et évaluation de quelques stratégies de lutte contre la résistance bactérienne ; activités antibactérienne et antibiofilm de l'extrait et de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Présenté par : MAHIMOUD Manel
KEMMOUCHE Nour Djihane

Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Président : Dr. ZITOUNI Hind MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Encadreur : Dr. CHERFIA Radia MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Examineur : Dr. YUCEF ALI Mounia MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Année universitaire
2022 – 2023

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie appliquée

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnel

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie et hygiène hospitalière (MHH)

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Application et évaluation de quelques stratégies de lutte contre la résistance bactérienne ; activités antibactérienne et antibiofilm de l'extrait et de l'huile essentielle de *Laurus nobilis*

Présenté par : MAHIMOUD Manel
KEMMOUCHE Nour Djihane

Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Président : Dr. ZITOUNI Hind MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Encadreur : Dr. CHERFIA Radia MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.
Examineur : Dr. YUCEF ALI Mounia MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Année universitaire
2022 – 2023

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute nos gratitude.

Nous voudrions tout d'abord adresser toutes nos reconnaissances à la directrice de ce mémoire, Dr. CHERFIA Radia, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

On tient à remercier les membres du jury :

Dr. ZITOUNI Hind pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Dr. YUCEF ALI Mounia qui a accepté d'évaluer ce travail et qui nous honorent de leur présence.

Nous tenons à témoigner toute nos gratitude à l'ingénieur de laboratoire de biologie végétale SARA pour sa confiance et son soutien inestimable

A tous les enseignants du département de biologie appliquée.

A tous les étudiants de Graduation « Master 2 LMD » Spécialité microbiologie et hygiène hospitalière 2022/ 2023.

Nos parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Dédicace

Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour et sincérité et fierté à ma famille qui ma doté d'une éducation digne son amour a fait à moi ce que je suis aujourd'hui

Particulièrement à mes chers parents,

Mon bonheur dans cette vie, Source de tendresse de noblesse et d'affection qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs

À mes frère, Walid et islam

Pour être là à mes côtés dans les bons moments comme dans les mauvais. Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études

À ma jolie sœur Omayma

Qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille

À mon cher binôme Manel

Pour sa sympathie et sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

Et à tout ma famille et mes amis adorés

Djihene

Dédicace

C'est un grand honneur pour moi de dédier ce petit ouvrage aux plus Cher monde, ce sont eux qui m'ont permis de poursuivre mes études dans les meilleures conditions qui m'a appris à ne jamais abandonner.

Mes chers parents ;

A mon cher père Hassen ;

C'est avec une profonde tristesse que je dédie ce mémoire à votre mémoire. Votre départ a laissé un vide immense dans nos vies. Malgré votre absence physique, votre esprit m'accompagne dans chaque étape de ma vie. Je sais que vous êtes fière de moi où que vous soyez. Je continuerai à poursuivre mes rêves avec la même détermination et le même amour que vous m'avez enseigné. Pour toujours dans mon cœur.

A ma chère mère Fatiha ;

Vous êtes un modèle de générosité et vous ne cessez jamais de m'encourager et prier pour moi. Que Dieu Tout Puissant vous bénisse et vous accorde Santé, longévité et bonheur. Il n'y a rien au monde qui vaille mon travail acharné jour et nuit pour mes études et mon bonheur. Ce travail est le résultat de vos sacrifices Pour mon éducation et ma formation.

A mes sœurs : Amel ; Amina ; à mes frères : Ramzi, Khaled, Cette dédicace est un témoignage de mon amour inconditionnel envers vous, dans les moments difficiles, vous m'avez encouragée à persévérer, à croire en moi et à surmonter les obstacles. Vous avez été mes plus grands défenseurs, m'encourageant à poursuivre mes rêves et à viser l'excellence. Vos succès sont les miens, et vos joies sont les miennes. Je vous aime de tout mon cœur et je suis honorée de faire partie de cette belle famille que nous formons

A mon fiancé : Haider, depuis que tu es entré dans ma vie, tout a changé. Tu m'as apporté une joie incommensurable, une profonde compréhension et un amour qui dépasse toutes les frontières. Tu es mon roc, ma source d'inspiration et mon plus grand soutien.

A tous mes Amies : Djihene, Kounouz, Malak, Aya, Aya Rihene, Wissem, Abir, ce message est une dédicace spéciale à vous, mes complices de vie. Nous avons partagé tant de moments inoubliables, des rires aux éclats aux larmes de joie. Vous avez été présentes à chaque étape de ma vie, m'encourageant, me soutenant et m'aimant sans condition. Votre amitié est un trésor inestimable que je chérirai toujours.

MANEL

Table des matières

Remerciements	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
1- Revue bibliographique	3
1.1- Résistance bactérienne	3
1.2- Types de résistance bactérienne	3
1.2.1- Naturelle	3
1.2.2- Acquise	3
1.2.3- Résistance croisée.....	3
1.2.4- Co- résistance	4
1.3- Origine de l'antibiorésistance.....	4
1.4- Bactéries résistantes et multirésistantes (BMR).....	4
1.4.1- Entérobactéries BLSE.....	5
1.4.2- Entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG).....	5
1.4.3- <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant.....	5
1.4.4- <i>Escherichia coli</i>	5
1.4.5- <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	6
1.4.6- <i>Bacillus</i>	6
1.4.7- <i>Staphylococcus aureus</i>	6
1.4.7.1- Historique de <i>staphylococcus aureus</i>	7
1.4.7.2- Taxonomie	7
1.4.7.3- Habitat.....	8
1.4.7.4- Caractères bactériologiques.....	8
1.4.7.5- Facteurs de virulence	9
1.4.7.6- Mécanismes de résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques...	12

1.4.7.7- <i>Staphylococcus aureus</i> résistante à métricilline (SARM).....	13
1.4.7.8- Autre résistance	14
1.5- Biofilm bactérien	15
1.5.1- Cycle de vie d'un biofilm.....	16
1.5.2- Quorum sensing (QS)	17
1.5.3- Composition de la matrice	18
1.5.4- Rôles de biofilm.....	18
1.5.5- Résistance des bactéries au sein des biofilms.....	19
1.5.6- Conséquences médicales du développement des biofilms.....	19
1.5.6.1- Tolérance aux antibiotiques	19
1.5.7- Exemple de pathologie associé aux biofilms.....	20
1.5.8- Lutte contre les biofilms.....	22
1.6- <i>Laurus nobilis</i> (<i>L. nobilis</i>)	23
1.6.1- Description	23
1.6.2- Étymologie et systématique	24
1.6.3- Composition chimique	24
1.6.4- Huile essentielle de Laurier noble	24
1.6.4.1- Propriétés principales et usage thérapeutique.....	25
1.6.4.2- Activités d'huile essentiel de Laurie noble.....	26
2- Matériel et méthodes.....	27
2.1- Matériel végétale	27
2.2- Analyses phytochimiques	27
2.2.1- Criblage phytochimique.....	27
2.3-Préparation de l'extrait méthanolique	29
2.4-Préparation de l'huile essentielle.....	30

2.5 -Détermination de rendement	30
2.6- Dosage colorimétrique des composés phénoliques.....	31
2.6.1- Dosage des polyphénols totaux utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.....	31
2.6.2- Dosage des flavonoïdes totaux.....	31
2.7- Activités biologiques.....	32
2.7.1- Activité antioxydante.....	32
2.7.1.1- Activité antiradicalaire du DPPH(2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazil).....	32
2.7.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	33
2.7. 2-Activité antibactérienne	34
2.7. 3-Activité antibiofilm	35
3- Résultat et discussion.....	37
3.1- Rendement d'extraction	37
3.2-Analyse phytochimique.....	38
3.2.1- Criblage phytochimique.....	38
3.3- Dosage colorimétrique des composés phénoliques.....	40
3.3.1- Dosage des polyphénols totaux.....	40
3.3.2-Dosage des flavonoïdes totaux	41
3.4- Activités biologiques	42
3.4.1-Activité antioxydante	42
3.4.1.1-Activité antiradicalaire du DPPH(2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazil).....	42
3.4.1.2-Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	44
3.4.2-Activité antibactérienne.....	45
3.4.3-Activité antibiofilm.....	48
4-Conclusion et perspectives.....	51
5- Références bibliographiques.....	53

Annexes

Abstract

ملخص

Résumé

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> par les protéines de la surface	10
Figure 02	Mécanisme de résistance aux antibiotiques	13
Figure 03	Biofilm bactérien	15
Figure 04	Etapas de formation d'un biofilm	17
Figure 05	Endocardite infectieuse.	20
Figure 06	Infections urinaires récidivantes.	21
Figure 07	Plaie chronique.	22
Figure 08	Plante de <i>Laurus nobilis</i>	23
Figure 09	Huile de <i>Laurus nobilis</i>	25
Figure 10	Broyat des feuilles de <i>L. nobilis</i> .	27
Figure 11	Extrait méthanolique de la plante de <i>L. nobilis</i> .	29
Figure 12	Hydrodistillation de <i>L. nobilis</i> par clevenger.	30
Figure 13	Réaction de réduction de DPPH en présence d'un antioxydant.	32
Figure 14	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	40
Figure 15	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	41
Figure 16	Courbes des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration d'extrait méthanolique.	43
Figure 17	Courbes des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration d'huile.	43
Figure 18	Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait (FRAP).	44
Figure 19	Courbe d'absorbance en fonction de la concentration d'huile (FRAP).	44
Figure 20	Activité antibiofilm de l'extrait méthanolique de <i>L. nobilis</i> .	49
Figure 21	Activité antibiofilm d'HE de <i>L. nobilis</i> .	49

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Classification botanique du <i>Laurus nobilis</i> .	24
Tableau 02	Composition chimique de <i>laurus nobilis</i> .	24
Tableau 03	Rendement et caractéristiques des extraits de <i>Laurus nobilis</i> (<i>L. nobilis</i>).	37
Tableau 04	Criblage phytochimique des feuilles de <i>L. nobilis</i> .	38
Tableau 05	Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique des feuilles de <i>L. nobilis</i> .	42
Tableau 06	Zones d'inhibition de la plante de <i>L. nobilis</i> ; extrait méthanolique et l'huile essentielle et l'antibiotique chloramphénicol et du DMSO sur les souches bactériennes étudiées.	46
Tableau 07	Diamètres (mm) des zones d'inhibition de la croissance de quatre souches bactériennes. Culture réalisée en présence de l'extrait méthanolique et l'huile essentielle de <i>L. nobilis</i> , de l'antibiotique chloramphénicol et du DMSO.	47

Liste des abréviations

% : Pourcent.

[C] : Concentration.

°C : Degré Celsius.

µg : Microgramme

µl : Microlitre.

A_{0,5} : La moitié d'absorbance.

ABRI : *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipenème

Abs : Absorbance.

ADH : arginine dihydrolase.

ADNe : l'ADN extracellulaire.

AHL : Acyl homosérine lactones.

AI : Auto-inducteurs.

ARNr : ARN ribosomique.

B. cereus : *Bacillus cereus*.

BHA : Beta Hydroxy Acid.

BHT : Butyl hydroxy toluène.

BLSE : Bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

BMR : Bactéries multirésistantes

C₂HCl₃O₂ : Acide trichloracétique.

CE₅₀ : Concentration efficace a absorbance 0,5

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO : Densités optiques.

DPPH : 2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazil.

E. coli : *Escherichia coli*.

EBLSE : Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

ED : Eau distillé.

EGA : Equivalent acide gallique.

EPS : Matrice extracellulaire protectrice appelée.

EQ : Equivalent quercétine.

ERG : Entérocoque résistant aux glycopeptides

Fe₂⁺ : Fer ferreux.

Fe₃⁺ : Fer ferrique.

FeCl₃: Chlorure ferrique.

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant.

g : Gramme.

h : Heure.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

HE : Huile essentielle.

H1a : L'hémolysine alpha.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %.

K₃Fe (CN)₆ : Ferricyanure de potassium.

Kg : Kilogramme.

L. nobilis : *Laurus nobilis*.

M : Molarité.

MEC : Matrice extracellulaire.

mg : milligramme.

MIC : Minimum inhibitory concentration.

min : minute.

ml : millilitre.

MS : Matière sèche.

MSCRAMM : Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix Molecule.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

nm : Nanomètre.

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

PH : Potentiel hydrogène.

PIA : Adhésines intercellulaires de polysaccharides extracellulaires.

PLP : Protéines liant la pénicilline.

PMQR : gène de résistance aux quinolones à médiation plasmidique.

PVL : Leucocidine de Panton et Valentine.

QS: Quorum sensing.

R% : Rendement.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistante à méticilline.

SCN : Staphylocoques à coagulase négatives.

SCP : Staphylocoques à coagulase positive.

SNV : Science de la nature et de la vie.

TSS : Toxic shock syndrome, syndrome de choc toxique.

TSST-1: Toxic shock syndrome toxin.

UV : Ultraviolet.

Introduction

Introduction

La résistance accrue des bactéries aux antibiotiques est un grave problème mondial qui a poussé la recherche vers la découverte de nouvelles biomolécules à activité antibactérienne (**Bouyahya et al., 2019**). L'utilisation généralisée de ces antibiotiques, ainsi que la prescription à grande échelle, souvent inappropriée de ces médicaments qui ont entraîné la forte adaptabilité des souches bactériennes et la sélection des souches multi-résistantes. L'utilisation des plantes et de leurs dérivés, comme les huiles essentielles (HEs), est courante en médecine conventionnelle ainsi que les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes. Elles contiennent une grande variété de métabolites secondaires capables d'inhiber ou de ralentir la croissance des bactéries (**Hamilton-Miller et al., 2004; Boudjouref, 2011**).

En effet, la résistance aux agents antimicrobiens est la caractéristique la plus importante des infections par biofilm. En conséquence, les infections causées par les biofilms bactériens sont persistantes et très difficiles à éradiquer. Bien que plusieurs mécanismes aient été postulés pour expliquer la sensibilité réduite aux antimicrobiens dans les biofilms bactériens, il devient évident que la résistance du biofilm est multifactorielle (**Drenkard, 2003; Tremblay et al., 2014**).

Actuellement, les infections à *Staphylococcus aureus* sont courantes dans les milieux communautaires et hospitaliers. Cette bactérie produit divers facteurs de virulence notamment des exotoxines, des enzymes, et des protéines de surface; elle a la capacité de formation de biofilms et de l'acquisition de la résistance à plusieurs médicaments qui causent diverses infections potentiellement mortelles chez les mammifères hôtes (**Dinges et al., 2000**).

En outre, le développement de souches multirésistantes, telles que *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et *S. aureus* résistant à la vancomycine, constitue une menace sérieuse pour la santé humaine. De plus, les biofilms de *S. aureus* jouent un rôle central dans la tolérance aux antibiotiques (**Stewart et al., 2001**) et la détermination de la gravité de la maladie et de l'évolution postopératoire (**Singhal et al., 2011**). *S. aureus* forme facilement des biofilms sur de nombreuses surfaces biotiques et abiotiques, y compris les cellules hôtes et les implants médicaux. Divers facteurs tels que les indices environnementaux, la détection du quorum, le c-di-GMP, la protéase, la DNase et les hémolysines contribuent à la formation de biofilm par *S. aureus*, et donc l'identification

d'agents antibiofilms et antivirulences capables d'inhiber la production de biofilms (**Jin-Hyung et al., 2022**).

Plusieurs études ont confirmé le pouvoir anti-staphylococcique d'HE de *Laurus nobilis* L. (*L. nobilis*) et sa capacité d'inhiber les souches buccales de *S. aureus* avec une activité antibiofilm très importante (**Annelise et al., 2017; Lobstein et al., 2017**).

Ce travail a donc pour but principal d'appliquer et d'évaluer l'activité inhibitrice de l'extrait méthanolique et de l'HE de *L. nobilis* sur des biofilms formés par *S. aureus*, comme nouvelles stratégies de lutte contre la résistance bactérienne.

Pour cela ce travail est basé sur :

- Le criblage phytochimique de la plante étudiée ; *L. nobilis*, pour savoir sa composition chimique en métabolites bioactifs ;
- L'extraction des polyphénols et d'HE du *L. nobilis* ;
- La quantification des composés phénoliques ;
- La mise en évidence des différentes activités biologiques en l'occurrence ; anti-oxydante et antibactérienne des extraits obtenus ; extrait méthanolique et HE ;
- L'évaluation de l'activité inhibitrice du développement du biofilm par les extraits obtenus ; en particulier l'HE du laurier sur *S. aureus*.

Revue bibliographique

1- Revue bibliographique

1.1- Résistance bactérienne

L'augmentation de la résistance bactérienne aux antibiotiques est causée par l'administration répétée d'antibiotiques à l'homme ou à l'animal (**Sanders, 2005**). En effet, la présence d'antibiotiques dans l'organisme favorise la sélection de bactéries résistantes, soit naturellement, soit par mutation ou échange de matériel génétique (plasmide) avec d'autres bactéries. Les bactéries sensibles sont éliminées par les antibiotiques absorbés, laissant la place aux bactéries résistantes. Ceux-ci peuvent se transmettre et se propager entre les individus, en particulier dans les établissements de santé. Elles rendent le traitement antibiotique ultérieur moins efficace pour les patients et les communautés (**Frieri et al., 2017**).

1.2- Types de résistance bactérienne

On peut classer la résistance bactérienne en quatre différents types ; naturelle, acquise, croisée et co- résistance.

1.2.1- Naturelle

Certaines espèces bactériennes peuvent être « naturellement » résistantes à un antibiotique ou à une famille d'antibiotiques, c'est-à-dire de manière innée (**Flandrois, 2022**) ; elle peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique (faible affinité), ou à l'absence de la cible. Cette résistance est permanente et transmissible à la descendance lors de la division cellulaire (transmission verticale) (**Habera et Bahmed, 2017**).

1.2.2- Acquise

La résistance acquise concerne l'apparition d'une résistance à un ou aux plusieurs antibiotiques chez une bactérie auparavant sensible. Ces résistances peuvent survenir *via* une mutation génétique affectant le chromosome de la bactérie, ou bien être liées à l'acquisition de matériel génétique étranger (plasmide, transposon) porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance en provenance d'une autre bactérie (**Hajjej et Kamoun, 2016**).

1.2.3- Résistance croisée

La résistance croisée, est lorsqu'une résistance à un antibiotique engendre une résistance à un autre composé par un seul et même mécanisme biochimique. Le phénomène de résistance croisée peut survenir parmi tous les membres d'une classe d'antibiotique (ex : les sulfamides et les aminoglycosides. Elle est aussi observée, lorsque plusieurs antibiotiques utilisent la

même cible, comme par exemple, les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B qui agissent tous sur le ribosome (**Courvalin, 2007**).

1.2.4- Co- résistance

La Co-résistance implique le transfert de plusieurs gènes dans la même bactérie et/ou l'acquisition de mutations dans différents loci génétiques affectant différents antimicrobiens (**Canton et Ruiz-garbajosa, 2011**).

1.3- Origine de l'antibiorésistance

La résistance aux antibiotiques provient soit de mutations chromosomiques (modifications génétiques préexistantes), soit de l'intégration de petits brins d'ADN circulaires qui se transmettent d'une bactérie à d'autres (plasmides). La résistance chromosomique n'implique qu'un seul antibiotique ou une seule famille d'antibiotiques à la fois. La résistance plasmidique est la plus répandue (représentant 80 % des résistances acquises) et peut impliquer plusieurs antibiotiques et même des familles d'antibiotiques. On parle alors de multirésistance. Le transfert des mécanismes de résistance peut se faire d'une souche à une autre ou d'une espèce à une autre. L'accumulation de mécanismes de résistance dans une même souche peut conduire à une impasse thérapeutique. Les mécanismes de résistance sont nombreux ; production d'enzymes qui détruisent les antibiotiques, étanchéité des parois bactériennes et modification des cibles des antibiotiques (**Lepelletier et al., 2014**).

1.4- Bactéries résistantes et multirésistantes (BMR)

Les bactéries deviennent multirésistantes aux antibiotiques lorsqu'elles acquièrent une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, ce qui les rend insensibles à la plupart des antibiotiques utilisés en thérapeutique. Cet état de multirésistance peut conduire à une impasse thérapeutique, touchant à la fois les bactéries responsables d'infections communautaires (comme les pneumocoques et les bacilles tuberculeux) et celles responsables d'infections nosocomiales. Pour prévenir et contrôler la résistance aux antibiotiques, la lutte contre les BMR dans les établissements de santé est une priorité absolue. C'est une préoccupation nationale qui concerne l'ensemble de la communauté médicale, non seulement celle des établissements de santé mais aussi celle de la ville (**Lepelletier et al., 2014**).

1.4.1- Entérobactéries BLSE

Les entérobactéries sont une famille de bacilles à Gram négatif qui sont soit des colonisateurs de l'intestin avec une pathogénicité facultative, soit des pathogènes obligatoires du système digestif (De Valliere, 2017). Une entérobactérie BLSE (EBLSE) ne reste sensible au sein de la famille des β -lactamines qu'aux carbapénèmes (et parfois céphamycines). La résistance est plasmidique, codée par des enzymes dont il existe des centaines de variants. Les EBLSE présentent souvent des résistances associées (fluoroquinolones, aminosides, etc.) (Barraud et Pestourie, 2011).

1.4.2- Entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG)

La résistance des entérocoques aux glycopeptides est plasmidique (modification de la cible de l'antibiotique), exposant ainsi au risque de transfert de cette résistance à d'autres bactéries. Les ERG sont sélectionnés dans la flore digestive par l'administration per os de glycopeptides : vancomycine ou targocide en médecine humaine et certainement aussi par la consommation de viande d'élevage gavée d'avoparvine (Kara, 2016).

1.4.3- *Acinetobacter baumannii* multirésistant

Acinetobacter baumannii, un coccobacille à Gram négatif, est une bactérie aérobie qui provoque une gamme d'infections telles que la pneumonie, la bactériémie, les infections des voies urinaires et la méningite, en particulier en milieu hospitalier. On le trouve principalement dans la flore cutanée de l'homme, avec environ 25 % des individus porteurs de la bactérie. Flore présente dans le pharynx et le système digestif, y compris celui des porteurs sains. Pour résister aux antibiotiques, *A. baumannii* déploie différents mécanismes, dont la production de pénicillinases, de céphalosporinases et de carbapénémases. Certaines souches d'*A. baumannii*, connues sous le nom d'ABRI, ont développé une résistance à l'imipénème. (Kara, 2016).

