

# ETUDE DE L'EFFET D'HUILE ESSENTIELLE DE LAURIER NOBLE DE L'OUEST ALGÉRIEN SUR SALMONELLA SPP. IN VITRO ET IN VIVO

*Ould Yerou Karima  
Meddah Boumedienne*

Laboratoire de Bioconversion ; Génie microbiologique et sécurité sanitaire,  
Faculté des Sciences ; Université de Mascara –Algérie

*Tir touil Aicha*

Laboratoire de Bioconversion ; Génie microbiologique et sécurité sanitaire,  
Faculté des Sciences ; Université de Mascara –Algérie

Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomatique  
(LRSBG), Faculté des Sciences ; Université de Mascara –Algérie

---

## Abstract

The foodborne infections have a significant impact on public health. Salmonella is the first bacterial cause, especially because of its general availability in the intestinal tract of poultry, pigs and cattle. This bacteria and essential oil are the subject of study of Laurel essential oil effect of this magic plant Salmonella in vitro and in vivo. In vitro evaluation of the antibacterial activity shows a sensitivity of Salmonella spp. with a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 2.5 mg.ml<sup>-1</sup>. In vivo, Wistar rats were infected with Salmonella spp and then treated with the essential oil of Laurel .The microbiological analyse fecal matter from these rats showed that the essential oil of Laurel has a remarkable result on this bacterium pathogen.

---

**Keywords:** Laurier noble, essential oil, Salmonella, antibacterial, fecal matter

---

## Résumé

Les toxi-infections d'origine alimentaire ont un impact important sur la santé publique. *Salmonella est* la première cause bactérienne, surtout en raison de sa présence fréquente dans le tractus intestinal des volailles, porcs et bœufs. Cette bactérie et l'huile essentielle de font l'objet d' *Laurier noble* étude de l'effet d'huile essentielle de cette plante magique sur *Salmonella in vitro et in vivo*. In vitro l'évaluation de l'activité antibactérienne montre une

sensibilité de *Salmonella spp.* avec une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) égale à 2,5 mg.ml<sup>-1</sup>. In vivo, des rats wistar ont été infecté par *Salmonella spp* puis traité par l'huile essentielle de **Laurier noble** . Les analyses microbiologique de la matière fécale de ces rats ont montré que l'huile essentielle de **Laurier noble** a un résultat remarquable sur cette bactérie pathogène.

---

**Mots-clés :** Laurier noble, huile essentielle, Salmonella, activité antibactérienne, matière fécale

## Introduction

*Laurus nobilis* est une plante aromatique, membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (Barla et al., 2007). *Laurus*, nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante (Jirovetzet al., 1997). Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecs et romain (Demir et al., 2004). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (Ferreira et al., 2006). Après la détermination des indices physiques et chimiques, l'étude porte essentiellement sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Les activités antibactériennes sont testées sur des souches qui sont la cause de maladies courantes.

## Matériel et Méthodes

### Matériel végétal

Arbre pouvant atteindre 10 m de haut mais généralement taillé en arbrisseau pour en faciliter la récolte, à l'écorce lisse et noire au feuillage persistant. Les feuilles sont alternes allongées à lancéolées, d'environ 10 cm de long ; elles se terminent en pointe des 2 cotés et sont courtement pétiolées. Leur limbe est coriace, glabre, entier (Sylvestre et al., 2006).

Tableau : Classification botanique de *Laurus nobilis* L (Quezel et santa, 1962).

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

Les feuilles de **laurier noble** de couleur verte et sèche ont été collectées entre Avril et Juin 2014 à la daïra de Mohammédia de wilaya de Mascara (Ouest Algérien Dr Zahafi Bachir (Ministère de l'Agriculture, de l'Université de Mascara, Algérie). a identifié notre plante. Les feuilles recueillies ont été séchées à la température ambiante.

**Extraction des huiles essentielles :** Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation simple pendant trois heures. Les huiles essentielles sont conservés à 4°C et à l'abri de la lumière pendant une semaine.

## **Matériel biologique**

### **Les animaux**

Dans cette expérience, 21 rates de souche Wistar (*Rattus norvegicus*) âgées de 8 à 10 semaines et dont le poids variait de 100 à 110g ont été utilisées. Ces animaux répartis par groupes de 7 dans des cages (480mm x 270mm x 200mm) et la photopériode réglée à 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. La température environnante de l'animalerie est maintenue entre 21 et 24°C avec une alimentation composée de biscuits du commerce et d'eau .

### **Matériel bactérien**

*salmonellaspp* a été prélevée des eaux usées et identifiée au niveau du Laboratoire de Bioconversion ; Génie microbiologique et sécurité sanitaire, Université de Mustapha Stambouli-Mascara (Algérie).