1.4.4- *Escherichia coli*

La multirésistance chez *E. coli* est devenue une préoccupation et est de plus en plus observée chez l'homme ainsi qu'en médecine vétérinaire dans le monde entier. *Escherichia coli* est intrinsèquement sensible à presque tous les agents antimicrobiens cliniquement pertinents, mais cette espèce bactérienne a une grande capacité d'accumulation de gènes de résistance, principalement par transfert horizontal de gènes. Le mécanisme le plus problématique chez *E. coli* correspond à l'acquisition de gènes codant pour les β -lactamases à spectre étendu (qui confèrent une résistance aux céphalosporines à large spectre), les carbapénémases (qui confèrent la résistance aux carbapénèmes), les gènes 16S ARNr alpha pour la méthylase

(confèrent la résistance aux panaminosides) , gène de résistance aux quinolones à médiation plasmidique (PMQR) (confère la résistance aux (fluoroquinolones) et gène MCR (confère la résistance à la polymyxine) (**Poirel et al., 2018**).

1.4.5- *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène nosocomial majeur dans le monde entier. Elle est intrinsèquement résistante à de nombreux médicaments et est capable de devenir résistante à pratiquement n'importe quel agent antimicrobien. Les mécanismes de résistance de *P. aeruginosa* comprennent la production de β -lactamases, de pompes à efflux et de modifications du site cible ou de la membrane externe. La résistance à plusieurs médicaments est généralement le résultat de la combinaison de différents mécanismes dans un seul isolat ou de l'action d'un seul mécanisme de résistance puissant (**Zavascki et al., 2014**).

1.4.6- *Bacillus*

Bacillus cereus provoque une infection par une toxine caractérisée par des symptômes diarrhéiques et une intoxication entraînant des symptômes de vomissements. Il s'agit d'un bacille Gram positif, sporulant et aérobie-anaérobie facultatif (**Cadel et al., 2012**).

B. cereus est connue pour être généralement résistante aux antibiotiques β -lactamines en raison de la production d'enzymes β -lactamase (**Park et al., 2009**). Cette souche était généralement résistante à la pénicilline G, à l'ampicilline, au céfotaxime et à la combinaison d'amoxicilline avec l'acide clavulanique comme inhibiteur de la β -lactamase. Cette bactérie est souvent sensible à d'autres antibiotiques, notamment la tétracycline, l'érythromycine, le chloramphénicol, la gentamicine, la ciprofloxacine et l'imipenème. Cependant, quelques souches ont montré une sensibilité réduite à la gentamicine, à la tétracycline et à l'érythromycine (**Fiedler et al., 2019**).

1.4.7- *Staphylococcus aureus*

S. aureus est un membre de notre écosystème cutanéomuqueux, fait partie d'un groupe d'agents pathogènes à Gram positif opportunistes et envahissants (**Alioua, 2015**), son pouvoir pathogène, son caractère omniprésent et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dispersion surtout lors des ruptures de la barrière cutanée, ou l'immaturité du système immunitaire (**Rebiahi, 2012**).

1.4.7.1- Historique de *Staphylococcus aureus*

De nombreux travaux effectués en 1870 ont mis en évidence l'existence de Cocci dans des pus et des abcès. Considérés comme une entité unique, ils furent nommés *Coccobacteria septicum* par Bill Roth en 1874 (**Pascale, 2013**).

En 1878, Koch accentue le rôle pathogène de bactéries se montrant sous forme de Cocci Gram positif. Ces Cocci seront ensuite isolées puis identifiés d'un pus par Louis Pasteur en 1880. Ils sont nommés en 1883 par Ogston sous le nom de staphylocoques (**Berche et al., 1989**).

La classification des staphylocoques a connu beaucoup de confusions ; lors de la première annonce en 1923 du « Bergey's Manual of Determinative Bacteriology », les staphylocoques étaient classés dans la famille des Streptococcaceae ensuite lors de la deuxième annonce en 1926 dans la famille des Micrococcaceae (**Avril et Fauchère, 2002**).

Ces désignations ont duré jusqu'en 1939, quand Cowan en 1939 a différencié *S. epidermidis* en tant qu'espèce différente basée sur le test de la coagulase, ce qui a été précisé par des tests sérologiques en 1964 (**Somerville, 2016**).

En 1974, Baird-Parker Divise définitivement le genre *Staphylococcus* du genre *Micrococcus* grâce à la diversité du contenu en guanine et en cytosine de leur ADN, 66- 75% pour *Micrococcus* et 30-39% pour *Staphylococcus* (**Garrity et al., 2005**).

Maintenant la classification est bien déterminée, il s'agit de la famille Staphylococcaceae. Cette famille inclut les genres *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macrococcus*, aussi que le plus important le genre *Staphylococcus* (**Dworkin et al., 2006**).

1.4.7.2- Taxonomie

Suivant la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC.

Domaine (règne) : Bacteria

Division (phylum XIII) : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Staphylococcaceae

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (**Prescott, 2010**).

1.4.7.3- Habitat

De nature ubiquitaire, les staphylocoques sont rejoints dans l'air, l'eau et le sol. Ce sont des bactéries résistantes aux conditions défavorables de l'environnement (chaleur, sécheresse, salinité). Les staphylocoques découverts dans l'eau proviennent essentiellement de la peau, de la bouche, du nez et de la gorge et parfois d'une pollution fécale. Le nez, le pharynx, les aisselles, le périnée, le vagin, le tube digestif (quelquefois) loge également les staphylocoques, aussi bien chez l'homme et chez les animaux plus particulièrement chez les porcs (Deurenberg et Stobberingh, 2008).

1.4.7.4- Caractères bactériologiques

➤ Caractères morphologiques

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5 μ de diamètre, ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très uniques souches, d'autres constituent des colonies mucoïdes et sont enfermées d'un pseudo capsule. Sur les cultures en milieu solide, ils s'arrangent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin ». Cependant en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (en général de 3 à 5 éléments) (Chibi, 2015).

➤ Caractères biochimiques

De nombreux travaux ont permis de dresser des profils métaboliques pour la majorité des espèces de staphylocoques qui ont pour importants caractères biochimiques la production de catalase et d'arginine dihydrolase (ADH). *S. aureus* possède également une activité coagulase, phosphatase, aussi des nucléases thermostables mais pas d'oxydase Il est hémolytique et a la capacité de liquéfier la gélatine et de fermenter de nombreux sucres comme le glucose, le saccharose, le lactose et le mannitol (Behme *et al.*, 1996).

Les espèces de Staphylocoques sont habituellement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme pathogènes et les staphylocoques à coagulase négative (SCN), connus moins dangereux (Le Loir et Gautier, 2010).

S. aureus a longtemps été considéré comme le seul représentant des SCP, mais de nouvelles espèces de staphylocoque à coagulase positive ont été dernièrement isolées : *S. intermedius* et *S. hyicus* (Brisabois *et al.*, 1997 ; Leyral et Vierling, 2007).

Le diagnostic permettant de différencier *S. aureus* des autres espèces est basé sur des essais réalisés sur des colonies tels que l'identification du facteur agglomérant, de la coagulase, des hémolysines et de la désoxyribonucléases thermostable ou thermo nucléase (**Brown, 2005**).

➤ **Caractères cultureux**

Les *S. aureus* sont des bactéries aisément cultivables sur un milieu ordinaire en 24 à 48 heures, *S. aureus* peut également cultiver en milieu sélectif hypersalé (Chapman), en milieu liquide dont cette bactérie produit un trouble homogène dans le bouillon.

La plupart des souches poussent en présence de concentrations en chlorure de sodium allant jusqu'à 15%, et elles ont une propriété aéro-anaérobie. Mais les *S. aureus* prennent une meilleure croissance dans des conditions aérobies (**Carricajo et Treney, 2001**). Les *S. aureus* s'ajustent à des très variabilités de pH allant de 4,5 à 9,3 et de température qui change de 4,5 à 46°C. Mais la croissance est parfaite à température comprise entre 30 et 37°C.

A l'examen direct, les colonies de *S. aureus* sont lisses, opaques, convexes et présentent un bord net, plus ou moins pigmentées en jaune d'or, d'où le nom « *Staphylococcus aureus* » ou « *Staphylococcus doré* » (**Domart, 2002**).

1.4.7.5- Facteurs de virulence

Le pouvoir pathogène de *S. aureus* est lié à l'expression de facteurs de virulence Ils sont codés par des gènes localisés sur le chromosome ou sur les éléments génétiques mobiles (**Fomba, 2006**) les facteurs de virulences tels que La capacité à sécréter des toxines, l'invasion et l'adhérence, et la production d'enzymes hydrolytiques sont des facteurs qui déterminent la pathogénicité.

➤ **Protéine de la surface**

Staphylococcus aureus peut coloniser hôte pour initier l'infection en adhérant à composants de la matrice extracellulaire (**Foster et al., 1988**), elle possède un grand nombre de protéines exposées à la surface de la bactérie, qui ont la capacité de se fixer sur des molécules de l'hôte. On parle d'adhésines. Un certain nombre de ces adhésines appartiennent à la famille des MSCRAMM (Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix Molecule) c'est-à-dire qu'elles reconnaissent les molécules de la matrice extracellulaire, composée de collagène, d'élastine, de protéoglycanes et de glycoprotéines de structure telles que la fibronectine. (**Tristan et al., 2019**).

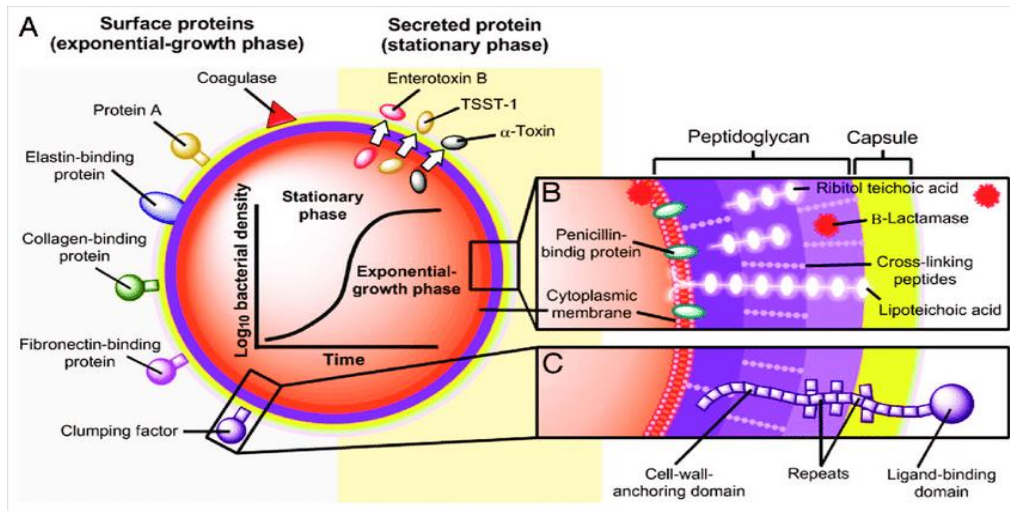


Figure 1 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* par les protéines de la surface (Virginie Dyon, 2019).

➤ Résistance à la phagocytose

• Exo-polysaccharides capsulaires

La virulence chez *S. aureus* peut être exprimée par la formation d'un biofilm qui permet l'adhésion de la bactérie à la surface de la cellule hôte, ce biofilm est formé par une production d'exo polysaccharides ou glycocalyx par *S. aureus*, ces polysaccharides capsulaires sont présents chez 90% des souches cliniques (Roux, 2006 ; Duas, 2008).

• Toxines

Les staphylocoques sécrètent une quantité impressionnante de toxines hydrolysant différents constituants cellulaires. Ces toxines extracellulaires contribuent à la pathogénie des staphylocoques (Bisognano, 2000).

A- Toxine formant des pores

✓ Hémolysine alpha (Hla)

L'hémolysine alpha (Hla) est une toxine protéique. Les monomères d'Hla s'oligomérisent en homoheptamère pour former des pores à la surface de cellules cibles (Wilke et al., 2010). Hla est une des principales toxines de *S. aureus* capable d'induire une rupture des barrières épithéliales et de la paroi endothéliale par clivage de la protéine cadhérine E des jonctions serrées (Inoshima et al., 2011 ; Powers et al., 2012).

✓ Hémolysine-β (Sphingomyélinase C)

Le rôle de l'hémolysine-β n'est pas totalement compris aujourd'hui. Elle pourrait agir sur l'échappement phagosomal et l'induction de la création d'un biofilm (Huseby et al., 2010).

L'hémolysine- β est une sphingomyélinase, enzyme clivant les sphingomyélines qui sont les sphingolipides les plus présents dans les membranes eucaryotes (Walev et al., 1996).

✓ **δ -hémolysine**

Toxine δ , c'est une protéine de PM de 103 KDa, composée de sous unités, elle est thermostable, faiblement antigénique, elle cause des dommages sur la membrane d'un certain nombre de cellules des mammifères. Elle a une activité hémolytique, mais bien qu'elle ait de nombreux effets cytotoxiques, son importance dans l'étiologie des maladies liées à *S. aureus* reste assez peu claire (Le Minor et Veron, 1990 ; Avril et al., 2003).

✓ **γ -hémolysine**

La toxine gamma, antigénique chez l'homme qui est formée de deux constituants agissant en synergie dont le cholestérol inhibe leur action. Elle stimule la dégranulation des phagocytes, ce qui augmente les dommages tissulaires liés à la réponse inflammatoire (Labrecque., 2007).

✓ **Leucocidine de Panton et Valentine (PVL)**

La leucocidine de Panton Valentine ou PVL est une toxine à deux composants agissant de façon synergique sur les membranes cellulaires (toxine synergo-hyménotrope) appartenant à la famille des pore-forming toxins. In vitro, la PVL induit la lyse de plusieurs cellules participant aux défenses de l'hôte comme les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, et les macrophages. La formation d'un pore dans la membrane cellulaire requiert la présence des deux composants de la toxine, LukS-PV et LukF-PV (Tristan et al., 2019). Ces souches de *S. aureus* sécréteurs de PVL (SA-PVL) sont reconnues comme responsables d'infections sévères chez des enfants sans comorbidité avec des présentations cliniques variables (pneumopathie, infections cutanées ou sous-cutanées ou ostéoarticulaires). La sécrétion de PVL doit être évoquée devant une infection sévère à *S. aureus* (Gillet-Vittori et al., 2014).

B- Toxines superantigénique

✓ **Toxine du choc toxique staphylococcique**

Les toxines staphylococciques ayant une activité superantigénique sont : la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1), les entérotoxines A à E, G, et I à U (CNR, 2020).

La toxine du syndrome de choc toxique staphylococcique ou TSST-1 est un super-antigène retrouvé chez plus de 90% des souches responsables de ce syndrome (Fauchere, 2002), il est provoqué par des Cocci producteurs d'exotoxines. Les souches du groupe phagique 1 de

Staphylococcus aureus élaborent la toxine TSS-1 (TSS = toxic shock syndrome, syndrome de choc toxique) (TSST-1 toxic shock syndrome toxin (**Larry et al., 2021**). Celui-ci se manifeste cliniquement par une hyperthermie, une hypotension, une éruption érythémateuse diffuse, une atteinte multiviscérale qui peut rapidement évoluer vers un choc sévère et en dehors de toute ressource thérapeutique vers le décès du patient. La mortalité du syndrome de choc toxique staphylococcique est < 3% (**CNR, 2020**). Les sujets les plus à risque de syndrome de choc toxique staphylococcique sont les femmes qui ont des antécédents de colonisation vaginale staphylococcique et qui laissent des tampons ou d'autres dispositifs (p. ex., des éponges contraceptives, des diaphragmes) dans le vagin (**Larry et al., 2021**).

✓ Entérotoxines

Les entérotoxines staphylococciques sont des protéines excrétées par certains staphylocoques, elles sont formées dans l'aliment lors de la préparation des repas et demeurent une cause majeure des contaminations humaines d'origine alimentaire. La surveillance et la caractérisation fine des populations bactériennes productrices de ces toxines sont précieuses pour mieux prévenir les intoxications(**Charlotte,2021**). Sur le plan antigénique, huit entérotoxines sont identifiées : A, B, C1, C2, C3, D, E et H, elles ne sont élaborées que par certaines souches appelées Staphylocoque entérotoxino-gènes.

C- Toxine à activité protéolytique « Exfoliatines »

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* (environ 5%) sécrètent une toxine tropique cutanée : toxine épidermique ou exfoliatine. Il existe deux exfoliatines : l'exfoliatine A à régulation chromosomique et l'exfoliatine B à commande plasmidique. Les souches de *S. aureus* productrices d'exfoliatine sont habituellement de groupe phagique II (**Floret et Lina, 2000**).

1.5.4.6- Mécanismes de résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

S. aureus a développé des résistances quasiment vis-à-vis de tous les antibiotiques mis sur le marché. Quatre grandes catégories de mécanismes de résistance concernent la plupart des espèces bactériennes, y compris *S. aureus* (**Donnio, 2010**).

- **Inactivation enzymatique**

Il existe de nombreuses enzymes produites par certaines bactéries qui détruisent l'antibiotique par divers mécanismes chimiques (hydrolyse, acétylation, phosphorylation).

- **Modification de la cible**

Cette résistance intervient lors de l'étape de la reconnaissance de la cible par l'antibiotique, il s'agit soit d'une mauvaise affinité de certains antibiotiques avec leurs cibles, Soit par une modification de la cible et perte de l'affinité avec l'antibiotique (**Rahal, 2013**).

- **Imperméabilité membranaire**

Changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible (**Alouache et Nait Kaci, 2019**).

- **Pompes à efflux**

Les bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux (**Cattoir, 2004**). L'antibiotique rentre dans la bactérie, mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par des protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie (**Rahal, 2013**).

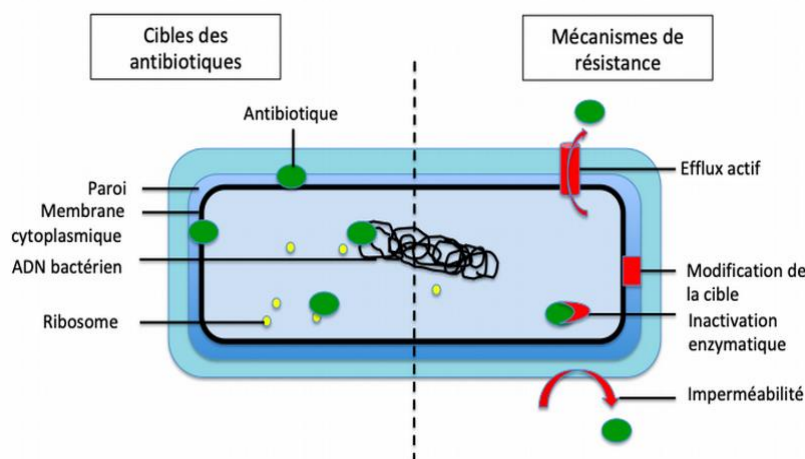


Figure 2 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Cardot martin et al., 2019**).

1.4.7.7- *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (SARM)

Le principal mécanisme de résistance à la méticilline est lié à la modification de la cible des β -lactamines, enzymes qui ont pour cible les transpeptidases appelées aussi protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP interviennent dans la synthèse de la paroi bactérienne en catalysant la formation de ponts peptidiques entre les chaînes glycaniques (**Alouache et Nait Kaci, 2019**). Dans la nature *S. aureus* possède quatre PLP, pour que l'activité antibactérienne des bêtalactamine soit efficace, il doit se lier avec plus d'une PLP pour l'inhiber (**Tattevin, 2011 ; Del Giudice et al., 2012**).

Les SARM synthétisent une 5^{ème} PLP modifiée appelée PLP2a, (**Labischinski, 1992**), une protéine additionnelle de faible affinité pour les bêtalactamines. La production de cette PLP2a, sous le contrôle du gène *mecA*, permet à la bactérie qui porte ce gène de poursuivre la synthèse de sa paroi même en fortes concentrations de bêtalactamines. La PLP2a ne possède pas d'activité transglycosylase, ce qui la rend dépendante des autres PLPs pour mener à bien la synthèse de la paroi bactérienne (**Lemaoui et al., 2017**).

1.4.7.8- Autres résistances

- **Résistance aux bêtalactamines**

Les staphylocoques ont deux mécanismes de résistance aux antibiotiques bêtalactamines. L'une est la production de bêta-lactamases, des enzymes qui détruisent hydrolytiquement les bêtalactamines. L'autre est l'expression de la protéine 2a liant la pénicilline (PBP 2a), qui n'est pas susceptible d'être inhibée par les antibiotiques bêtalactamines. Les souches de *S. aureus* présentant une résistance à la bêta-lactamase ou au PBP 2a (ou les deux) ont établi une niche écologique considérable parmi les agents pathogènes humains (**Fuda et al., 2005**).

- **Résistance aux glycopeptides**

Deux mécanismes principaux semblent pouvoir expliquer cette résistance. Le transfert de gènes de résistance d'entérocoques résistants à la vancomycine à *S. aureus* entraîne l'acquisition d'un très haut niveau de résistance aux glycopeptides chez cette espèce. Quant aux souches présentant une diminution de sensibilité aux glycopeptides, le mécanisme principal semble être l'augmentation d'épaisseur du mur cellulaire, entraînant un piégeage des molécules de glycopeptide à distance des sites actifs de ces antibiotiques (**Montriciol et al., 2008**).

- **Résistance aux tétracyclines**

Les tétracyclines sont des antibiotiques à large spectre utilisés dans le traitement et la prévention des infections bactériennes. La plupart des bactéries résistantes à la tétracycline ont acquis des gènes de résistance à la tétracycline. Deux mécanismes principaux de résistance à la tétracycline ont été décrits chez *S. aureus*: l'efflux actif, résultant de l'acquisition des gènes *tetK* et *tetL* localisés par les plasmides et la protection ribosomique par des protéines de type facteur d'élongation codées par des déterminants chromosomiques ou transposon aux *tetM* ou *tetO* (**Burns, 2013**).

- **Résistance aux fluoroquinolones**

Les mécanismes de résistance aux fluoroquinolones chez *Staphylococcus aureus* ont été clarifiés en analysant les mutations dans les gènes codant pour les enzymes cibles, en examinant l'expression de la pompe à efflux et en déterminant les activités inhibitrices des fluoroquinolones contre les enzymes altérées (**Tankovic et Soussy, 1998**). Les fluoroquinolones inhibent la croissance bactérienne par arrêt de la synthèse de l'ADN. Cette action est liée à l'inhibition de deux topoisomérases bactériennes : l'ADN gyrase, qui catalyse le surenroulement de l'ADN, et la topoisomérase IV qui est responsable de la décaténation du chromosome au cours de sa réplication (**Alouache et Nait Kaci, 2019**).

1.5- Biofilm bactérien

Les biofilms sont des communautés de microorganismes en contact avec une surface. Malgré la mise en œuvre de mesures préventives, les biofilms sont difficiles à éradiquer en raison de leur tolérance caractéristique à des doses élevées d'antibiotiques (**Lebeaux et Ghigo, 2012**). Généralement, les biofilms sont définis comme étant des communautés de cellules encastrées dans une matrice d'exopolymères et adhèrent sur une surface biotique (ex : muqueuses) ou abiotiques (ex : cathéters) (**Costerton et al., 1999**). Ils sont reconnus comme étant résistants à la thérapie antimicrobienne et aux défenses de l'hôte (**Kiedrowski et Horswill, 2011**).

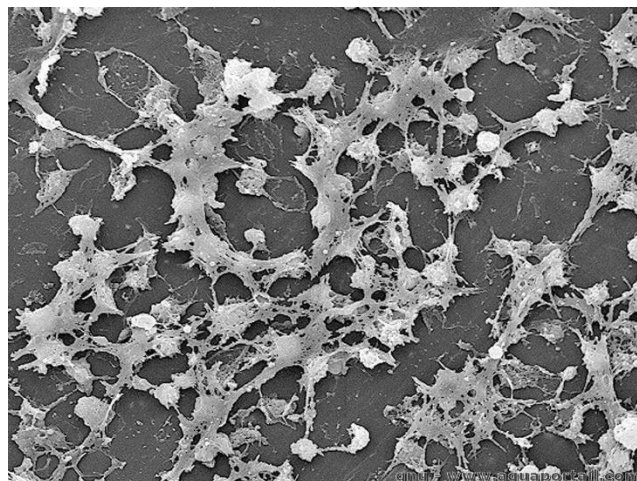


Figure 3 : Biofilm bactérien (Anonyme 1, 2020).

Le développement de biofilm s'est par la suite avéré important dans de nombreux types d'infections et est maintenant un mode de croissance bactérienne largement répandu. La notion d'agrégat renvoie à la haute densité cellulaire des biofilms (de 10^8 à 10^{11} cellules par gramme) ce qui implique de nombreuses interactions physiques et sociales entre les communautés présentes dans ces biofilms (**Flemming, 2016**). Ces interactions, associées aux

propriétés conférées par la MEC font émerger de nouvelles caractéristiques propres aux biofilms, qui ne sont pas prédictibles depuis l'étude de cellules isolées en suspension dans l'environnement, les cellules ont la capacité d'alterner entre deux états distincts. L'état planctonique d'une part qui correspond aux cellules libres et isolées en suspension dans un milieu que l'on retrouve principalement en laboratoire, et l'état sessile qui correspond lui, aux cellules attachées vivant en communauté dans un biofilm.

Étymologiquement, le terme biofilm, vient du grec « bios » (vie) et de l'anglais « film » (pellicule) (Simain et al., 2010). Les biofilms peuvent être constitués d'une ou plusieurs espèces de bactéries et se développer sur des interfaces solides ou liquides variées, que l'on rencontre par exemple dans l'environnement : fond de rivières, cailloux, racines...et dans les organismes vivants : tube digestifs, plaies Donc, les recherches sur les bactéries devraient s'intéresser à ce type de structure plutôt que les formes planctoniques (Belarbi et Yahla., 2020).

1.5.1- Cycle de vie d'un biofilm

1.5.1.1- Adhésion réversible

C'est le premier contact entre les microorganismes et le support, la plupart des microorganismes planctoniques se fixent de manière réversible à la surface. L'adhérence est due à la faible interaction entre la surface et les bactéries, qui se détachent facilement (Nadji et Mizou, 2015).

1.5.1.2- Adhésion irréversible

Une fois attachées, les bactéries commencent à sécréter une matrice extracellulaire protectrice appelée EPS. Cette matrice permet aux bactéries de se fixer à la surface par de fortes liaisons hydrophobes, augmentant le nombre de cellules et réduisant ainsi la distance entre les cellules (Nadji et Mizou, 2015).

1.5.1.3- Développement précoce du biofilm

Les bactéries continuent à produire la matrice exo polysaccharidique, qui joue un rôle important dans la protection du biofilm des agressions extérieures (Ammek et al., 2019) en se divisant, les bactéries vont recouvrir tout ou partie de la surface, formant des micro colonies considérées comme les unités de base des biofilms. A ce stade, la densité bactérienne atteint un certain seuil, ce qui permettra au quorum sensing de participer à la maturation du biofilm (Nadji et Mizou, 2015).

1.5.1.4- Maturité

À ce stade, le biofilm atteindra une croissance exponentielle, entraînant une augmentation significative de son épaisseur jusqu'à former une structure tridimensionnelle. Dans des conditions optimales, il devient macroscopique et mature, caractérisé par la formation de canaux d'eau qui permettent le transport de l'oxygène et des nutriments vers des parties du biofilm (Ammek et al., 2019).

1.5.1.5- Dissémination

Certains micro-organismes peuvent quitter des biofilms et reprendre un mode de vie planctonique, ce qui leur permet d'adhérer à de nouvelles surfaces biotiques ou abiotiques. Soit un amas de cellules se détache, soit des cellules individuelles se détachent du biofilm et trouvent une nouvelle maison. Ce dernier processus est connu sous le nom de « dispersion des graines » (Tremblay et al., 2014).

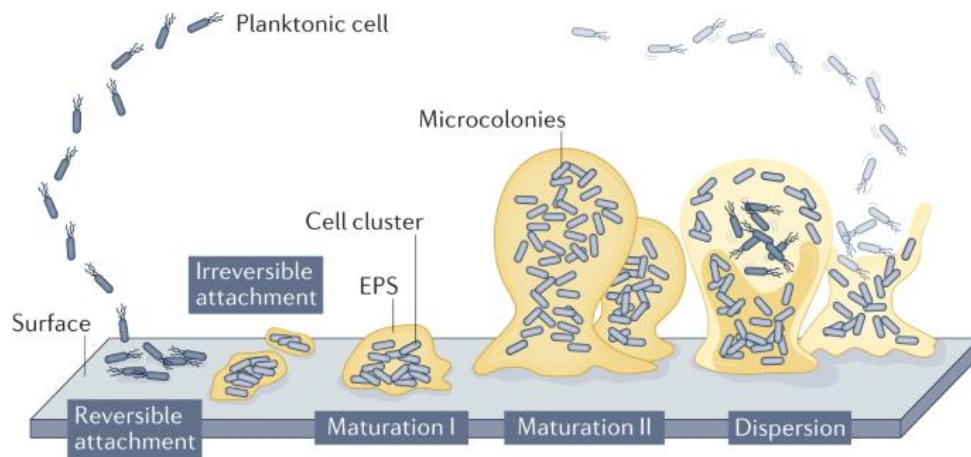


Figure 4: Etapes de formation d'un biofilm (Anonyme 2, 2022).

1.5.2-Quorum sensing (QS)

Dans certaines conditions environnementales, les bactéries peuvent présenter des réponses collectives à l'environnement et présenter le même comportement, suggérant une communication entre les individus de la population (Riedel et al., 2001). Cette forme de communication, également connue sous le nom de détection de quorum (QS), dépend des signaux de densité cellulaire. En général, de nombreuses espèces bactériennes à Gram négatif utilisent des acyl homosérine lactones (AHL) comme molécules de signalisation, tandis que d'autres ont des molécules différentes qui n'ont pas encore été identifiées. Les bactéries Gram-positives utilisent principalement le traitement post-transcriptionnel des peptides comme auto inducteurs ou γ -butyrolactone (Wai-Leung et Bassler, 2009).

1.5.3- Composition de la matrice

La matrice du biofilm est hautement hydratée et peut contenir jusqu'à 97 % d'eau. Elle contient de l'ADN extracellulaire (ADNe), provenant à la fois de bactéries lysées et potentiellement de la mort des cellules neutrophiles de l'hôte, et est susceptible d'être dispersée par les ADN ases (**Mann et al., 2009 ; Montanaro et al., 2011**). Des andésines ont également été identifiées dans la matrice staphylococcique du biofilm, elles peuvent être directement associées à des bactéries ou être libres dans la matrice du biofilm (**Speziale et al., 2014**). Les adhésines intercellulaires de polysaccharides extracellulaires (PIA) ont également été identifiées comme composant majeur du biofilm staphylococcique (**Otto, 2013**). Un certain nombre de protéines cytoplasmiques ont été identifiées comme composants de la matrice et ont sans aucun doute une fonction importante (**Foulston et al., 2014**). Les acides teichoïques ont également été impliqués dans la matrice du biofilm, bien que leur rôle relatif dans les mécanismes de formation des biofilms n'ait pas reçu autant d'attention (**Jabbouri et Sadovskaya, 2010**).

1.5.4- Rôles de biofilm

Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants que les cellules bactériennes planctoniques (**Yannick et al., 2014**). Il assure la communication intercellulaire, via le mécanisme de quorum-sensing qui implique la production, la sécrétion et la détection, par les bactéries, de petites molécules signales appelées des auto- inducteurs (AI) (**Ahmer, 2004**).

Le biofilm joue également un rôle écologique capital et contribue très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes, en participant notamment aux cycles du carbone, de l'eau et de l'azote (**Roux, 2006 ; Duas, 2008**). Il fournit la coopération métabolique et le stockage d'énergie où les bactéries du biofilm accéderont plus facilement aux nutriments que les bactéries planctoniques grâce à leurs charges électriques ou par d'autres forces physico-chimiques locales (**Zobell, 1943**). Il est aussi responsable du transfert de l'information génétique ; les transferts horizontaux d'information génétique jouent un rôle important dans l'évolution et la diversité génétique des communautés microbiennes.

1.5.5- Résistance des bactéries au sein des biofilms

1.5.5.1- Résistance des biofilms aux antibiotiques

Lorsque des bactéries s'engagent en mode de croissance en biofilm, elles tolèrent des concentrations d'antibiotiques de 10 à 1000 fois supérieures aux MIC (minimum inhibitory concentration) de bactéries génétiquement similaires cultivées en conditions planctoniques et des concentrations bien plus élevées sont sans doute nécessaires pour atteindre une bactéricidie vraie.

La matrice du biofilm ne peut constituer une barrière physico-chimique étanche aux antibiotiques. Elle peut cependant retarder leur accessibilité aux bactéries, diminuant les doses bactéricides disponibles et laissant le temps aux bactéries d'exprimer leurs mécanismes inductibles de résistance (**Jefferson et coll., 2005**). La charge des polymères, la présence de bactéries mortes et d'enzymes dégradant les antibiotiques participe à cet effet de retardement (**Bagge et coll., 2004**).

1.5.5.2- Résistance aux défenses immunitaires des bactéries en biofilms

Lorsque des bactéries s'engagent en mode de croissance en biofilm, elles acquièrent aussi des capacités de résistance aux défenses immunitaires de l'hôte. Les mécanismes en sont mal connus (moins bien que ceux de la récalcitrance aux antibiotiques)

1.5.5.3- Résistance aux défenses de l'hôte

Les bactéries ayant formé un biofilm stimulent la réponse immunitaire mais son efficacité est limitée par défaut de pénétration des phagocytes et des anticorps dans la matrice du biofilm. Les phagocytes vont libérer leurs enzymes phagocytaires sur place, ce qui induit une réponse inflammatoire qui endommage les tissus environnants et libère des bactéries du biofilm. Une bonne immunité cellulaire et humorale ne suffit donc pas pour éliminer un biofilm (**Roux et Ghigo, 2006**).

1.5.6- Conséquences médicales du développement des biofilms

1.5.6.1- Tolérance aux antibiotiques

La tolérance aux anti-infectieux est une caractéristique intrinsèque des biofilms (**Dupin, 2017**). Les bactéries au sein du biofilm présentent des caractéristiques phénotypiques et génétiques originales. En médecine humaine, l'aspect le plus problématique de ces propriétés spécifiques du mode de vie biofilm, correspond à la capacité de certaines bactéries du biofilm à survivre en présence de fortes concentrations d'antibiotiques. Ce phénomène, appelé tolérance des bactéries du biofilm aux antibiotiques, est multifactoriel et joue un rôle

important dans le risque d'échec thérapeutique ou de récurrence de l'infection. Depuis une quinzaine d'années, de nombreuses données expérimentales ont permis d'améliorer notre compréhension de ce phénomène et d'envisager, désormais, l'élaboration de stratégies thérapeutiques plus efficaces (**Lebeaux et Ghigo, 2014**).

1.5.7- Exemple de pathologie associé aux biofilms

Les infections liées à des biofilms touchent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Roux, 2006 ; Duas, 2008**).

1.5.7.1- Endocardite infectieuse

Elle correspond au développement d'un biofilm localisé aux valves cardiaques. L'utilisation du modèle d'endocardite du lapin montre qu'après l'adhérence de *Streptococcus sanguis* sur un thrombus valvulaire, des micro-colonies entourées d'une matrice composée d'éléments bactériens et de l'hôte (fibrine, plaquettes) produisent des végétations qui protègent les bactéries des leucocytes. Le traitement de cette infection nécessite une antibiothérapie prolongée et un recours fréquent à la chirurgie (**Lebeaux et Ghigo, 2012**).

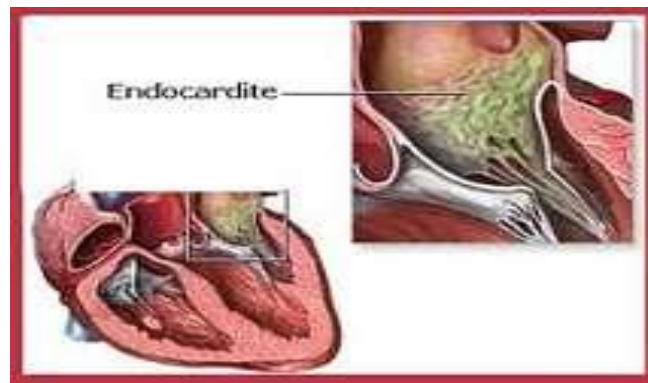


Figure 5 : Endocardite infectieuse (**Zylberberg, 2013**).

1.5.7.2- Mucoviscidose

C'est une maladie génétique autosomique récessive touchant environ 35 000 enfants et jeunes adultes en Europe. La dégradation de la fonction respiratoire est liée à la production d'un mucus épais et abondant qui ralentit la clairance mucociliaire et favorise la colonisation bactérienne. La colonisation et les épisodes infectieux sont fréquemment polymicrobiens et les principales bactéries impliquées sont *S. aureus* et *H. influenzae* dans l'enfance puis, dans un second temps, *P. aeruginosa* (**Lyczak et al., 2002**). La présence d'agrégats de bactéries au sein d'une matrice extracellulaire dense, leur physiologie et les difficultés thérapeutiques

rencontrées dans le traitement de ces infections indiquent la présence d'un développement bactérien de type biofilm, bien documenté dans le cas de *P. aeruginosa* (Singh *et al.*, 2000).

1.5.7.3- Infections urinaires récidivantes

Classiquement attribuées à de multiples épisodes de néo colonisation depuis le tractus digestif, des travaux récents réalisés dans un modèle murin mettent en évidence que des souches d'*E. coli* uropathogènes sont capables de coloniser les cellules de l'épithélium vésical et de former de larges agrégats intracellulaires entourés d'une matrice correspondant à un biofilm qui constituerait le réservoir de bactéries pathogènes entre chaque épisodes infectieux (cystites, pyélonéphrites) (Justice *et al.*, 2006).

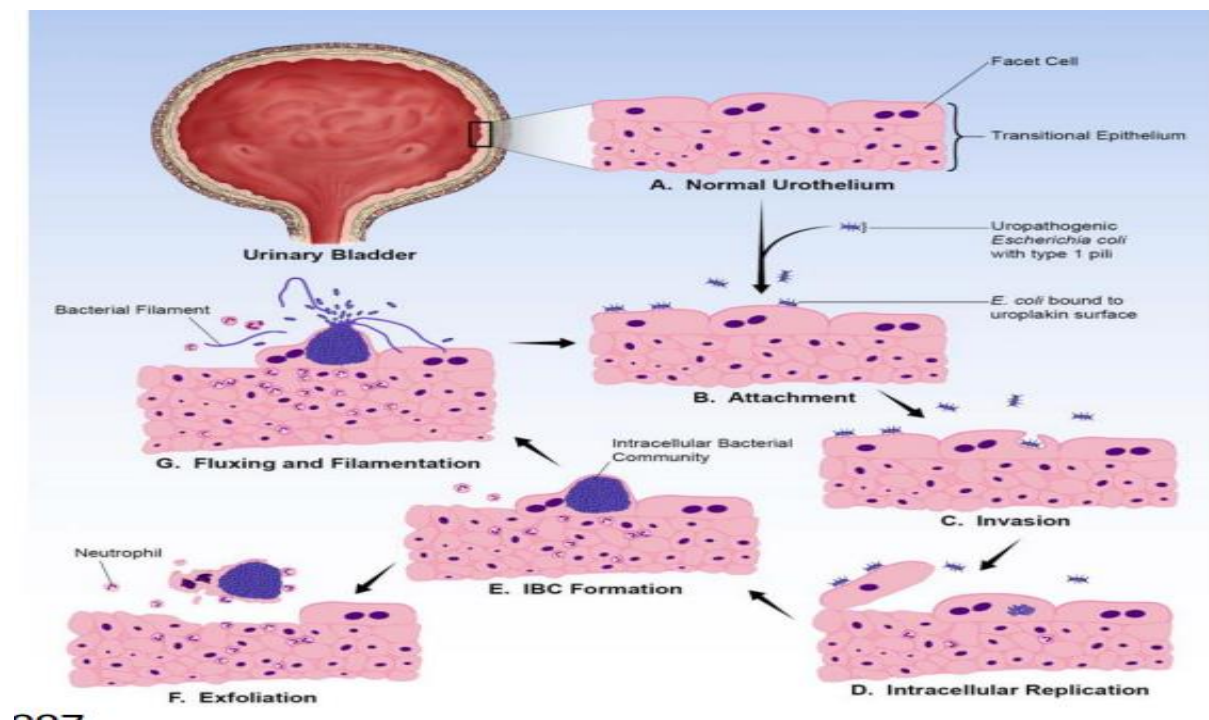


Figure 6 : Infections urinaires récidivantes (Rosen *et al.*, 2007).

1.5.7.4- Infections associées aux plaies chroniques

On estime que 1 à 2 % de la population des pays développés souffrent de plaies chroniques comme les ulcères des membres inférieurs ou les complications cutanées liées au diabète. Soixante pour cent d'entre elles (contre 6 % des plaies aiguës) sont colonisées par des bactéries ou des champignons sous forme de biofilms polymicrobiens tolérants aux antibiotiques qui ralentissent ou empêchent la cicatrisation en favorisant un état d'inflammation (Lebeaux et Ghigo, 2012).



Figure 7: Plais chronique (Anonyme 3).

1.5.8- Lutte contre les biofilms

La communauté microbienne complexe d'un biofilm est très résistante aux antibiotiques et aux assainissant et confère une survie persistante qui est un défi à surmonter. Il existe plusieurs approches conventionnelles pour lutter contre les biofilms, l'élimination physique et/ou mécanique, l'élimination chimique et l'utilisation d'antimicrobiens, de désinfectants ou de désinfectants pour tuer les organismes du biofilm. Cependant, les biofilms sont très résistants à ces approches par opposition aux cellules planctoniques. Il est donc urgent de trouver de nouvelles approches autres que les méthodes conventionnelles

De nombreuses nouvelles méthodes, telles que l'inhibition de la détection du quorum (QS), la perturbation enzymatique, le revêtement bactéricide, la nanotechnologie et l'approche bioélectrique, ont été étudiées avec succès dans le but de trouver des alternatives efficaces pour la prévention et le contrôle des biofilms (Sadekuzzaman *et al.*, 2015).

Les cultures anciennes avaient l'expérience de certaines épices et herbes qui pouvaient aider à conserver les aliments et avaient des effets médicaux. Ainsi, depuis la fin du XIXe siècle, les scientifiques testent expérimentalement si certains composants naturels possèdent des propriétés antimicrobiennes (Cowan, 1999). Cependant, l'activité anti biofilm de tels composés n'a pas été rigoureusement validée. Récemment, des propriétés anti biofilm ont été attribuées à plusieurs composés naturels tels que différents extraits de plantes, huile essentielle (HE) et miel et ces propriétés ont été largement étudiées.

- **Huile essentielle**

Les HE sont des substances volatiles d'origine végétale. En raison de leurs effets conservateurs et antimicrobiens, les HE sont prometteurs et des ingrédients naturels efficaces pour l'industrie alimentaire. Ces huiles sont populaires et ont été largement utilisées depuis l'Antiquité contre une grande variété d'agents pathogènes (Hammer *et al.*, 1999). La plupart des HEs exercent leur effet antimicrobien sur la paroi cellulaire microbienne ce qui conduit à

la destruction des micro-organismes. De plus, il est également rapporté que les HE inactivent les bactéries sans développer résistance antimicrobienne.

1.6- *Laurus nobilis*

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurales et urbaines en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent (**Badiaga, 2011**). Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (**Tabuti et al., 2003**).

1.6.1- Description

Laurus nobilis est une plante aromatique avec des propriétés médicinales pertinentes en raison de sa richesse en composantes chimiques importantes et ses effets thérapeutiques potentiels (**Merghni et al., 2015**).

L. nobilis appartient à la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces. C'est un arbuste de 2 à 10 m, il pousse spontanément dans les forêts du Rif oriental et occidental et le Moyen Atlas. Le laurier noble fait partie des plantes couramment utilisées dans la production des huiles essentielles et extraits aromatiques. Son feuillage persistant est composé de feuilles coriaces lancéolées aux bords ondulés. Brillantes sur la face supérieure, elles sont de couleur vert foncé. Elles sont gorgées d'huiles essentielles qui les rendent incontournables dans les bouquets garnis. Les petites fleurs blanc crème du laurier sauce apparaissent à partir de mars, regroupées en ombelles discrètes. Elles laissent ensuite la place aux fruits, des baies de couleur noire quand elles arrivent à maturité Les feuilles sont exportées annuellement avec une moyenne de 20 tonnes (**USAID, 2008**).

Elles dégagent une odeur aromatique caractéristique lorsqu'elles sont froissées, elles sont condimentaires, très utilisées par l'industrie agroalimentaire surtout par les conserveries des poissons. Aussi, la plante peut être utilisée traditionnellement en phytothérapie. En outre, les feuilles du laurier noble possèdent une activité antioxydante et des propriétés spécifiques capables de conserver les aliments (**Brahmi, 2015**).