## **Mode opératoire**

### **In vitro**

Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque : Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland ( $10^8$  UFC.ml<sup>-1</sup>) est préparée puis diluée au 1/100. 20 ml de milieu gélosé MHA sont coulés par boîte de Pétri. Après une imprégnation de 5 minutes, l'excédent d'inoculum est éliminé par aspiration. A la surface de chaque boîte, quatre disques de papier filtre stériles de 6 mm de diamètre (bioMérieux) sont déposés. Deux essais sont réalisés : un disque imbibé avec 15 µl d'huile essentielle et un second avec 15 µl d'huile essentielle supplémentée de 10% de diméthyl sulfoxyde (DMSO). Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif avec 15 µl d'eau distillée stérile en présence de 10 % de DMSO et un disque d'antibiotique comme témoin positif. Les boîtes sont laissées 1 heure à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres, disque inclus. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives. Cette

technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

### **In vivo**

La dose de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* choisie est 1g /kg (chaque rat reçoit par gavage 1ml d'une solution : huile essentielle diluée dans l'eau physiologique). L'étude porte sur 21 rats, après une période d'habituation, les rats sont pesés, identifiés par marquage sur leur queue. Les animaux, sont répartis en 3 groupes de sept animaux chacun, dont un, est le groupe témoin, ces rats sont restés sans alimentation pendant 24 heures avant l'essai.

Groupe 1 a reçu le premier jour 1ml de suspension bactérienne puis 1ml de la solution aqueuse), et les six jours après, n'a reçu que 1 ml de la solution aqueuse.

Groupe 2 a reçu pendant sept jours 1 ml de la solution aqueuse

Groupe 3, témoin a reçu que de l'eau de robinet.

Chaque matin, On ramasse la matière fécale de chaque cage et à l'aide d'un Ultra Turrax (**Janke et al., 2000**), 1g de la matière fécale est homogénéisé dans 9 ml d'eau physiologique puis analysé pour rechercher la présence ou l'absence de *Salmonella spp.*

## **Résultats et Discussion**

### **Pouvoir antibactérien**

La méthode d'aromatogramme est la technique utilisée pour déterminer l'activité antibactérienne de notre Huile essentielle. C'est la technique la plus répandue de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Elle sert à prédire la sensibilité d'un germe aux substances étudiées. L'activité antibactérienne a été testée sur la souche bactérienne identifiée *Salmonella spp.* Les résultats du criblage sont présentés dans la figure 1.

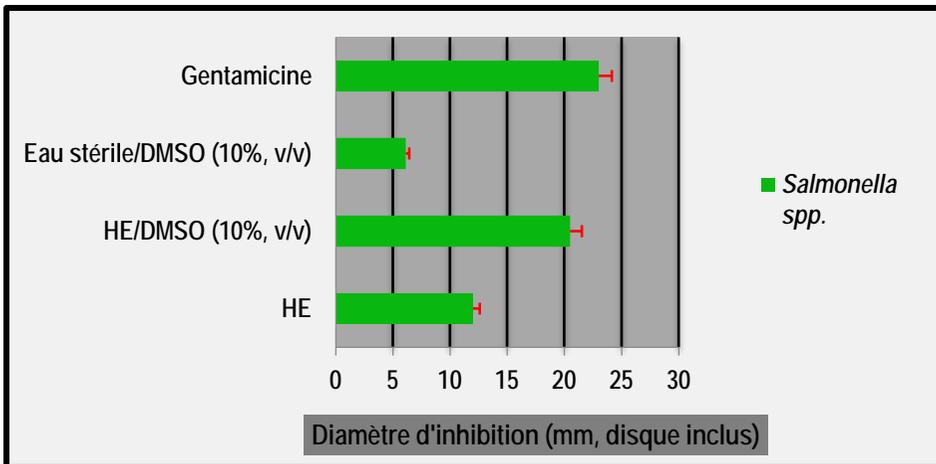
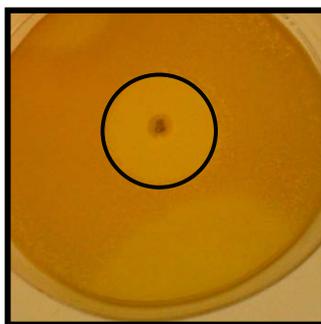


Figure 01: Activité antibactérienne de l'HE évaluée par la méthode de diffusion par disque. HE : Huile essentielle, DMSO : diméthyl sulfoxyde