Figure 8 : Plante de *Laurus nobilis* (**Anonyme 4**).

1.6.2- Étymologie et systématique

Noms communs sont laurier noble, laurier d'apollon, nommé par les anglophones « Laurel » « sweet bay » et le **nom scientifique** est *Laurus nobilis*.

La position systématique de *Laurus nobilis* (Quezel et Santa, 1962) est comme suit :

Tableau 1 : Classification botanique du *Laurus nobilis*.

Règne	Végétale
Sous règne	Plante vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Nobilis</i>

1.6.3- Composition chimique

Pour pouvoir prétendre à une qualité pharmaceutique et être utilisée en aromathérapie, l'HE de Laurier noble (Tableau2) doit contenir :

Tableau 2 : Composition chimique de *laurus nobilis* (Lobstein, 2017).

Composants	Pourcentage %
1,8-cinéole	35-45
α -pinène	4-6
β -pinène	3-5
Sabinene	4,5
B-lemene β -caryophyllene et α -humulene	3,7
Linalol	6-14
A-terpineol	1,5-4,5
Terpinene-1-ol-4	2,5
Acetate de terpenyle	2,5-8,8
Eugenol	1,5-3
Methyl eugenol	2,5-7,5
Costunolide	1,8
Artemorine	0,5

1.6.4- Huile essentielle de Laurier noble

Huile essentielle de Laurier, également appelée huile de Laurier (Careda et al., 2002). La coupe de graisse des feuilles de Laurier est de 1 à 3 % en poids frais (Demiret et al., 2004). Cette huile essentielle est utilisée comme antirhumatismal, stérilisant, dépuratif, digestif, ainsi que comme composant de parfum (Simić et al., 2004). Ont signalé l'utilisation de l'HE de Laurier contrairement à l'addition à maintenir la nourriture, sur titre sur ses activités anti-oxydantes et antimicrobiennes. En raison de son activité biologique, de ses attributs gustatifs

et depuis ses constituants aromatiques actifs, l'huile essentielle de Laurier a été largement utilisée comme additif dans les industries digestible et cosmétique (**Franco-Vega et al., 2019**).



Figure 9 : Huile essentielle de *Laurus nobilis* (Anonyme 5).

1.6.4.1- Propriétés principales et usage thérapeutique

Laurier qui est un élément essentiel principalement utilisé en médecine traditionnelle pour soigner les troubles de l'appareil digestif ainsi que les douleurs arthrites (**Bendjersi, 2017**) et les maladies de la peau et la cicatrisation de plaies (**Ali-Shtayeh et al., 2000**), la névralgie et le parkinsonisme, du cancer, de l'épilepsie et plusieurs maladies infectieuses (**Peixoto et al., 2017**). Laurier a également des effets anesthésiques, hypothermiques, relaxants musculaires (**Dallmeier et Carlini, 1981**), analgésiques, diaphorétiques, antipyrétiques bien connus. Il est utilisé dans les industries de la parfumerie et du savon (**Jeffrey et al., 2016**).

Ses huiles essentielles sont dotées de pouvoirs antibactérien et antifongique avérés (**Ouibrahim et al., 2015**). Très utilisées par l'industrie agroalimentaire surtout par les conserveries des poissons. Aussi, la plante peut être utilisée habituellement en phytothérapie (**Taarabt et al., 2017**). Ainsi de leur importance médicinale, les feuilles de ces plantes sont utilisées comme agent aromatisant et pour élonger la pérennité de conservation des aliments ; les olives (**Elharas et al., 2013**), les saucisses (**Da Silveira et al., 2014**), les poissons (**Snuossi et al., 2016**) car elles contiennent une activité antimicrobienne (**Nadem et al., 2018**) et une activité anti – oxydante (**Dias et al., 2014**) et d'améliorer en général la sécurité des produits (**Houicher et al., 2016**). Les métabolites les plus divers de la feuille de Laurier, ont été étudiés pour leurs divers effets pharmacologiques tels que les effets cytotoxiques (**Barla et al., 2007**) neuroprotecteurs (**Ham et al., 2011**).

1.6.4.2- Activités d'huile essentielle de Laurier noble

➤ **Activité antibactérienne et antivirale**

L'huile essentielle de Laurier Noble possède une importante activité anti-infectieuse. Cela peut être considéré comme doux par rapport aux autres huiles essentielles, mais toujours intéressant en thérapeutique. De plus, du fait de sa forte concentration en 1,8-cinéole, notamment associé à l'eugénol ou à son groupement méthyle, de nombreuses études ont confirmé in vitro son activité antibactérienne à large spectre. Une étude tunisienne a testé l'HE de laurier contre *E.coli* et *Lactobacillus planétarium* (**Bouzouita et al., 2003**) et une autre a montré son efficacité contre *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* et *E. coli* (**Dadalioglu et al., 2004**).

L'huile de laurier est couramment utilisée pour traiter les plaies dans la bouche. Une étude a confirmé sa capacité anti-staphylococcique : il était capable d'inhiber les souches orales de *Staphylococcus aureus* avec une activité anti-biofilm significative. Par conséquent, il peut jouer un rôle important dans la prévention des infections buccales, (**Merghni et al., 2015**).

L'HE est aussi un virucide puissant. L'association du 1,8-cinéole et de l'alcool monoterpénique est très efficace dans le traitement des pathologies ORL basses d'origine virale (coronavirus, SARS-CoV-2, virus de l'herpès [HSV-1]) (**Loizzo et al., 2008**).

➤ **Activité anti-oxydante**

L'activité anti-oxydante d'un composé correspond à sa capacité anti-oxydante. En fait, la plupart des antioxydants synthétiques ou naturels contiennent des groupes hydroxy phénol dans leur structure, et les propriétés anti-oxydantes sont dues en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres, tels que le radical hydroxyle (OH•) et la matière super oxydante (O• 2) (**Fekih, 2015**).

Matériel et méthodes

2- Matériel et méthodes

La présente étude expérimentale qui a duré deux mois et demi (mars - mai 2023) a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté des SNV, université frères Mentouri Constantine 1 ; en particulier les deux laboratoires de biologie végétale et de microbiologie.

2.1- Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué des feuilles de *laurus nobilis* (*L. nobilis*) (**figure 10**). La plante (1Kg) a été récoltée en Mars 2023 de la région algérienne Constantine sous des conditions naturelles. Après la récolte, la plante a été identifiée par Dr. NOUIOUA Wafa (Laboratoire de phytothérapie appliquée aux maladies chroniques, Faculté des Sciences de la Vie et des Sciences Naturelles, Université de Sétif 1). Puis, les feuilles de *L. nobilis* ont été lavées et séchées dans un endroit sec et bien aéré à une température ambiante et à l'abri du soleil pendant une semaine. Après le séchage, les feuilles ont été broyées par un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine (**figure 10**).



Figure10: Broyat des feuilles de *L. nobilis*.

2.2- Analyses phytochimiques

2.2.1- Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique qualitatif est un moyen pour mettre en évidence la présence ou l'absence des différents groupes chimiques de métabolites primaires et secondaires dans la plante étudiée.

Pour cela, plusieurs tests de caractérisation ont été établis basant sur des réactions de précipitation (formation de complexes insolubles) ou de coloration (formation de complexes colorés) en utilisant des réactifs spécifiques (**Badiaga, 2011**).

2.2.1.1- Détection des composés réducteurs (test de Fehling)

La détection des sucres consiste à préparer 3 tubes à essai ; un témoin et deux tubes test contenant chacun 0,5 mL d'extrait méthanolique. Puis, 0,5 mL de la liqueur de Fehling

(Fehling A+ Fehling B) ont été ajoutés aux deux tubes test. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Bentab et Lasgaa, 2015**).

2.2.1.2- Glycosides cardiaques

1mL de chloroforme est ajouté à 0,5 mL de l'extrait méthanolique, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de l'acide sulfurique(H_2SO_4) indique la présence des glycosides cardiaques (**Yam et al., 2009**).

2.2.1.3- Alcaloïdes

Le test a été réalisé par des réactions de précipitation avec le réactif de Wagner. La manipulation nécessite 2 tubes à essai ; témoin et test, contenant chacun 0,5 ml d'extrait acide. 5 gouttes de réactif de Wagner ont été additionnées au tube test. L'apparition d'un précipité ou d'une floculation indique la présence d'alcaloïdes (**Azzi, 2012**).

2.2.1.4- Polyphénols

La détection des polyphénols a été effectuée selon le protocole suivant ; dans un tube à essai 5 gouttes d'une solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$ à 1%) ont été ajoutées à 0,5 ml de l'extrait méthanolique de *L. nobilis*. Après une agitation vigoureuse du mélange, l'apparition d'une couleur bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence des polyphénols (**Ghedadba, 2015**).

2.2.1.5- Flavonoïdes

Deux à trois gouttes d'hydroxyde de sodium (NaOH 10%) ont été ajoutées à 2 ml d'extrait. Initialement, une couleur jaune foncé est apparue indiquant la présence des flavonoïdes (**Nagaraju, 2019**).

2.2.1.6- Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 0,5 ml de l'extrait, 1 à 5 gouttes de solution de $FeCl_3$ (1%). L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques et bleue-verte indique la présence des tanins galliques (**Bentab et Lasgaa., 2015**).

2.2.1.7 - Saponines

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, des volumes de 1, 2, 3..., 10 mL de la solution à analyser préparé par décoction en milieu aqueux ont été introduits respectivement. Le volume de chaque tube a été ajusté à 10 mL avec de l'eau distillée. Chaque tube a été agité

dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Après 15 min, la hauteur de la mousse produite a été mesurée dans chaque tube.

L'indice de mousse (I) est calculée par la formule suivante :

$$I = 1000 / N (1)$$

N est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm (**Bentab et Lasгаа, 2015**).

2.2.1.8- Quinones libres

La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10 dans un tube à essai contenant 0,5 mL d'extrait, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Dohou, 2015**).

2.2.1.9- Huile essentielle

La détection d'huile essentielle de la plante de *L. nobilis* a été réalisée par l'hydrodistillation. L'apparition des gouttes d'huile à la surface de l'hydrolat indique la présence d'huile essentielle.

2.3- Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique a été obtenu en utilisant la macération ; méthode d'extraction des principes actifs de la plante par dissolution dans un liquide froid.

Une quantité de 40g de la poudre de la plante a été ajoutée à 400 mL de méthanol dans un erlenmeyer, après une agitation vigoureuse à l'aide d'un agitateur électrique pendant 40 min, le mélange a ensuite été couvert par un papier aluminium pour éviter l'évaporation. Après 24h de macération le mélange a ensuite été centrifugé à 4000t/min pendant 20min, puis le mélange a été filtré par un papier wattman N°1 à l'aide d'un entonnoir. Cette opération a été répétée 2 à 3 fois. L'extrait obtenu a ensuite été évaporé à 50° C.

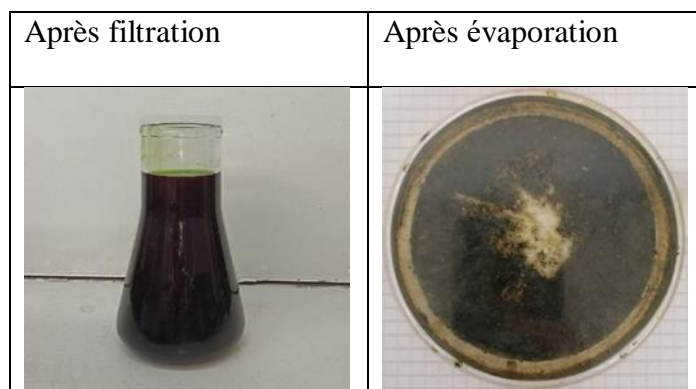


Figure11 : Extrait méthanolique de la plante *L. nobilis*.

2.4- Préparation de l'huile essentielle

L'extraction d'huile essentielle des feuilles sèches de *L. nobilis* a été réalisée par l'hydrodistillation via l'appareil de clevenger (**Figure 12**) qui est porté à ébullition dans le ballon. La vapeur monte dans le montage jusqu'au condensateur et le condensat retombe dans la petite burette d'extraction, l'eau est renvoyée dans le ballon par un canal dont la position diffère selon la densité de l'huile par rapport à l'eau. Après un certain temps, une heure à 3h, l'huile est récupérée dans la burette et son volume a été mesuré directement.

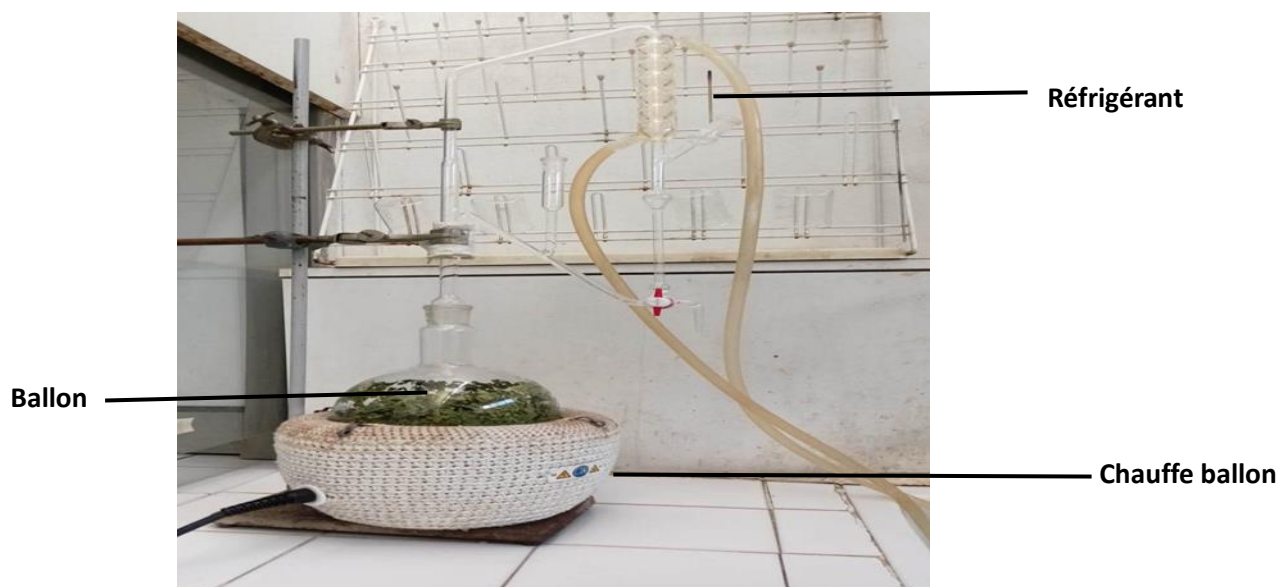


Figure 12:Hydrodistillation de *L. nobilis* par clevenger.

L'opération consiste à introduire une masse végétale de 130g des feuilles de laurier coupées en petits morceaux dans le ballon de 2L puis 1L d'eau distillée a ensuite été ajouté. Le mélange a été porté à l'ébullition pendant 1h. La vapeur chargée d'huile traverse le réfrigérant et se condense en liquide. L'huile a été récupérée et conservée à une température de 4°C à l'abri de la lumière.

2.5- Détermination de rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est déterminé par le rapport entre la masse ou le volume de l'extrait récupéré et la masse de la matière végétale initiale traitée X 100 (Falleh et al., 2008).

$$\text{Rd}\% = \frac{\text{m} \times 100}{\text{M}}$$

Rd %: rendement exprimé en %.

m : masse de l'extrait récupéré.

M : masse de la matière végétale sèche initiale.

2.6- Dosage colorimétrique des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux présents dans la plante a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.6.1- Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des substances phénoliques, en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

- **Protocole**

Le protocole utilisé est décrit par **Singleton et Ross (1965)**. Des dilutions de l'extrait ont été effectuées en premier lieu puis un volume de 200 µl de chaque dilution a été mis dans des tubes à essais. 1mL de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) dilué dans l'eau distillée (ED) est ensuite ajouté dans chaque tube. Après une agitation vigoureuse laisser agir 5 min avant l'ajout de 800 µL de carbonate de sodium à 7,5%. Après 1 heure d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbances à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (SHIMATZO UV-1280) à 760 nm a été effectuée.

La même opération a été réalisée pour l'acide gallique à différentes concentrations (1,56 ; 3,125 ; 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 µg/ml) en introduisant 200 µl de ces dernières dans une série de tubes. Le blanc est représenté par le méthanol (200 µL) additionné du Folin-Ciocalteu (1 mL) et de carbonate de sodium (800 µL).

La concentration des polyphénols totaux contenus dans l'extrait est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique comme standard en termes d'équivalent acide gallique (mg EAG/ g ES).

2.6.2- Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux a été calculée par la méthode de chlorure d'aluminium décrite par **Dirar et al. (2019)**.

- **Principe**

La quantification des flavonoïdes totaux a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Ali-Rachedi et al., 2018**).

- **Protocole**

Des dilutions de l'extrait méthanolique ont été effectuées en premier lieu. Puis 1mL d'une solution d'AlCl₃ (10% dans le méthanol) a été ajouté. Le mélange a été agité et laissé à une température ambiante pendant 30min. L'absorbance a été mesurée à 420 nm contre un blanc préparé. La teneur en flavonoïdes totaux a été calculée en termes d'équivalent quercétine (EQ) par référence au courbe d'étalonnage tracée de quercétine (10, 20, 40, 60, 80 et 100 mg / L).

2.7- Activités biologiques

Les activités biologiques ; antioxydante, antibactérienne et antibiofilm, des extraits obtenus ont également été évaluées.

2.7.1- Activité antioxydante

L'activité antioxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres.

2.7.1.1- Activité antiradicalaire du DPPH (2,2-Diphényl-1-PicrylHydrazil)

- **Principe**

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par le transfert d'un hydrogène. Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune en présence des capteurs de radicaux libres. Il possède une absorption caractéristique à 517 nm.

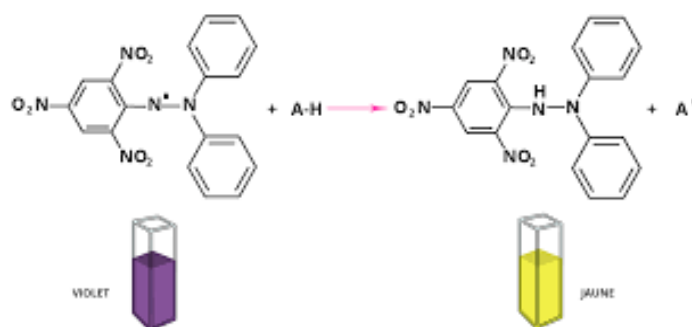


Figure 13 : Réaction de réduction de DPPH en présence d'un antioxydant (**Anonyme 6**).

- **Protocole**

Cette méthode consiste à la préparation de différentes dilutions (0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 mg/mL) des extraits végétaux ; extrait méthanolique et HE, et du standard. Les extraits sont testés contre un blanc qui contient la solution méthanoïque du DPPH incubée dans les mêmes conditions que les échantillons. Le BHT a été utilisé comme témoin positif.

Un volume de 0,75 mL (2,4 mg/ 100 mL méthanol) de la solution méthanolique de DPPH a été mis avec 0,25 mL des différentes solutions. Après l'incubation à l'obscurité pendant 30 min, les absorbances ont été mesurées à 517 nm.

Selon **Sharififar et al. (2007)**, l'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-oxydante} = [(Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{blanc}}] \times 100$$

2.7.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

- **Principe**

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant, cette technique est développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{+2}). En effet, le Fe^{+3} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance de milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (**Hubert, 2006**).

- **Protocole**

0,2 mL de l'extrait et de l'HE à différentes concentrations (de 0,1 à 1 mg/ mL) a été mélangé avec 0,5 mL d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) (annexe 2) et 0,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 0,5 mL d'acide trichloracétique ($C_2HCl_3O_2$) à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. Un aliquote (0,5 mL) de surnageant a été combiné avec 0,5 mL d'eau distillée et 0,1 mL d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé (**Singleton et Rossi, 1965**). Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant « acide ascorbique » dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

2.7. 2- Activité antibactérienne

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne *in vitro* des deux extraits de la plante étudiée ; extrait méthanolique et HE, la méthode de diffusion sur milieu solide en puits a été réalisée pour tester la sensibilité des souches test et aussi pour déterminer les CMI. Cette méthode repose sur l'application de l'extrait et de l'huile essentielle dans des puits créés dans des milieux de cultureensemencés par des bactéries. L'activité antibactérienne, si elle est positive, se manifestera par des zones d'inhibition autour des puits (**Delisle-Houde, 2019**).

- **Souches bactériennes testées**

Les quatre souches bactériennes utilisées dans la présente étude font partie de groupes des microorganismes pathogènes dont deux à Gram positif ; *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et deux à Gram négatif ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Elles ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des SNV, Constantine 1.

- **Milieux de culture utilisés**

Selon les méthodes employées, les milieux de cultures suivants ont été utilisés ; Gélose Mueller Hinton, Chapman, Gélose nutritif (GN), Bouillon nutritif (BN).

- **Réactivation des souches bactériennes**

A partir des souches conservées, les bactéries à tester sontensemencées sur des boites de Pétri contenant les milieux sélectifs appropriés aux souches bactériennes utilisées. Puis incubés à 37°C pendant 24 h afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées (**Lakhdar, 2015**).

- **Préparation de l'inoculum bactérien**

Après 24 heures d'incubation à 37 °C, une ou deux colonies bien isolées et parfaitement identiques de chaque souche bactérienne sont prélevées à l'aide de l'anse de platine stérile et transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile 0,9%. Les suspensions bactériennes sont ensuite agitées au vortex afin d'avoir une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5 (10^7 cellules/mL) (**Boussena, 2019**).

- **Ensemencement des boites de Pétri**

Tout d'abord, différentes concentrations de l'extrait méthanolique (12,5 ; 25 ; 50 ; 100 et 200 mg/mL) et de l'HE (6,5 ; 12,5 ; 25 ; 50 et 100 %) ont été préparées en utilisant le DMSO stérile. Ensuite, le milieu de culture gélosé Mueller-Hinton a été coulé aseptiquement. Après solidification et à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans les suspensions bactériennes standardisées, toute la surface des boites de Pétri a étéensemencée uniformément.

Après séchage de la surface (environ 5 min), des puits de 6 mm ont été creusés à l'aide d'une pipette Pasteur. 25µl de chaque concentration des extraits ont ensuite été versés délicatement dans chaque puits à l'aide d'une micropipette.

Parallèlement, un autre puits au centre de la boîte a été réalisé pour mettre le DMSO (25µl) comme témoin négatif pour confirmer son non activité sur les germes. Dans une autre boîte, l'ATB (chloramphénicol 30µg/ disc) a été déposé tout seul comme témoin positif. Les boîtes de Pétri ont ensuite été placées à basse température + 4°C pendant 15 à 30 min afin de permettre la pré-diffusion des extraits dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier. Ultérieurement, les boîtes ont été retirées du réfrigérateur et les incubées à 37°C pendant 24 heures (Toty et al., 2013).

2.7.3- Activité antibiofilm

La technique de coloration au cristal de violet a été utilisée pour détecter la formation de biofilm. Cette technique est parmi les méthodes indirectes d'évaluation de la production du biofilm (Djordjevic et al., 2002). La couleur de l'adsorbant est directement liée à la densité du biofilm formé, et sa solubilité permet sa quantification.

- Préparation des suspensions bactériennes initiales

La souche bactérienne *S. aureus* a premièrement été ensemencée sur gélose nutritive (GN). Puis les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Quelques colonies ont été suspendues dans le bouillon nutritive exempte de l'extrait et de l'huile ou additionné de différentes concentrations de l'extrait (6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 µg/ml) et de l'huile (6,5 ; 12,5 ; 25 ; 50 et 100 %). Les densités optiques (DO à 600 nm) des suspensions résultantes sont ajustées à la valeur de 0,20 à l'aide d'un spectrophotomètre.

- Test de formation de biofilms en tubes

Les suspensions bactériennes ainsi préparées ont été réparties dans des tubes en polystyrène de 5 mL à raison de 2 mL de suspension par tube. Les tubes ont ensuite été incubés à 37°C pendant 24h.

- **Lecture**

Après incubation, les tubes ont été retirés et l'absorbance de la culture bactérienne résultante a été mesurée à 600 nm pour chacun des tubes. Ces derniers ont alors été débarrassés de la culture bactérienne après rinçages successifs à l'eau distillée (ED). La biomasse fixée sur les parois du tube (formation de biofilm) a été révélée après coloration à l'aide de violet de gentiane à 1 %. Après un temps de contact de 1 heure du temps, l'excès de colorant a été

éliminé suivi d'un lavage abondant des parois du tube à l'ED (jusqu'à l'obtention des gouttes transparentes). Le CV fixé sur les parois du tube a ensuite été solubilisé à l'aide d'une solution constituée d'un mélange éthanol-acétone (75 -25) pendant 1 heure. Puis, l'absorbance de la solution obtenue a été mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage de réduction du biofilm. Il est calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage de réduction (\%)} = \frac{\text{DO témoin} - \text{DO test}}{\text{DO Témoin}} \times 100.$$

Résultats et discussion

3- Résultats et discussion

3.1- Rendement d'extraction

Dans la présente étude, deux différentes méthodes d'extraction ont été effectuées ; la macération par le méthanol et l'hydrodistillation par clevenger. Ces deux méthodes ont permis d'extraire des métabolites bioactifs à partir d'une plante du genre laurier; *Laurus nobilis* (*L. nobilis*).

Le tableau suivant (**Tableau 3**) indique les rendements d'extraction et les caractéristiques des extraits obtenus ; extrait méthanolique et huile essentielle (HE).

Tableau 3 : Rendement et caractéristiques des extraits de *Laurus nobilis* (*L. nobilis*).

Extraits	Texture	Couleur	Rendement %
Extrait méthanolique	Poudre fine	Vert	50,70 ± 3,53
Huile essentielle (HE)	Liquide huileux	Jaune claire	1,15 ± 0,2

D'après les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus (tableau 3), les valeurs du rendement d'extraction montrent une variation très importante entre les deux extraits selon la méthode d'extraction. Où, l'extrait brut méthanolique de *L. nobilis* a donné le rendement le plus élevé de l'ordre de 50,70 ± 3,53 % par contre l'HE a révélé le rendement le moins important avec un pourcentage de 1,15 ± 0,2 %.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, l'extrait méthanolique des feuilles de *L. nobilis* a montré un rendement (50,70%) supérieure à celui d'une autre étude sur le même extrait de la plante étudiée (**Boutoumou et Ziat, 2020**) où un faible rendement de 21,94% a été enregistré.

En outre, le rendement d'HE (1,15 %) de ce travail représente un pourcentage élevé par rapport à ceux de l'étude de **Harchi et Ichebouben (2019)**, sur la même plante, qui a révélé des rendements moins élevés de l'ordre de 0,07 ; 0,20 et 0,23% à **Azeffoun**, à **Attaba** et à **Birkhadem**, respectivement. En revanche, **Haddouchi et al. (2009)** utilisant la même méthode d'extraction, hydrodistillation, à l'aide d'un appareil de type Likens Nickerson sur *L. nobilis* récoltée de la région d'El Kala ont obtenus une valeur plus proche que celle de cette investigation de 1,2 %.

Cette variation des rendements d'extraction est principalement due à la période de récolte, la préparation de la plante, la méthode d'extraction et les conditions climatiques ainsi géologiques dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Lee et al., 2003).

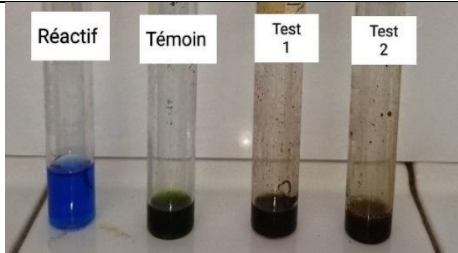
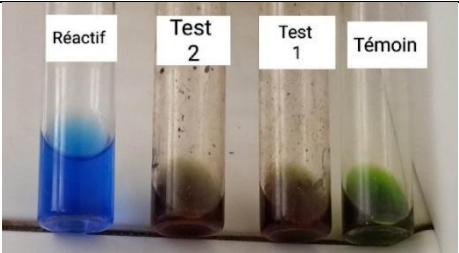
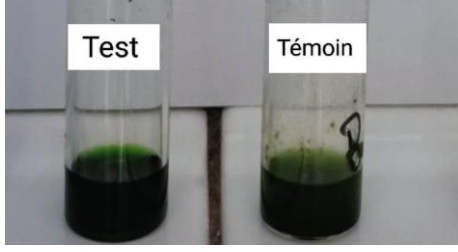
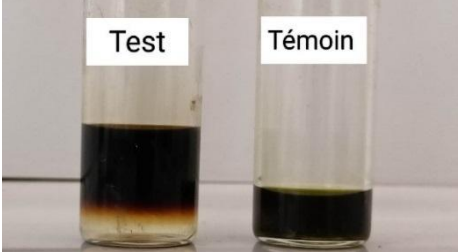
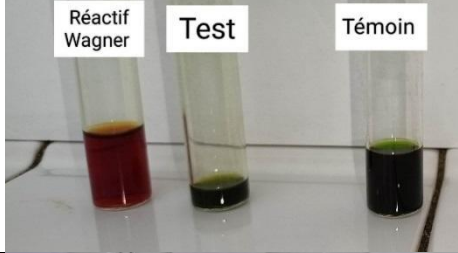
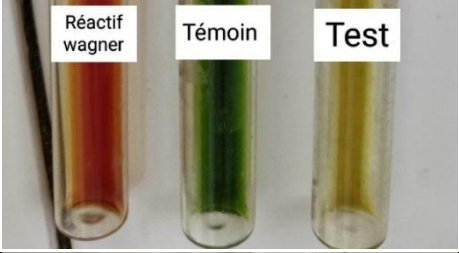
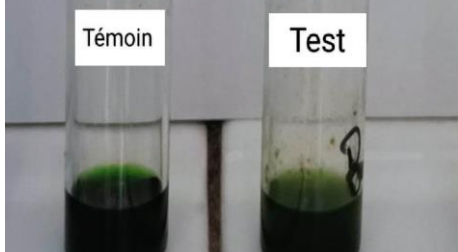
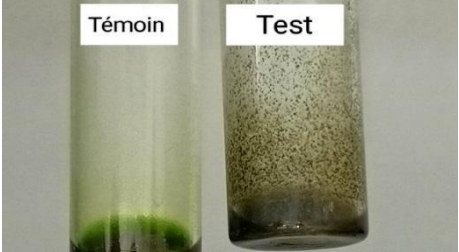
3.2- Analyses phytochimiques

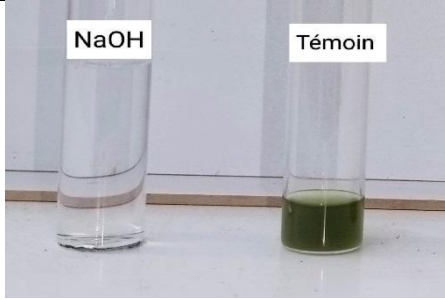
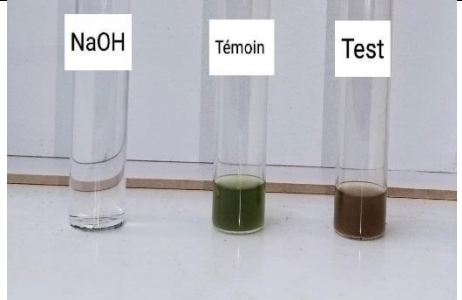
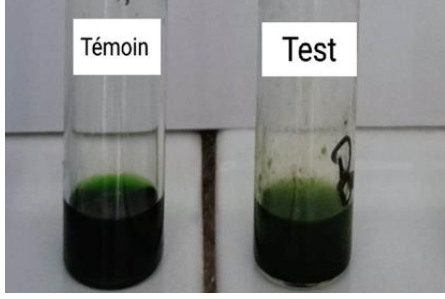
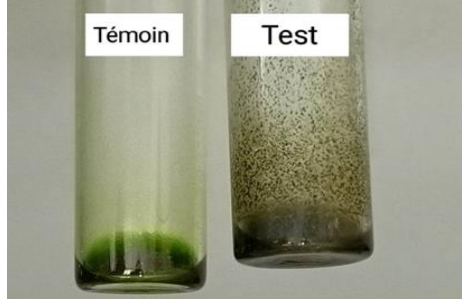


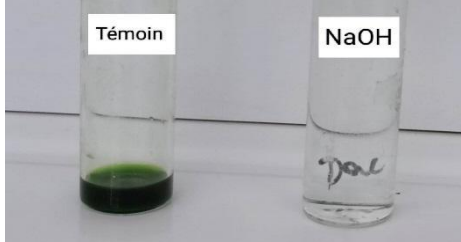
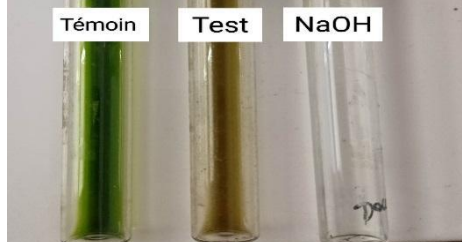

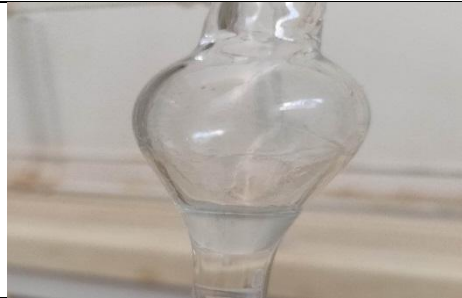
3.2.1- Criblage phytochimique

Plusieurs tests préliminaires ont été effectués sur les feuilles de *L. nobilis* pour connaître leur composition chimique en métabolites. La présence de ces métabolites, primaires et secondaires, est indiquée par un changement de couleur ou une précipitation.

Le tableau ci-dessous représente les résultats obtenus de différents tests phytochimiques des feuilles de *L. nobilis*.

Tableau 4 : Criblage phytochimique des feuilles de *L. nobilis*.

Composés	Avant	Après	Résultat
Composés réducteurs			Présence d'un précipité rouge brique (+++)
Glycosides cardiaques			Apparition d'une coloration brun-rougeâtre (+++)
Alcaloïdes			Formation d'un précipité ... (+++)
Polyphénols			Apparition d'une coloration vert noirâtre (+++)

Flavonoïdes			Apparition d'une coloration jaune foncé (+++)
Tanins			Apparition d'une coloration vert foncé (+++)
Saponines			Apparition de la mousse (+++)
Quinones libres			Phase aqueuse vire au jaune (+++)
Huile essentielle			Apparition des gouttes d'huile (+++)

D'après les résultats de criblage phytochimique de la plante *L. nobilis* (tableau 4), plusieurs groupes phytochimiques ont été détectés ; composés réducteurs, glycosides cardiaques, alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols, tannins catéchiques, saponines, quinones libres et huile essentielle. Ces composés chimiques abondants assurent des activités biologiques attirantes, particulièrement les composés phénoliques ; flavonoïdes, polyphénols et tanins.

Ces résultats sont similaires à ceux de **Haddouchi et al. (2013)** qu'ont montré la présence des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des quinones libres, des alcaloïdes, des

composés réducteurs, d'huile essentielle dans la même plante ; *L. nobilis*. Par ailleurs, l'étude de **Kesiya et al. (2015)** a également révélé la présence des saponines et des alcaloïdes mais n'a pas indiqué la présence des flavonoïdes et des polyphénols. Cette variation des résultats due à plusieurs facteurs ; la partie de la plante testée, la période et la région de récolte et les conditions climatiques (**Lee et al., 2003**).

Les composés bioactifs présents dans *L. nobilis* confèrent à cette plante une série d'activités biologiques éventuelles. En effet, les huiles essentielles ont en particulier montré des effets antimicrobiens contre de nombreuses souches pathogènes ; bactériennes et fongiques, y compris *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (**Bouchaale et Zouaoui, 2015 ; Ould Yeroi, 2015**). Les flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires, tandis que les tanins ont démontré des effets antiviraux et anticancéreux potentiels (**Beloued, 2003**).

3.3- Dosage colorimétrique des composés phénoliques

La quantification des composés phénoliques ; polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu et la technique de trichlorure d'aluminium, consécutivement, où l'acide gallique et la quercétine ont respectivement été utilisés comme des standards.

3.3.1- Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique des feuilles de *L. nobilis* a été calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ; $Y = 5.67x + 0.0962$ avec $R^2 = 0,9947$ (figure 14).

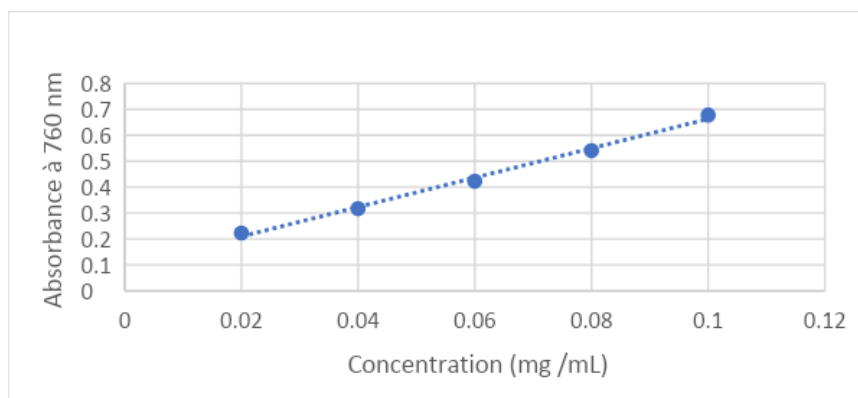


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

D'après le résultat obtenu, l'extrait méthanolique des feuilles de *L. nobilis* a représenté une teneur en polyphénols totaux très élevée de $563,63 \pm 3,53$ mg EAG/g ES, donc ce résultat confirme la grande richesse des feuilles de *L. nobilis* en polyphénols.

Les composés phénoliques sont des classes de molécules caractérisées, comme l'indique son nom, par la présence de plusieurs groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, ils sont solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants moins polaires (Macheix et al., 2005). Ainsi, l'extrait méthanolique a donné une teneur très élevée lors d'une forte polarité du solvant utilisé, méthanol.

Le résultat de cette étude a été supérieur à celui trouvé par Yakhlef (2010) qui a obtenu une teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de la même plante récoltée de la région de Batna de l'ordre de $166,81 \pm 8,69$; mg EAG/g. Aussi que les résultats d'Allaoui (2022) ont montré que la teneur en phénols totaux d'extrait méthanolique de la même plante était de $422,22 \pm 0,05$ mg EAG/g qui est inférieur à celle de ce travail mais plus au moins proche.

Cette variation est liée également aux facteurs climatiques et environnementaux, période de récolte, polarité de solvant utilisé, température et temps d'extraction (Popovici et al., 2009).

3.3.2- Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique de *L. nobilis* a été calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la quercétine ; $Y = 2,9185x - 0,0157$ avec $R^2=0,9773$ (figure 15).

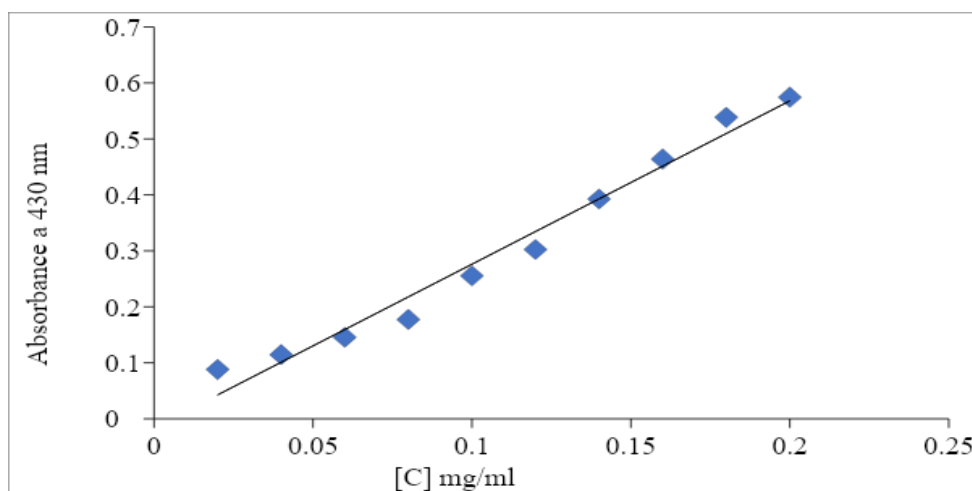


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

D'après nos résultats du tableau 5, le dosage des flavonoïdes totaux des feuilles de *L. nobilis* révèle que l'extrait méthanolique présente une teneur moyenne de $19,36 \pm 0,02$ mg EQ/g ES.

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique de *L. nobilis* est considérablement plus élevée que celle trouvée par **Yakhlef (2010)** avec une valeur de $4,75 \pm 0,21$ mg EQ/g ES, en revanche et d'après les résultats de **Boutoumou (2020)**, la teneur en flavonoïdes est supérieure ($24,07 \pm 0,14$ mg EQ/g ES) à celle de ce travail.

Ces différences de teneur en flavonoïdes entre les extraits peuvent être s'expliquer par la polarité et la sélectivité des solvants utilisés dans la préparation des extraits car les flavonoïdes constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques, dont certaines classes sont solubles dans les solvants polaires tandis que, d'autres (les flavonoïdes aglycones) sont solubles dans les solvants apolaires, donc on peut dire que *L. nobilis* L. est riche en flavonoïdes polaires que apolaires (**Macheix et al., 2006 ; Kaurinovic et Vastag , 2019 ; Gulcin, 2020**).

On conclut que la plante *L. nobilis* est riche en composés phénoliques ; mais en polyphénols qu'en flavonoïdes (**tableau 5**).

Tableau 5 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans l'extrait méthanolique des feuilles de *L. nobilis*.

Polyphénols totaux (mg EAG /g ES)	Flavonoïdes totaux (mg EQ/ g ES)
$563,63 \pm 3,53$	$19,365 \pm 0,02$

3.4- Activités biologiques

3.4.1- Activité antioxydante

Deux différentes méthodes ; DPPH et FRAP, ont été appliquées sur les deux extraits obtenus ; méthanolique et huile essentielle, pour évaluer leurs potentiel antioxydant.

3.4.1.1- Activité antiradicalaire du DPPH (2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyl)

Les résultats obtenus nous ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de concentrations de l'extrait et de l'huile (**figures 16 et 17**).

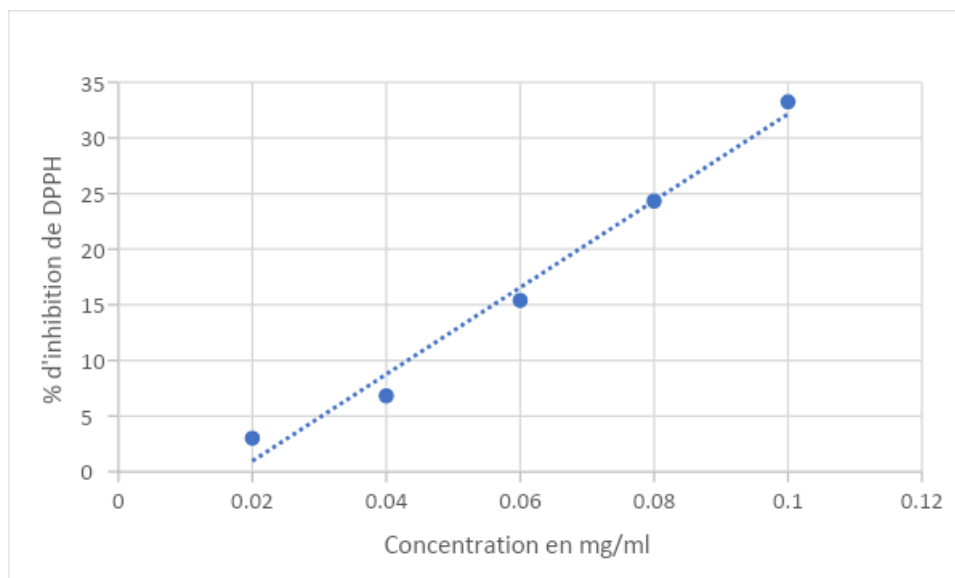


Figure 16 : Courbes des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la Concentration d'extrait méthanolique.

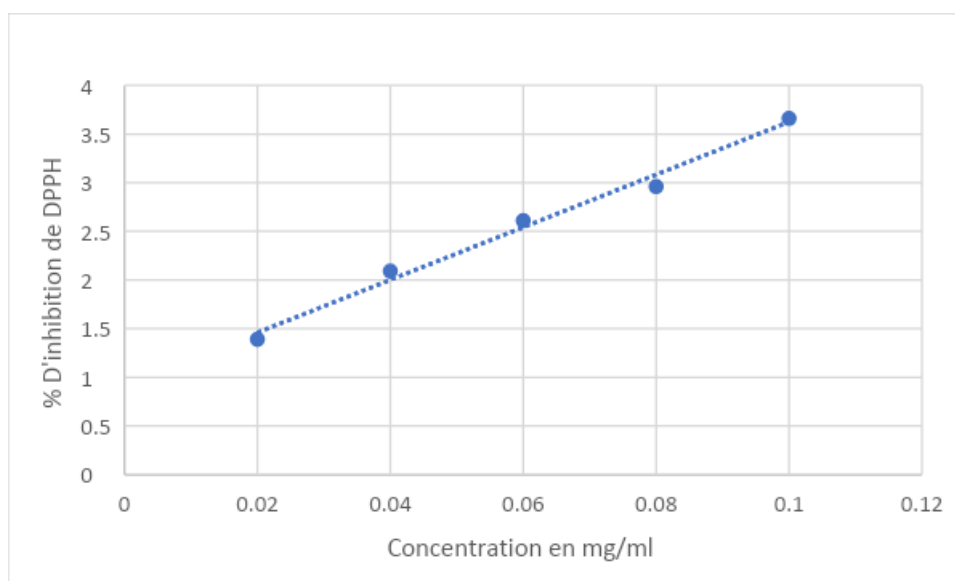


Figure17 : Courbes des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la Concentration d'huile.

Ce test est largement utilisé pour évaluer la capacité des substances à neutraliser les radicaux libres et à prévenir l'oxydation.

A partir de la courbe de pourcentage d'inhibition de DPPH qu'elle a permis de calculer l'IC₅₀ qui est définie comme étant la concentration du substrat nécessaire à diminuer 50% d'absorbance de la solution initiale du DPPH. La valeur d'IC₅₀ de l'extrait méthanolique est de 0,14 mg/mL ce qui représente une activité antioxydante plus importante par rapport

à celle de l'étude de **Rebzani (2014)** (0,7 mg/ml), par contre l'HE de laurier a montré une concentration de 1,81 mg/mL qui a une activité inférieure à celle de l'étude de **Ouibrahim et al. (2015)** qui a montré une valeur de 1,55mg/mL.

A titre de comparaison, la valeur d'IC₅₀ de l'antioxydant synthétique BHT (annexe 2) utilisé comme contrôle positif était de 0,041 mg/ml.

Ces résultats ont montré une activité significative de neutralisation des radicaux libres, indiquant que *L. nobilis* est une source potentielle d'antioxydants.

3.4.1.2- Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

Les résultats de l'absorbance de nos extraits ; méthanolique et HE, sont respectivement illustrés dans les courbes des figures 18 et 19 en fonction de concentration.

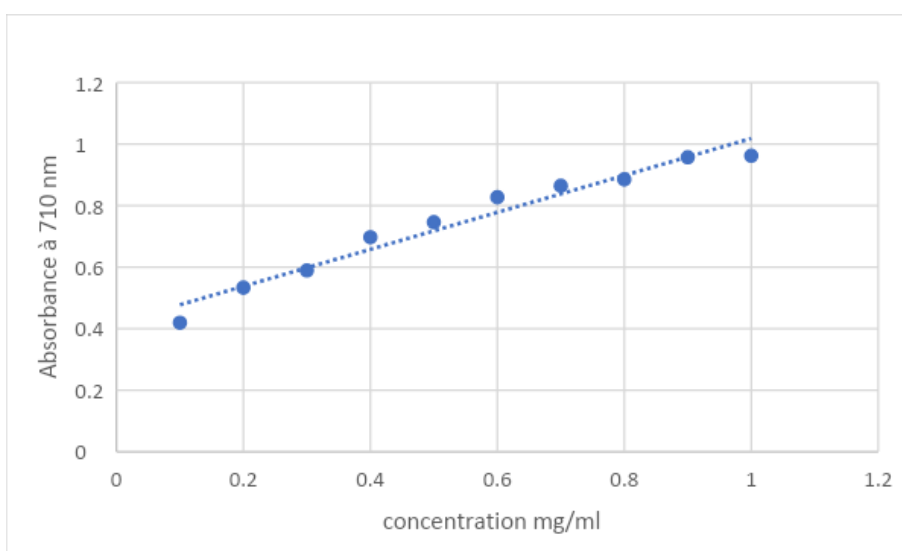


Figure 18 : Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait (FRAP).

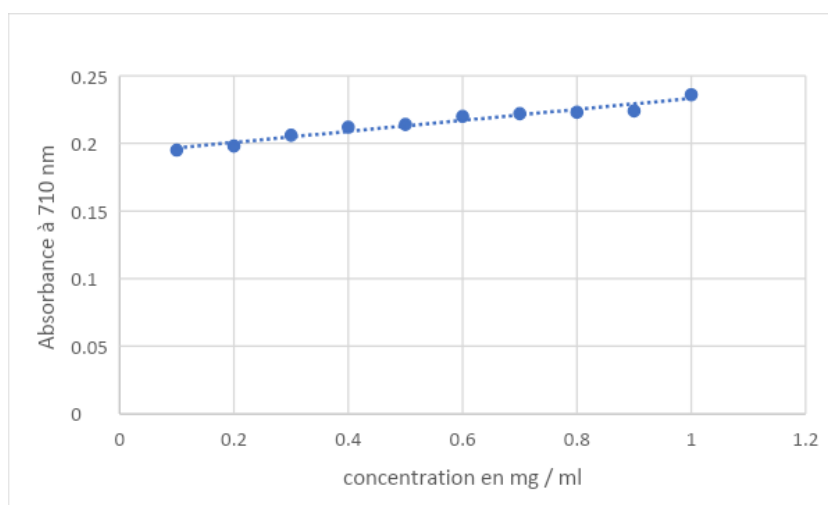


Figure 19 : Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'huile (FRAP).

Les résultats du FRAP sont exprimés en EC₅₀. L'extrait méthanolique a exhibé une très bonne activité réductrice (EC₅₀=0,13 mg/mL) supérieure à celle du standard (acide ascorbique ; EC₅₀= 0,684 mg /ml, annexe III) et de l'HE qui a montré une valeur d'EC₅₀ égale à 7,55 mg/ml.

Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est dépendant de leur concentration ; plus que l'extrait est riche en composés phénoliques, plus qu'il a un pouvoir réducteur élevé (**Amarowicz et al., 2004**). Cependant, il est important de noter que l'activité antioxydante peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que la région géographique d'origine du laurier noble, les conditions de culture, la méthode d'extraction et la concentration de l'extrait utilisé.

En conclusion, *L. nobilis* a montré une activité antioxydante prometteuse dans des études utilisant le test DPPH. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les composés responsables de cette activité, évaluer l'efficacité dans différentes conditions et explorer les applications potentielles dans le domaine de la santé et de la nutrition.

3.4.2- Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne se traduit par une zone d'inhibition environnante Puits contenant les extraits obtenus ; extrait méthanolique et huile essentielle de la plante *L. nobilis*. Différentes concentrations ont été étudiées. Le diamètre des zones d'inhibition varie d'une bactérie à l'autre, et d'un extrait à l'autre. Les tableaux 6 et 7 résument les résultats obtenus.

Tableau 6 : Zones d'inhibition de la plante *L. nobilis* ; extrait méthanolique, huile essentielle, chloramphénicol et DMSO sur des souches bactériennes infectieuses.


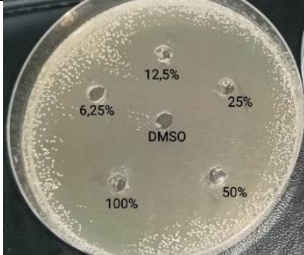
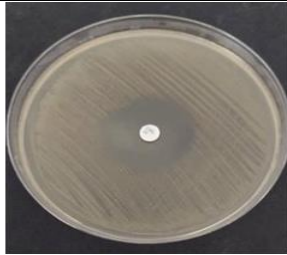
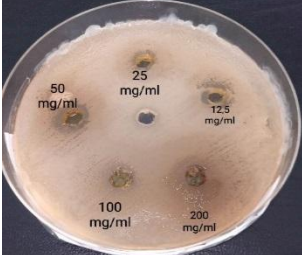


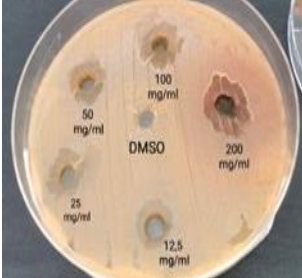

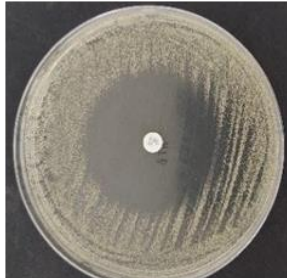

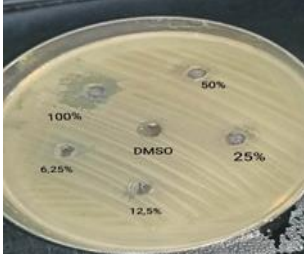
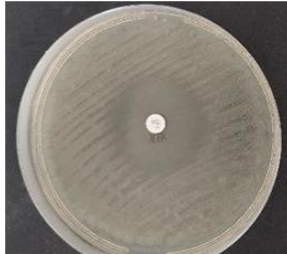
Bactéries	Extrait méthanolique	Huile essentielle	Antibiotique
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Bacillus cereus</i>			
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			

Tableau 7 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par l'extrait méthanolique et l'huile essentielle de *L. nobilis*, le chloramphénicol et le DMSO.

Extrait	[C]mg/ml	Souches bactériennes			
		Gram +		Gram -	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Extrait méthanolique	12,5	11±0,10	10±0,04	14±0,01	16±1,10
	25	12±0,03	10±0,04	15±0,03	16±0,10
	50	12±0,20	12±0,02	17±0,01	20±0,03
	100	14±0,39	12±0,42	22±0,07	23±0,09
	200	16±0,01	15±0,01	30±0,41	32±0,01
Huile Essentielle %	6,25	16±0,03	10±0,01	13±0,01	00±0,01
	12,5	18±0,04	12±0,34	13±0,02	00±0,09
	25	24±0,06	14±0,22	17±0,01	00±0,30
	50	30±0,20	22±0,08	17±0,50	00±0,07
	100	32±0,23	24±0,21	22±1,20	15±0,30
ATB (30 µg/disque)		32±1,50	35±0,73	36±0,45	30±0,07
DMSO (25µl)		00±00	00±00	00±00	00±00

L'activité antibactérienne se traduit principalement par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des puits qui sont remplis par l'extrait ou l'huile étudiée. Où, les diamètres des zones d'inhibition diffèrent selon la concentration, l'espèce étudiée et l'extrait utilisé.

Les résultats obtenus dans les tableaux 7 et 8 ont montré que les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa* ont une forte sensibilité à l'extrait méthanolique de *L. nobilis*, qui avaient des diamètres d'inhibition de 14±0,01 à 30±0,41 mm et de 16 ±1,10 à 32±0,01 mm, respectivement. Par contre, les souches *S. aureus* et *B. cereus* ont été les plus résistantes à l'extrait de notre plante avec des zones d'inhibition de 11 ±0,10 à 16±0,01mm et de 10±0,04 à 15±0,01 mm, consécutivement. En revanche, l'HE a révélé une forte activité contre les Gram+ que les Gram-.

La variation des diamètres des zones d'inhibition des différentes concentrations confirme l'activité antibactérienne qui est due aux différents agents chimiques présents dans l'extrait tel que les composés phénoliques qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (Rojas et al., 1992 ; Marjorie, 1999), ces composés causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité (Lambert., 2001). Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Zaïka (1988) et Ali Shtayeh et al. (1988) qui ont montré que la résistance des bactéries à Gram⁺ aux extraits végétaux était plus que les bactéries à Gram⁻.

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la concentration la plus basse rapportée pour donner une inhibition complète des bactéries testées après 24 heures d'incubation (Wan et al., 1998 ; Canillac et Mourey, 2001). En effet, pour les quatre souches étudiées, la gamme des CMI de nos extraits est inférieure à 12,5 mg/mL.

Nos résultats ont révélé d'une part que l'huile essentielle présentait une activité antibactérienne maximale contre les souches *S. aureus* et *B. cereus* avec des zones d'inhibition de (16±0,03 à 32±0,23 mm) et de (10±0,01 à 24±0,21 mm), respectivement. D'autre part l'huile de *L. nobilis* a montré une activité modérée contre les souches ; *E. coli* et *P. aeruginosa*, avec des zones d'inhibition de (13±0,01 à 17±0,50 mm) et de 15±0,30 mm, respectivement.

Cette différence de sensibilité a montré la grande efficacité d'huile de *L. nobilis* sur les bactéries à Gram⁺ plus que les bactéries à Gram⁻ sauf la souche *P. aeruginosa* qui reste insensible, donc l'activité biologique de l'huile essentielle doit être liée à sa composition chimique, les groupes fonctionnels de composés basiques (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre ses éléments (Goudjil et al., 2015). En effet, la composition d'huile varie souvent selon la zone géographique ou la source alors que Sivropoulou et al. (1997) affirme l'origine de l'activité antibactérienne bactériostatique vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* est le composé majoritaire de l'HE de laurier, le 1,8-cinéole ou eucalyptol ça ce qui confirme l'efficacité d'huile sur *S. aureus* où la CMI déterminé pour cette souche est ≤ 6,25 % .

A partir de nos résultats on conclut que l'activité antibactérienne maximale de l'extrait méthanolique de *L. nobilis* est sur les bactéries à Gram⁻ contraire à l'HE qu'il a un pouvoir anti-staphylococcique. Cette HE est couramment utilisée pour traiter les plaies buccales lors de sa capacité d'inhiber les souches buccales de *S. aureus* avec une importante activité antibiofilm. Pour cela on a choisi cette souche pour tester l'effet antibiofilm d'HE de *L. nobilis*.

3.4.3- Activité antibiofilm

L'activité antibiofilm de l'extrait et de l'huile essentielle de *L. nobilis* a été réalisée par la technique de coloration par cristal de violet, les résultats de pourcentage de réduction du biofilm ont été montrés dans les histogrammes des figures 20 et 21.

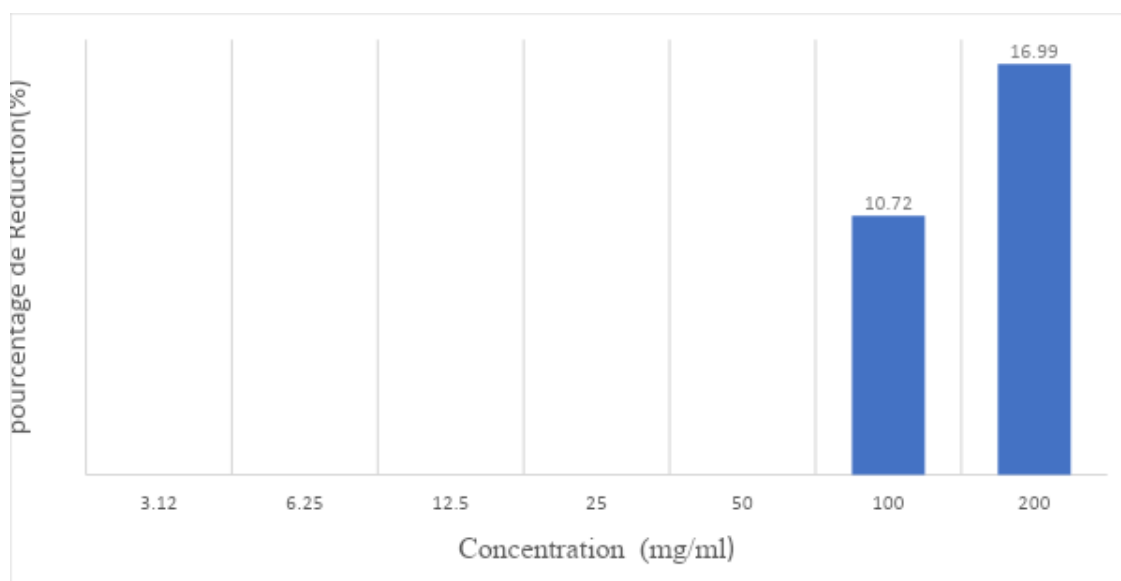


Figure 20 : Activité antibiofilm de l'extrait méthanolique de *L. nobilis*.

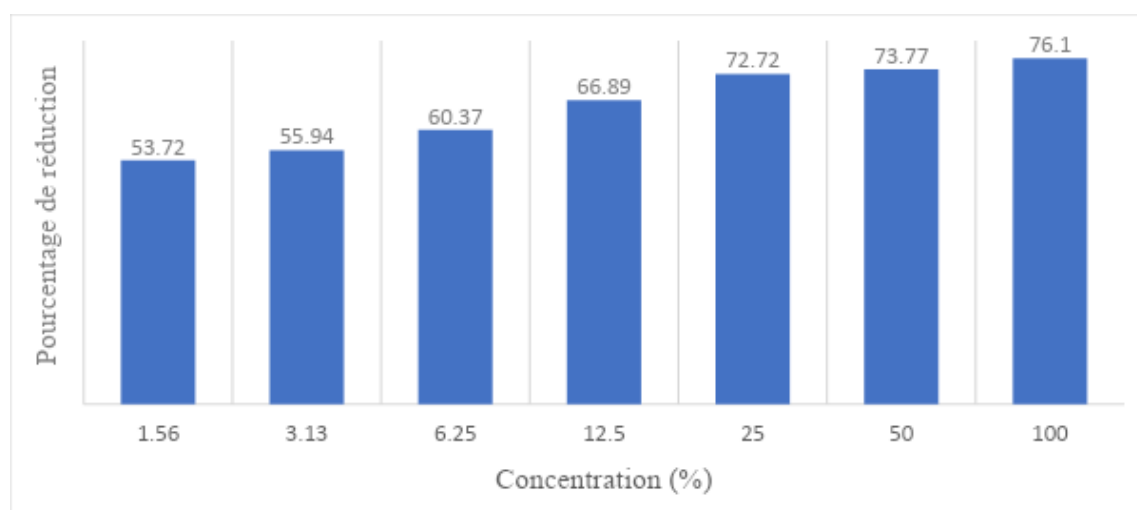


Figure 21 : Activité antibiofilm d'HE de *L. nobilis*.

Dans cette étude, l'efficacité de l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle de *L. nobilis* sur le biofilm de *Staphylococcus aureus* a été testée. D'après nos résultats (Figures 20 et 21), l'extrait méthanolique et l'HE de *L. nobilis* ont exercé un effet anti-attachement avec un pourcentage d'inhibition du biofilm de 10,72 à 16,99 % et de 53,72 à 76,1 %, respectivement.

Dans notre étude, la CMI nécessaire pour inhiber la formation du biofilm bactérien pour l'HE est inférieur à 1,56% et pour l'extrait méthanolique est égale à 100 mg/ml.

Plusieurs études ont évalué l'activité antibiofilm de l'HE et de l'extrait méthanolique de *L. nobilis* contre *S. aureus*. Dans une étude menée par **Merghni et al. (2015)**, l'HE de laurier noble a montré une activité significative contre la formation des biofilms de *S. aureus*,

réduisant leur développement et leur adhésion à la surface avec des pourcentages de réduction allant de $79,6 \pm 2,27$ à $95,2 \pm 0,56$ %. De plus, une autre étude de **Molina et al. (2020)** a montré un pourcentage de réduction de 76 % à 55 %. D'autre part, bien que l'extrait méthanolique ait également montré une certaine activité, celle-ci était relativement moins prononcée. Il convient de noter que les résultats peuvent varier en fonction des conditions expérimentales, de la concentration des extraits utilisés, des méthodes d'évaluation de l'activité antibiofilm, etc. (**Lee et al., 2003**).

Différentes compositions chimiques de l'HE et des extraits méthanoliques peuvent affecter leur activité antibiofilm. L'HE de *L. nobilis* est riche en composés volatils, tels que les terpènes, qui sont associés à des propriétés antibactériennes et antibiofilm. Ces composés volatils peuvent plus facilement pénétrer la matrice extracellulaire des biofilms et interagir avec les bactéries, inhibant ainsi leur adhésion et leur croissance (**Sipailiene et al., 2006 ; Oussou, 2009**). Les extraits de méthanol peuvent contenir une gamme plus large de composés, y compris des polyphénols, qui peuvent également présenter une certaine activité antibiofilm, mais probablement à des niveaux de composés volatils inférieurs à ceux présents dans les huiles essentielles (**Chahal et al., 2017**).

Les deux formes d'extraits peuvent avoir des mécanismes d'action différents, ce qui entraîne une efficacité différente contre les biofilms de *S. aureus*. Les composés présents dans les huiles essentielles peuvent perturber l'adhésion des bactéries au substrat, inhiber la formation de biofilms et avoir un effet bactéricide direct sur les cellules bactériennes. D'autre part, les composés de l'extrait méthanolique peuvent agir en perturbant la matrice extracellulaire des biofilms et en interférant avec le mécanisme d'adhésion des bactéries (**Rabin et al., 2015**).

Ces résultats déterminent que le laurier noble pourrait probablement être utilisé pour prévenir la formation de biofilms de *S. aureus* ou pour perturber les biofilms existants. Les biofilms de *S. aureus* sont essentiellement préoccupants car ils sont associés à des infections chroniques et à une résistance accrue aux antibiotiques (**Barghan et al., 2014**).

Conclusion et perspectives

4- Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était d'étudier les caractéristiques phytochimiques et d'évaluer les différentes activités biologiques de l'extrait méthanolique et de l'HE de *L. nobilis* dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance de cette espèce végétale dans le but d'inhibition de la formation du biofilm de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

Au terme de cette étude et à travers les résultats obtenus, le screening phytochimique de *L. nobilis* a permis de détecter les principaux métabolites primaires et secondaires ; composés réducteurs, glycosides cardiaques, alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols, tannins, saponines, quinones libres et huile essentielle.

Par la suite, la quantification des composés phénoliques a révélé des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux importantes. En outre, l'activité anti-oxydante de l'extrait et de l'HE de *L. nobilis* par deux méthodes ; DPPH et FRAP, a montré que l'extrait méthanolique avait une forte activité anti-oxydante que l'HE. Cette puissante activité est significativement et fortement liée à la richesse de l'extrait en composés phénoliques ; particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes.

Par ailleurs, à travers les résultats de l'activité antibactérienne qui a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu solide (méthode des puits), l'extrait méthanolique a enregistré un excellent effet sur les bactéries Gram – avec des CMI $\leq 12,5$ mg/mL par contre l'HE de *L. nobilis* ayant une forte activité sur les Gram + avec des CMI $\leq 6.25\%$.

Afin d'évaluer l'effet des extraits végétaux obtenus de *L. nobilis* comme des nouvelles stratégies de lutte contre la résistance bactérienne, une activité anti-biofilm a été réalisée par la technique de coloration par cristal de violet. Les résultats obtenus ont montré que l'HE de *L. nobilis* a une forte activité inhibitrice de biofilm de *S. aureus* avec un pourcentage de réduction très élevé par rapport à ceux de l'extrait méthanolique.

On conclut que *L. nobilis* est riche en molécules bioactives qui peuvent être utilisées comme des remèdes thérapeutiques naturels contre les infections bactériennes, particulièrement le biofilm de *S. aureus*, en évitant l'utilisation massive des antibiotiques synthétiques qui cause la résistance bactérienne.

Cependant, ces résultats restent insuffisants pour estimer s'il est possible d'utiliser cette plante comme un remède thérapeutique pour réduire la résistance bactérienne. Pour cela, nous proposons comme perspectives de :

- Etudier d'autre stratégie de lutte contre le biofilm ;
- Tester plusieurs extraits de la plante sur différentes souches bactériennes ;
- Mise en évidence d'autres activités biologiques.

Références bibliographiques

5- Références bibliographiques

A

Ahmer, B. M. (2004). Cell-to-cell signaling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Molecular Microbiology*, 52(4), 933-945.

Alioua, M. (2015). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline [Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar, Annaba, Faculté des Sciences, Département de biochimie, Algérie].

Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 87, DOI: 10.25518/0037-9565.7398.

Ali-Shtayeh, M. S., Yaniv, Z., & Mahajna, J. (2000). Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 221-232.

Allaoui, A. (2022). Etude phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des feuilles de *Laurus nobilis* [Master's thesis, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers, Département de Biologie].

Alouache, G., & Kaci, M. (2019). Isolement de souches hospitalières de *Staphylococcus aureus* formatrices de biofilms prélevées de pus: Profil de résistance aux antibiotiques et aux extraits de l'olivier [Master's thesis, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou]. Retrieved from

<https://www.ummtto.dz/dspace/bitstream/handle/ummtto/11500/Alouache%20Ghania%20%26%20Nait%20Kaci%20Melissa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>(Consulté le 25.03.2023).

Ammek, M., Mounya, A., Fadhila, B., & Nassima. (2019). Evaluation de la capacité des souches de *Pseudomonas spp* à former des biofilms [Master's thesis, Université Djilali Bounaamakhemis Miliana].

Annelise, L., Couic-Marinier, F., & Briot, C. (2017). Huile essentielle de Laurier noble. *PubMed Central*, 56(571), 57–60. Disponible sur Huile essentielle de Laurier noble - PMC (nih.gov) (consulté le 30.03.2023)

Avril, J. L., & Fauchère, J. L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses.

Azzi, R. (2012). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucre dans l'ouest algérien: enquête ethnopharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat WISTAR [Doctoral dissertation, P75]. Available on: dspace.univtlemcen.dz/.../Contribution-a-l-etude-de-%20plantes-%20medicinales.pdf.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali [Doctoral dissertation, P 74]. Available on: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00719564/document>.

Barghan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., & Laglaou, A. (2014). Evaluation des propriétés antiadhésives et biocides des huiles essentielles vis-à-vis des biofilms formés sur de l'acier

inoxydable. Innovation Thérapeutique: du Fondamental à l'appliqué, 79(2). Retrieved from <https://www.researchgate.net/profile/Samir-Chtita>.

Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G., & Kingston, D. G. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurus nobilis* L. Food Chemistry, 104(4), 1478-1484.

Barraud, O., & Pestourie, N. (2011). Chapitre 11 - Rôle du laboratoire dans le dépistage des porteurs de germes à potentiel infectieux ou multirésistants (staphylocoques, salmonelles, Clostridium difficile, BMR, ERV, etc.). In Bactériologie médicale (2ème édition largement revue et actualisée) (pp. 117-127).

Behme, R. J., Shuttleworth, R., McNabb, A., & Colby, W. D. (1996). Identification of staphylococci with a self-educating system using fatty acid analysis and biochemical tests. Journal of Clinical Microbiology, 34, 3075-3084.

Belarbi, K., & Yahla, S. (2020). Evaluation du pouvoir anti-biofilm de quelques huiles essentielles sur des bactéries isolées de sondes urinaires [Master's thesis, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen].

Beloued, A. (2003). Plantes médicinales d'Algérie. Alger : Office des publications EdOPU.

Bendjersi, F. Z. (2017). Etude de la composition chimique des extraits de *Laurus nobilis* L [Doctoral dissertation, Faculté de Chimie].

Bentabet Lasгаа, N. (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes Fredolia aretioides et Echium vulgare de l'ouest algérien [Doctoral dissertation, P 20-21]. Available on: www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637.pdf.

Berche, P., Gaillard, J. L., & Simow, M. (1989). Bactériologie dans: Bactériologie des infections - humaines. France.

Bouchaal, I., & Zouaoui, A. (2015). Etude comparative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Laurus nobilis* de deux régions Algérie et Tunisie. Retrieved from <http://www.secheresse.info/spip.php?article91384>.

Boussena, S. (2019). Manuel des Travaux Pratiques de Bactériologie [Department of Animal Production, Veterinary Sciences Institute, V 61, p.22]. Retrieved from https://telum.umc.edu.dz/pluginfile.php/122046/mod_resource/content/1/TP_Bacteriologie.pdf.

Boutoumou, B., & Ziat, S. (2020). Étude phytochimique et l'évaluation in vitro de quelques activités biologiques d'une plante médicinale algérienne *Laurus nobilis* [Mémoire de master, Université des Frères Mentouri Constantine1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire].

Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. 16(1), 173-183.

Bouزيد, F., & Lamara, B. (2021). Activité antibiofilm de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* contre deux souches de *Klebsiella pneumoniae* [Mémoire master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou].

Bouzouita, N., Kachouri, F., & Hamdi, M. (2003). Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants. Flavour and Fragrance Journal, 18(5), 380-383.

Brahmi, N., Scognamiglio, M., Pacifico, S., Mekhoukhe, A., Madani, K., Fiorentino, A., & Monaco, P. (2015). H NMR based metabolic profiling of eleven Algerian aromatic plants and evaluation of their antioxidant and cytotoxic properties. *Food Research International*. doi: 10.1016/j.foodres.2015.07.005

Buckingham, S. C., McDougal, L. K., & Cathey, L. D. (2004). Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children's Hospital. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 23, 619-624.

C

Cadel Six, S., Buysier, M., Vignaud, M., Dao, T. T., Messio, S., & Payraud, S. (2012). "Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus*: bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010." *Bulletin Épidémiologique*, 50, 57-61.

Cantón, R., & Ruiz-Garbajosa, P. (2011). La co-résistance: une opportunité pour les bactéries et les gènes de résistance. *Opinion actuelle en pharmacologie*, 11(5), 477-485.

Cardotmartin, E., Dumetresco, O., & Lesprit, P. (2019). La résistance aux antibiotiques.

Caredda, A., Marongiu, B., Porcedda, S., & Soro, C. (2002). Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of *Laurus nobilis* essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1492-1496.

Carricajo, A., & Treny, A. (2001). Performance of the chromogenic medium ChroMagar S. *aureus* and the Staphychrom coagulase test in the detection and identification of *Staphylococcus aureus* in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 2581-2583.

Chahal, K. K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N., & Kaur, A. (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1153-1161.

Charlotte, V. (2021). Les entérotoxines de staphylocoques. Disponible sur : https://www.plateforme-sca.fr/point_sur/les-enterotoxines-de-staphylocoques.

Chibi, A. (2015). Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU. Mémoire de Master, Université Aboubaker Belkaid, Tlemcan, Algérie, 79 p.

CNR sites web (10-01-2020 08:26) - Centre National de Référence des Staphylocoques. Disponible sur : https://cnr-staphylocoques.univ-lyon1.fr/icap_website/2332/41525.

Corne, P. (2005). Infection grave à *Staphylococcus aureus*. DESC de Réanimation Médicale, Saint-Étienne.

Costerton, J. W. (1999). Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11(3), 217-221.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.

D

Dadalioglu, I., & Evrendilek, G. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano, bay laurel, Spanish lavender, and fennel on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8255-8260.

- Dallmeier, K., & Carlini, E. A. (1981).** Anesthetic, hypothermic, myorelaxant, and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. *Pharmacology*, 22(2), 113-127.
- De Vallière, S. (2017).** Multidrug-resistant bacteria and travel. *Revue Médicale Suisse*, 561(13), 944-947.
- Delisle-Houde, M., Toussaint, V., & Tweddell, R. J. (2019).** Évaluation de l'activité antibactérienne contre *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* et *Pseudomonas cichorii* de différents extraits végétaux à base d'espèces horticoles et d'essences forestières. *Phytoprotection*, 99(1), 21–26.
- Demir, V. E., D. A. T. Gunhan, T. U. N. C. A. Y., Yagcioglu, A. K., & Degirmencioglu, A. D. N. (2004).** Mathematical modelling and the determination of some quality parameters of air-dried bay leaves. *Biosystems engineering*, 88(3), 325-335.
- Deurenberg, R. H., & Stobberingh, E. E. (2008).** The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution*, 8(6), 747-763.
- Dinges, M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000).** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. In *Clinical Microbiology Apocalypse* (pp. 16-34).
- Dirar, A., Alsaadi, D., Wada, M., Mohamed, M., Watanabe, T., Devkota, H. (2019).** Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120, 261-267.
- Djamilatou, Z., Djibo, A.K., Sahabi, B., Seini, S. (2021).** Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes anti-hypertensives du Niger. *European Scientific Journal*, ESJ, 17(17), 335. <https://doi.org/10.19044/esj.2021.v17n17p335>
- Dohou, N. (2015).** Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *Thymelea elythroides*. Thèse de doctorat, p. 59. Available on: dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/7722/1/ABEDDOU.pdf
- Domart, Y. (2002).** Therapeutic principles of staphylococcal infections - Role and limitations of standard compounds. *Ann Fr Anesth Reanim*, 21, 392-398.
- Donio, P.Y. (2010).** Sensibilité de la bactérie aux agents bactériostatiques ou bactéricides. In *Staphylococcus aureus* (pp. 112-133). Le Loir, Y., Gautier, M. Tec & Doc, Lavoisier, France.
- Drenkard, E. (2003).** Résistance aux antimicrobiens des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbes et infection*, 5, 1213-1219.
- Dupin, A. (2017).** Intérêts des huiles essentielles dans la lutte contre l'antibiorésistance induite par les biofilms. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard - Lyon 1.
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schkeufer, K. H., Stackebrandt, E. (Eds.). (2006).** *The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria* (Vol. 4, 3rd ed.). Springer, New York.
- Dyon-T, V. (2019).** Infections chroniques à staphylocoques : mécanismes de persistance intracellulaire et nouvelles approches thérapeutiques. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes. ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES Sciences de la Vie et de la Terre.

E

Elharas, K., Daagare, A., Mesifioui, A., Ouhssine, M. (2013). Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie, 9(2), 134-141.

F

Fauchère, J.L., Avril, J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. (15), 252-253; (10), 151-176.

Fekih, N. (2015). Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie. [Thèse]: Chimie Organique Appliquée : Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen.

Flandrois, JP. (2022). Bactériologie Médicale. CollAzay. Puf. Disponible sur : Surconsommation d'antibiotiques : Quelles conséquences ? (Antibio-responsable.fr) (consulté le 26.03.2023).

Floret, D., Lina, G. (2000). Les toxines staphylococciques et leur pathologie chez l'enfant. La Lettre de l'Infectiologue - Tome XV - n° 9.

Fomba, M. (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter baumannii* et des staphylocoques à coagulase négative à l'hôpital du Point G. Thèse de doctorat, Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, 95p.

Foster, T. J., & Höök, M. (1988). Adhésines protéiques de surface de *Staphylococcus aureus*. National Library of Medicine, 12, 484-8. Disponible sur Adhésines protéiques de surface de *Staphylococcus aureus* - PubMed (nih.gov). Consulté le 25.3.2023.

Foulston, L., Elsholz, A. K., DeFrancesco, A. S., & Losick, R. (2014). The extracellular matrix of *Staphylococcus aureus* biofilms comprises cytoplasmic proteins that associate with the cell surface in response to decreasing pH. mBio, 5, e01667-14. doi:10.1128/mBio., 01667-14.

Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., López-Malo, A., & Palou, E. (2019). Studying microwave assisted extraction of *Laurus nobilis* essential oil: Static and dynamic modeling. Journal of Food Engineering, 247, 1-8.

Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). Résistance aux antibiotiques. Journal des infections et de la santé publique, 10(4), 369-378.

Fuda, S., Fisher, J. F., & Mobashery, S. (2005). Résistance aux bêta-lactamines chez *Staphylococcus aureus* : la résistance adaptative d'un génome plastique. Nationallibraby of medicine, 62(22), 2617-33.

G

Garrity, G. M., Johnson, K. L., Bell, J., & Searles, D. B. (2005). Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer-verlag, New York; 60.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, C., Bousselfela, H., & Oueld-Mokhtar, M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubiumdeserti* de Noé. 13:118-129. DOI 10.1007/s10298-015-0944-4.

Gillet-Vittori, L., Afanetti, M., Dupont, A., Gondon, E., & Dupont, D. (2014). Infections sévères à *Staphylococcus aureus* sécréteurs de la leucocidine de Panton–Valentine chez l'enfant : un large spectre de présentations cliniques. EM-consulte. Doi: 10.1016/j.arcped.2014.08.016.

Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme, 11, 115-120.

Goudjil, M. B., Bencheikh, S.-E., Zighmi, S., & Ladjel, S. (2015). Détermination expérimentale de la cinétique de séchage à l'ombre des huiles essentielles de *Laurus Nobilis Lauraceae*. Revues. Univ-Ouargla, 7. Récupéré de <https://revues.univouargla.dz/index.php/volume-7-numero-1-ast-2015>

H

Habera, D., & Bahmed, H. (2017). Prévalence et antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) dans le lait cru et les produits laitiers. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Récupéré de Habera Dalila & Bahmed Hayat.pdf (ummtto.dz) (consulté le 02.04.2023).

Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss&Reut. Afrique SCIENCE, 05(2), 246-259.

Ham, A., Shin, J., Oh, K. B., Lee, S. J., Nam, K. W., Uk Koo, K. H. K., & Mar, W. (2011). Neuroprotective Effect of the n-Hexane Extracts of *Laurus nobilis* L. in Models of Parkinson's Disease. The Korean Society of Applied Pharmacology, 19(1), 118-125.

Hamilton-Miller, J., & Shah, S. (2004). Activity of tea component epicatechin gallate and analogues against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 46, 847-863.

Hammer, K., Carson, C., & Riley, T. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86, 985-990.

Harchi, N., & Ichebouben, D. (2019). Étude de quelques activités thérapeutiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat de feuille de laurier noble. Mémoire de master. Université de Saad Dahleb Blida 1, Département de biotechnologie.

Hoiby, N. (2017). A short history of microbial biofilms and biofilm infections. APMIS, 125, 272-275.

Houicher, A., Hechachna, H., Teldji, H., & Ozogul, F. (2016). In vitro study of the antifungal activity of essential oils obtained from *Mentha spicata*, *Thymus vulgaris*, and *Laurus nobilis*. Recent patents on food, nutrition & agriculture, 8(2), 99-106. Retrieved from <https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=7398>

Huseby, MJ., Kruse, AC., Digre, J., Kohler, PL., Vocke, JA., Mann, EE. (2010). Beta toxin catalyzes formation of nucleoprotein matrix in staphylococcal biofilms. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107(32), 14407-14412.

I

Inoshima, I., Inoshima, N., Wilke, GA., Powers, ME., Frank, KM., Wang, Y. (2011). A *Staphylococcus aureus* pore-forming toxin subverts the activity of ADAM10 to cause lethal infection in mice. Nature Medicine, 17(10), 1310-1314.

Inserm. (2018). Résistance aux antibiotiques : Un phénomène massif et préoccupant. INSERM la science pour la santé. Récupéré de <https://www.inserm.fr/dossier/resistance-antibiotiques>

J

Jabbouri, S., & Sadovskaya, I. (2010). Characteristics of the biofilm matrix and its role as a possible target for the detection and eradication of *Staphylococcus epidermidis* associated with medical implant infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 59(3), 280-291.

Jefferson, K. K. (2005). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(6), 2467-2473.

Jeffrey, K. A. (2016). Lauraceae. In Aronson, K. (Ed.), *Meyler's Side Effects of Drugs*, 16th Edition: The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions (pp. 484-486). Elsevier Science.

Jin-Hyung, L., Yong-Guy, K., Jintae, L. (2022). Inhibition de la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* et production de facteur de virulence par l'acide pétrosélinique et d'autres acides gras C18 insaturés. *Spectre du Microbial*. Disponible sur Inhibition de la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* et de la production de facteur de virulence par l'acide pétrosélinique et d'autres acides gras C18 insaturés - PMC (nih.gov) (Consulté le 01.04.2023).

Justice, SS., Hunstad, DA., Seed, PC., Hultgren, SJ. (2006). Filamentation by *Escherichia coli* subverts innate defenses during urinary tract infection. *Proc Natl AcadSci USA*, 103, 19884–19889.

K

Kara, F. (2016). SARM, ABRI, E. BLSE... ERG et EPC des BMR à l'émergence des BHRé.

Kiedrowski, M.R., Crosby, H.A., Hernandez, F.J., Malone, C.L., McNamara, J.O., Horswill, A.R. (2014). *Staphylococcus aureus* nuc2 is a functional, surface-attached extracellular nuclease. *PLOS ONE*, 9(4), e95574.

L

Labischinski, H. (1992). Consequences of the interaction of beta-lactam antibiotics with penicillin binding proteins from sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Medical Microbiology and Immunology*, 181, 241-265.

Labrecque, O. (2007). Sensibilité d'isolats de *Staphylococcus aureus* d'origine bovine aux antimicrobiens et présence de gènes de résistance. Mémoire de Maîtrise en sciences, département de pathologie et microbiologie, Université de Montréal.

Larry, M., Bush, MD., Charles, E. (2021). Syndrome de choc toxique. Le manuel MSD disponible sur Syndrome de choc toxique - Maladies infectieuses -Édition professionnelle du Manuel MSD (msdmanuals.com) (consulté le 28.03.2023).

Le Loir, Y.L., Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus*. Monographies de microbiologie. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*.

Le Minor, L., Véron, M. (1990). Bactériologie médicale : *Staphylococcus et Micrococcus*. 2e édition. Flammarion médecine-science. Paris, 1990. 223 p.

Lebeaux, D., Ghigo, M., Beloin, C. (2014). Tolérance des biofilms aux antibiotiques : comprendre pour mieux traiter / Biofilm tolerance towards antibiotics : mechanisms and treatment. *Journal des Anti-infectieux*, Vol 16(3), 112-121.

Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, and Lee CY. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity Than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, Vol. 51, No. 25, pp. 7292-7295.

Lemaoui, C., Layaida, H., Badi, A., Foudi, N. (2017). Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, 166(. URL: <https://scihub.se/https://doi.org/10.1016/j.antinf.2017.01.003>).

Lepelletier, D., Berthelot, P., Fournier, S., Jarlier, V., Grandbastien, B. (2014). Bactéries multi- et hautement résistantes aux antibiotiques : stratégies et enjeux. *Biologie médicale*, 9(1), 1-10.

Leyral, G., Vierling, E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4ème édition. Biosciences et techniques. 87 p.

Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Briot, C. (2017). Huile essentielle de Laurier noble. *National Library of Medicine*, 56(571), 57–60.

Loizzo, M., Saab, A., & Tundis, R. (2008). Phytochemical analysis and in vitro antiviral activities of the essential oils of seven lebanon species. *ChemBiodivers*, 5(3), 461–470.

Lyczak, J. B., Cannon, C. L., & Pier, G. B. (2002). Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 15, 194–222.

M

Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Sarni-Manchado, P. (2006). Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. Edition Technologie et document.

Mann, E. E., Rice, K. C., Boles, B. R., Endres, J. L., Ranjit, D., Chandramohan, L., Tsang, L. H., Smeltzer, M. S., Horswill, A. R., & Bayles, K. W. (2009). Modulation of eDNA release and degradation affects *Staphylococcus aureus* biofilm maturation. *PLoS One*, 4, e5822.

Merghni, A., Marzouki, H., & Hentati, H. (2015). Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Pathologie-Biologie*, 64(1), 24–34.

Molina, D., Campos-Silva, R., Anabel Diaz, M., José Macedo, A., Amparo Blazquez, M., Rosa Alberto, M., & Arena, M. (2020). Les extraits de laurier inhibent la détection du quorum, les facteurs de virulence et le biofilm des pathogènes d'origine alimentaire. *ScienceDirect*.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643820308884#abs0015>

Montanaro, L., Poggi, A., Visai, L., Ravaioli, S., Campoccia, D., Speziale, P., & Arciola, C. R. (2011). Extracellular DNA in biofilms. *International Journal of Artificial Organs*, 34, 824–831.

Montriciol, A., Reverdy, M-E., & Koeck, J-L. (2003). Mécanismes et méthodes de détection de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux glycopeptides. *EM consulte*, Volume 2003 - Numéro 352, Pages 31-39.

Muylaert, A., & Mainil, G. (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : le mécanisme. Faculté de Médecine et Vétérinaire, 156, 110.

N

Nadeem, M. A., Aasim, M., Kırıcı, S., Karık, Ü., Nawaz, M. A., Yılmaz, A., & Baloch, F. S. (2018). Laurel (*Laurus nobilis* L.): A less-known medicinal plant to the world with diffusion, genomics, phenomics, and metabolomics for genetic improvement. In *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants* (pp. 631-653).

Nadji, N., & Mizou, A. (2015). Détection de la formation de biofilms chez les isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de master : microbiologie. Constantine : Université Frères Mentouri.

Nagaraju, K., Ancherl, A., Anusha, D., Chitra, K., & Ravi Babu Komaram. (2019). Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro).

Ng, W.-L., & Bassler, B. L. (2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics*, 43, 197-222. *Maedica*, 14(4), 350–356. doi: 10.26574/maedica..14.4.350.

O

Otto, M. (2013). Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annual Review of Medicine*, 64, 175-188.

Ouibrahim, A., Kaki, Y. T. A., Bennadja, S., Mansouri, R., Kaki, S. A., Khbizi, S., & Djebbar, M. R. (2015). Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal of Natural Products*, 3(3), 209-216.

Oussou, K. R. (2009). Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.

P

Pascale, P. (2013). Typage de *Staphylococcus aureus* par MLVA : étude de faisabilité de la détection par HRM. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine. Faculté de médecine de Nancy, France. 121 p.

Peixoto, L. R., Rosalen, P. L., Ferreira, G. L. S., Freires, I. A., de Carvalho, F. G., Castellano, L. R., & de Castro, R. D. (2017). Antifungal activity, mode of action and antibiofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of Oral Biology*, 73, 179-185.

Penchev, P. (2010). Purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. [Thèse de doctorat]. Génie des Procédés et de l'Environnement, Université Toulouse.

Poirel, L., Madec, J., Lupo, A., Schink, A., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Résistance aux antimicrobiens chez *Escherichia coli*. *Microbiology spectrum*.

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. (2010). *Microbiologie* (2ème Edition Française). De Boeck Université.

Purnama, N. (2020). The Analysis of Total Flavonoid Levels In Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Spectrophotometry Methods. *Journal of Applied Science Engineering Technology and Education*, 2(1), 11-17. DOI: 10.35877/454RI.asci2133.

R

Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*, 7(4), 493-512.

Rahal, K. (2013). Les antibiotiques. Alger: Office des publications universitaires.

Rebiahi, S. A. (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. [Thèse de doctorat]. Université de Tlemcen, Algérie.

Résistance aux antibiotiques. (2022). Récupéré de <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques>

Riedel, K., Hentzer, M., Geisenberger, O., Huber, B., Steidle, A., Wu, H., Høiby, N., Givskov, M., Molin, S., & Eberl, L. (2001). N-Acylhomoserine-lactone-mediated communication between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in mixed biofilms. *Microbiology*, 147, 3249-3262.

Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., & Mata, R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 35, 275-283.

Rosen, D., Hooton, T., Stamm, W., Humphrey, P., & Hultgren, S. (2007). Détection des communautés bactériennes intracellulaires dans les infections des voies urinaires humaines. *PLOS Medicine*. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040329>

Roux, A., & Ghigo, J. (2006). Les biofilms bactériens : Bacterial biofilms. *Bulletin de l'Académie vétérinaire*, 159(3), 262-266.

S

Sadekuzzaman, M., Yang, S., & Mizan, M.F.R. (2015). Stratégies avancées actuelles et récentes de lutte contre les biofilms.

Sanders, P. (2005). Antibiotic resistance in veterinary medicine: Impact on public health and animal health. *Veterinary Quarterly*, 27(2), 98-105.

Sciences de la Vie et de la Terre.

Simain-Sato, F., Rompen, E., & Heinen, E. (2010). Biofilms bactériens et médecine dentaire. *Revue médicale de Liège*, 65, 569-573.

Simić, A., Soković, M. D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J., & Marin, P. D. (2004). The chemical composition of some *Lauraceae* essential oils and their antifungal activities. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(9), 713-717.

Singh, PK., Schaefer, AL., Parsek, MR. (2000). Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. *Nature*, 407, 762-764.

Singhal, D., contremaître, A., Jervis-Bardy, J., Bardy, J-J., Wormald, P-J. (2011). *Staphylococcus aureus* biofilms. Némésis of endoscopic sinus surgery. *Laryngoscope*, 121, 1578-158.

Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A. (2006). Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 698-703.

Snuossi M., Trabelsi N., Ben Taleb S., Dehmeni A., Flamini G., De Feo V. (2016). *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, 21(10), 1414.

Somerville, G.A. (Ed.). (2016). *Staphylococcus*. Caister Academic Press.

Speziale, P., Pietrocola, G., Foster, T.J., & Geoghegan, J.A. (2014). Protein based biofilm matrices in staphylococci. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4, 171.

Stewart, PS., & Costerton, JW. (2001). Résistance aux antibiotiques des bactéries dans les biofilms. *The Lancet*, 358, 135-138.

T

Taarabt, K. O., Koussa, T., & Alfeddy, M. N. (2017). Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Laurus nobilis L.* au Maroc. *Afrique Science*, 13(1), 349-359.

Tabuti, J.R.S., Lye, K.A., & Dhillon, S.S. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda: plants, use and administration. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 19-44.

Tankovic, J. & Soussy, C.J. (1998). Mécanismes de résistance aux fluoroquinolones : données récentes. *La Lettre de l'Infectiologue*, Tome XIII - n° 5.

Tattevin, P. (2011). Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 41, 167-175.

Timothy, J., & Magnus, H. (1998). Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*, 6(1), 124.

Toty, A., Guessennd, N., Bahi, C., Kra, A. M., Otokore, D., & Dosso, M. (2013). Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, V 82, 2013, 12-21. Récupéré de <https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=3982&file=1&pid=3968>

Tremblay, Y., Hathroubi, S., & Mario, J. (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.

U

USAID (2008). Stratégie nationale de développement du secteur des Plantes Aromatiques et Médicinales au Maroc. Rapport Final.

V

Virginie Dyon, T. (2019). Infections chroniques à staphylocoques : mécanismes de persistance intracellulaire et nouvelles approches thérapeutiques. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes. Ecole pratique des hautes études.

W

Walev, I., Weller, U., Strauch, S., Foster, T., & Bhakdi, S. (1996). Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity*, 64(10), 2974-2979.

Wan, J., Wilcock, A., & Coventry, M.J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 152-158.

Wilke, G.A., & Bubeck-Wardenburg, J. (2010). Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin-mediated cellular injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(30), 13473-13478.

Y

Yakhlef, G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L. (Mémoire de magister en Biochimie Appliquée). Université El Hadj Lakhdar - Batna, Faculté des Sciences, Département de Biologie.

Yam, M. F., Ang, L. F., Ameer, O. Z., Salman, I. M., Aziz, H. A., & Asmawi, M. Z. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 2(4), 280-287. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20633503>

Z

Zaika, L. (1988). **Spices and Herbs:** Their Antimicrobial Activity and Its Determination. *Journal of Food Safety*, 9(2), 97-118.

Zavascki, A., Cecília G Carvalhaes, R., Picão, R. C., & Gales, A. C. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* multirésistant : mécanismes de résistance et implications pour le traitement. *Examen par un expert du traitement anti-infectieux*, 8(1), 71-93.

Zobell, C. E. (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of Bacteriology*, 46, 39-56. DOI: 10.1146/annurev-genet-102108-134304

Zylberberg, S. (2013). Complications de l'endocardite. *JereTiens*. Récupéré de <https://jeretiens.net/complications-de-lendocardite/>

Abstract

Abstract

This work focused on a plant species, *Laurus nobilis* (*L. nobilis*) which belongs to the Lauraceae family, one of the most used families in traditional therapy. The main objectives of this study were phytochemical screening, colorimetric quantification of phenolic compounds and biological activities; antioxidant, antibacterial and mainly antibiofilm of the methanolic extract and the essential oil of *L. nobilis* harvested from the region of Constantine. Indeed, the phytochemical screening, based on specific tests, made it possible to highlight the presence of the main primary metabolites such as sugars and secondary ones as polyphenols, flavonoids and tannins which are the most dominant. In addition, the extraction yields of methanolic extract and EO recorded more or less high values of 50.70 ± 3.53 and $1.15 \pm 0.2\%$, respectively. On the other hand, the contents of total polyphenols and total flavonoids of the methanolic extract quantified by the methods of Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride, respectively, showed high value of total polyphenols (563.63 ± 3.53 mg EAG/g ES) compared to that of total flavonoids (19.365 ± 0.02 mg EQ/g ES). Furthermore, the antioxidant activity was tested using two methods, free radical scavenging (DPPH) and iron reducing power (FRAP), in which the methanolic extract recorded the lowest IC_{50} and EC_{50} (0.14 mg/ml and 0.13 mg/ml, respectively) having the most relevant antioxidant potency. In addition, the antibacterial activity by the well diffusion method of the obtained extracts was tested on four bacterial strains; *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*, where very interesting inhibition zone diameters were observed. The obtained results revealed that Gram-bacteria were the most sensitive to the methanolic extract, while Gram + bacteria were sensitive to EO; the highest inhibition values were recorded by HE on *S. aureus* (32 ± 0.23 mm) at a concentration of 100% and by the methanolic extract on *E. coli* and *P. aeruginosa* (32 ± 0.01 mm) at 200 mg/ml with MICs $\leq 6.25\%$ and 12.5 mg/ml, consecutively. *L. nobilis* EO also exhibited a very high antibiofilm activity on *S. aureus* compared to the extract with a reduction percentage of 76.1% to 100% moderately higher than that of chloramphenicol ATB (70.3 %). These results can be considered as a starting point for the use of *L. nobilis*, in particular its EO, in the field of health as a natural ATB, alternative to the synthetic ATBs, against infections caused by the biofilm of *S. aureus* to avoid the successive use of ATBs, and therefore the reduction of bacterial resistance.

Keywords: *Laurus nobilis*, essential oil, biological activities, bacterial resistance, *S. aureus*, antibiofilm activity.

ملخص

ملخص

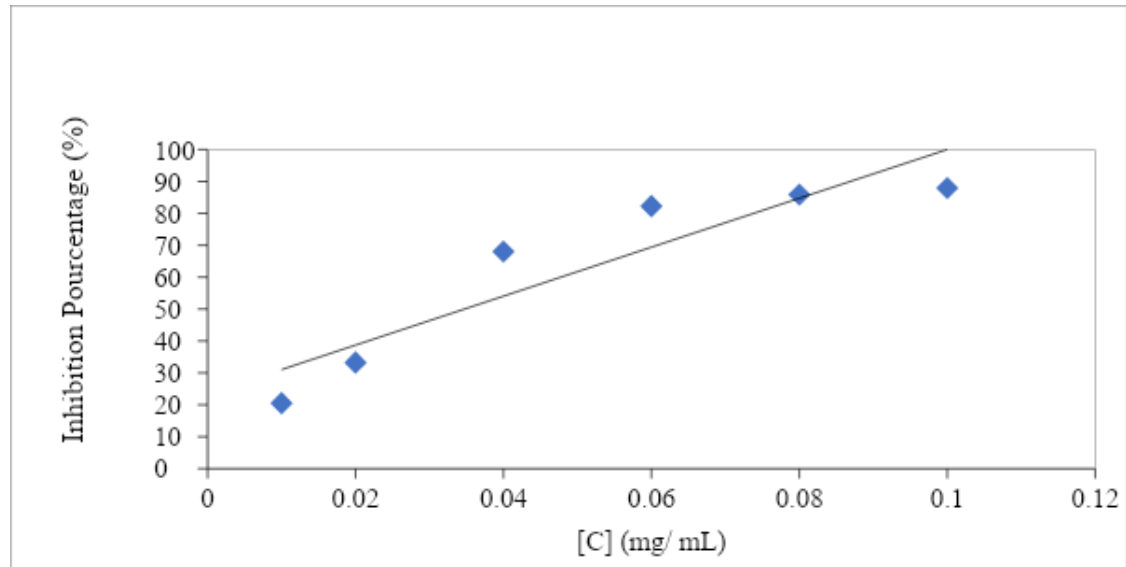
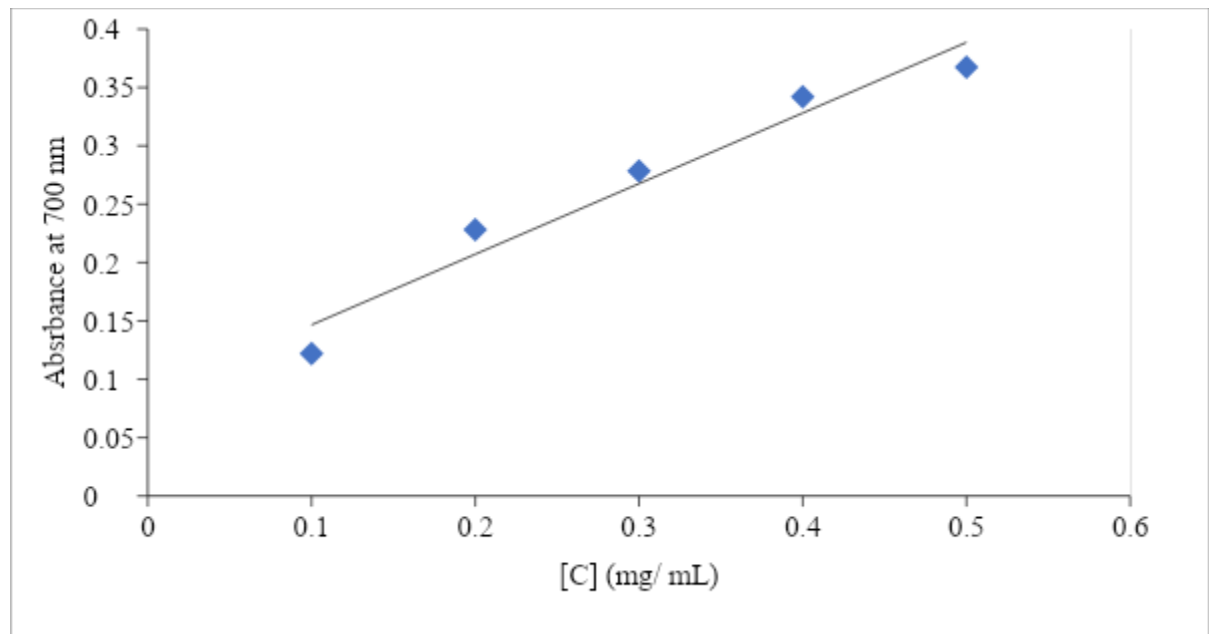
ركز هذا العمل على الأنواع النباتية (*Laurus nobilis* (L. nobilis التي تنتمي إلى عائلة Lauraceae، وهي إحدى العائلات الأكثر استخدامًا في العلاج التقليدي. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو الفحص الكيميائي النباتي والمقاييس اللونية للمركبات الفينولية والأنشطة البيولوجية. مضاد للأكسدة ومضاد للبكتيريا ومضاد حيوي بشكل رئيسي من المستخلص الميثانولي والزيوت العطرية L. nobilis المحصود من منطقة قسنطينة. في الواقع، فإن الفحص الكيميائي النباتي، بناءً على اختبارات محددة، جعل من الممكن تسليط الضوء على وجود المستقلبات الأولية الرئيسية مثل السكريات والثانوية مثل البوليفينول والفلافونويد والعص والي هي الأكثر انتشارًا. بالإضافة إلى ذلك، سجلت عائدات استخراج المستخلص الميثانولي وHE [قيمًا عالية أكثر أو أقل من 3.53 ± 50.70 و 0.2 ± 1.15 % على التوالي. من ناحية أخرى، أظهرت محتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد الكلي للمستخلص الميثانولي الكمي بواسطة طرق Folin-Ciocalteu وثلاثي كلوريد الألومنيوم، على التوالي، قيم عالية من إجمالي البوليفينول (563.63 ± 53.3 mg EAG / g ES) مقارنةً بمجموع مركبات الفلافونويد (19.365 ± 0.02 mg EQ / g ES ± علاوة على ذلك، تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقتين، كاسح الجذور الحرة (DPPH) وقوة تقليل الحديد (FRAP)، حيث سجل المستخلص الميثانولي أقل تركيز EC_{50} و IC_{50} (0.14 مجم / مل و 0.13 مجم / مل)، على التوالي. فعالية مضادات الأكسدة الأكثر صلة. بالإضافة إلى ذلك، تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الانتشار الجيد للمستخلصات التي تم الحصول عليها على أربع سلالات في هذه الحالة: *S. aureus*، *B. cereus*، و *E. coli*، و *P. aeruginosa*، حيث تم تسجيل أقطار منطقة تثبيط مثيرة للاهتمام للغاية. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن بكتيريا الجرام هي الأكثر حساسية للمستخلص الميثانولي، في حين أن بكتيريا جرام + حساسة تجاه L^+HE تم تسجيل أعلى قيم تثبيط بواسطة HE على *S. aureus* (32 ± 0.23 مم) بتركيز 100% وبواسطة المستخلص الميثانولي على *E. coli* و *P. aeruginosa* (0.01 ± 0.01 مم) عند 200 مجم / مل، $CMI \leq 6,25$ % et $12,5$ mg/ml على التوالي. أظهر L^+HE de *L. nobilis* أيضًا نشاطًا عاليًا جدًا مضادًا للبيوفيلم على بكتيريا *S. aureus* مقارنةً بالمستخلص بنسبة انخفاض تتراوح من 76.1% إلى 100% مرتفعة بشكل معتدل مقارنةً بمثيلات الكلورامفينيكول (ATB) (70,3%). يمكن اعتبار هذه النتائج كنقطة انطلاق لاستخدام *L. nobilis*، على وجه الخصوص HE، في مجال الصحة باعتباره ATB طبيعي، بديل لـ ATBs الاصطناعية، ضد الالتهابات التي يسببها بيوفيلم *S. aureus* لتجنب العدوى. الاستخدام المتتالي لـ ATBs، وبالتالي تقليل المقاومة البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: *Laurus nobilis*، زيت أساسي، أنشطة بيولوجية، مقاومة بكتيرية، *S. aureus*، نشاط مضاد للبيوفيلم.

Annexes

Annexe 1 Préparation de solution tampon phosphate 0,2 M

77 ml de Na_2HPO_4 , 23 ml de NaH_2PO_4

Annexe2 Courbe d'étalonnage de BHT**Annexe 3** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Annexe 4**Préparation de l'eau physiologique**

9g de NaCl dans 1L de l'eau distillée puis une stérilisation a été réalisé par l'autoclave pendant 1h

Composition des milieux de culture

Composition gélose Mueller-Hinton (MH)	
Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5 g
Extrait de viande	2,0 g
Amidon	1,5 g
Calcium	20 à 25 mg
Magnésium	10 à 12,5 mg
Agar	15,0 g
pH = 7,4 +/- 0,2	
Eau distillée	qsp 1 L

Composition de gélose nutritive

Composition gélose nutritive	
Ingrédients	Gramme/litre
Tryptone	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar bactériologique	12,0 g

Université Frères Mentouri Constantine 1 Département de Biologie Appliquée	Présenté par : Kemmouche Nour Djiheneet Mahimoud Manel Date de soutenance : 21/ 06/ 2023									
<p align="center">Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master professionnel en Microbiologie et hygiène hospitalière</p>										
<p align="center">Application et évaluation de quelques stratégies de lutte contre la résistance bactérienne ; activités antibactérienne et antibiofilm de l'extrait et de l'huile essentielle de <i>Laurus nobilis</i></p>										
<p>Résumé</p> <p>Le présent travail a porté sur une espèce végétale, <i>Laurus nobilis</i> (<i>L. nobilis</i>) qui appartient à la famille des Lauracées, une des familles les plus utilisées dans la thérapie traditionnelle. Les objectifs principaux de cette étude étaient le criblage phytochimique, le dosage colorimétrique des composés phénoliques et les activités biologiques ; antioxydante, antibactérienne et principalement antibiofilm de l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle de <i>L. nobilis</i> récoltée de la région de Constantine. En effet, le criblage phytochimique, basé sur des tests spécifiques, a permis de mettre en évidence la présence des principaux métabolites primaires tels que les sucres et secondaires comme les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins qui sont les plus dominants. En outre, les rendements d'extraction de l'extrait méthanolique et de l'HE ont enregistré des valeurs plus ou moins élevées de $50,70 \pm 3,53$ et de $1,15 \pm 0,2$ %, respectivement. D'autre part, les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique quantifiées par les méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium, respectivement, ont montrés une valeur élevée des polyphénols totaux ($563,63 \pm 3,53$ mg EAG/g ES) par rapport à celle des flavonoïdes totaux ($19,365 \pm 0,02$ mg EQ/ g ES). Par ailleurs, l'activité antioxydante a été testée en utilisant deux méthodes, le piégeage du radical libre (DPPH) et le pouvoir réducteur du fer (FRAP), où l'extrait méthanolique a enregistré l'IC₅₀ et l'EC₅₀ les plus faibles (0,14 mg/ml et 0,13 mg/ml, respectivement) ayant le pouvoir antioxydant le plus pertinent. En outre, l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur gélose en puits des extraits obtenus a été testée sur quatre souches en l'occurrence ; <i>S. aureus</i>, <i>B. cereus</i>, <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i>, où des diamètres des zones d'inhibition très intéressants ont été observés. Les résultats obtenus ont révélé que les bactéries à Gram- sont les plus sensibles à l'extrait méthanolique, alors que les bactéries à Gram + sont sensibles à l'HE ; les valeurs d'inhibition les plus élevées ont été enregistrées par l'HE sur <i>S. aureus</i> ($32 \pm 0,23$ mm) à une concentration de 100% et par l'extrait méthanolique sur <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i> ($32 \pm 0,01$ mm) à 200 mg/ml avec des CMI $\leq 6,25$ % et 12,5 mg/ml, consécutivement. L'HE de <i>L. nobilis</i> a également exhibé une activité antibiofilm très élevée sur <i>S. aureus</i> par rapport à l'extrait avec un pourcentage de réduction de 76,1 % à 100% moyennement élevé à celui de l'ATB chloramphénicol (70,3%). Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour l'usage de <i>L. nobilis</i>, en particulier l'HE, dans le domaine de santé comme un ATB naturel, alternative aux ATBs synthétiques, contre les infections causées par le biofilm de <i>S. aureus</i> pour éviter l'utilisation successive des ATBs, et donc la réduction de la résistance bactérienne.</p> <p>Mots clés : <i>Laurus nobilis</i>, huile essentielle, activités biologiques, résistance bactérienne, <i>S. aureus</i>, activité antibiofilm.</p>										
<p>Laboratoires d'accueil: Laboratoire de biologie végétale, FSNV- Université Frère Mentouri Constantine 1-</p>										
<p>Jury d'évaluation :</p> <table border="0"> <tr> <td>Président :</td> <td>Dr. ZITOUNI Hind</td> <td>M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td>Rapporteur :</td> <td>Dr. CHERFIA Radia</td> <td>M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.</td> </tr> <tr> <td>Examineur :</td> <td>Dr. YOUCEF ALI Mounia</td> <td>M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.</td> </tr> </table>		Président :	Dr. ZITOUNI Hind	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.	Rapporteur :	Dr. CHERFIA Radia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.	Examineur :	Dr. YOUCEF ALI Mounia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.
Président :	Dr. ZITOUNI Hind	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.								
Rapporteur :	Dr. CHERFIA Radia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.								
Examineur :	Dr. YOUCEF ALI Mounia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.								
<p align="center">Année universitaire : 2022- 2023</p>										