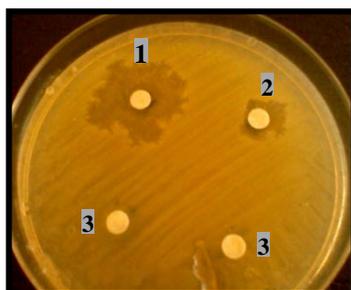
La difficulté rencontrée pour l'utilisation des HE dans des milieux de culture à base d'eau, c'est leur faible solubilité. Plusieurs substances ont été utilisées pour cette fin, DMSO permet une très bonne dispersion des HE (NCCLS, 2005). Ce qui explique la différence notable entre les diamètres des zones d'inhibition exercés par l'HE pure et ceux exercés par l'HE diluée dans DMSO à 10%. Le mélange eau distillée/DMSO (10%, v/v) sert de contrôle négatif interne. Avec un diamètre d'inhibition égal à celui du disque stérile non imprégné (6 mm), le DMSO est sans effet sur nos souches testées à la concentration utilisée. La classification des souches bactériennes « Sensible, (S) » ou « Résistante, (R) » aux antibiotique (gentamicine est utilisée comme ATB de contrôle) est définie par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2010), les valeurs de référence de la zone d'inhibition d'ATB est de 23 mm. La zone d'inhibition de *Salmonella spp* supérieure à la valeur de référence, donc cette bactérie sensible à la gentamicine.



*Salmonella spp.* (S)

Photo01 : Les zones d'inhibition exercées par la gentamicine sur *Salmonella spp.*

L'HE inhibe fortement la croissance de *Salmonella spp.* avec un diamètre d'inhibition supérieur à 20 mm, avec une CMI égale à 2,5 mg.ml<sup>-1</sup>.



*Salmonella spp.*

1: HE/DMSO (10%, v/v) | 2: HE | 3: Eau sterile/DMSO (10%, v/v)

**Photo :** Activité antibactérienne de l'HE évaluée par la méthode de diffusion par disque.

Tableau : Résultats bactériologiques de la matière fécale

Jours	Groupe01	Groupe02	Groupe témoin (absence un disque d'antibiotique)
1	+	+	-
2	+	+	-
3	+	+	-
4	-	+	-
5	-	+	-
6	-	+	-

+ : Présence du *Salmonella spp.*

- : Absence du *Salmonella spp.*

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle semble inclure une altération de la membrane bactérienne qui se produit lorsque cette substance passe à travers la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique, et perturbe la structure de leurs différentes couches de polysaccharides, des acides gras et des phospholipides (Masoodi et al., 2007).

En général, les activités antimicrobiennes ont été expliquées principalement par C10 et C15 avec des terpènes des cycles aromatiques et des groupes hydroxyle phénoliques capables de former des liaisons covalente avec les sites actifs de la cible enzymes, bien que d'autres terpènes actifs, ainsi que des alcools, des aldéhydes et des esters contribuent à l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (Belletti et al., 2004). D'autre part, les énantiomères d'un -pinène, âpinene, limonène et linalol ont une forte activité antibactérienne (Magiatis et al., 1999; Filipowicz et al., 2003 - Koji et al., 2004). Hydrocarbures monoterpéniques pinène - type (a - pinène et de l'a-pinène) bien connus ayant des potentiels antimicrobiens (Dorman et al.,

2000 ). Même, 1.8- cinéole (Derwich et *al.*, 2009) a une activité antimicrobienne très remarquable contre les souches de bactéries, *Salmonella Typhi* (Sivropoulou et *al.*, 1997) .

## Conclusion

L'action de l'huile essentielle de laurier noble est large, elle stimule le système digestif grâce à son effet tonique sur le foie et la vésicule biliaire et empêche la décomposition et la fermentation, responsables de digestion difficile. Les résultats ont montré son activité antibactérienne active sur une bactérie pathogène *Salmonella spp.*

## References:

- Barla A., TopçuG.,OksuzS.,TumenG.,Kingston D.G.I ., 2007 :Identification of cytotoxicsesquiterpenesfrom*Laurusnobilis*.,*Food chemistry* ,104:1484-1487.
- Belletti, N., M. Ndagihimana., C. Sisto, M. Guerzoni., R. Lanciotti and F. Gardini. 2004: Evaluation of the Antimicrobial Activity of Citrus Essences on *Saccharomyces Cerevisae*. *Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6932-6938.
- CA-SFM, 2010 :Comite de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- DemirV.,GuhanT.,YagciogluA.K.,Ddegir:enciogluA.,2004:Mathematical modeling and the determination of some Quality Parameters of Air-dried Bay leaves ,*Biosystems Engineering*,88(3):325-355
- DerwichE., BenzianeZ.andBoukirA.,2009:GC/MS Analysis of Volatile Constituents and Antibacterial Activity of the EssentialOil of the Leaves of *Eucalyptus globules* in Atlas Median from Morocco
- Dorman, H. and S. Deans, 2000: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88: 308-16.
- Ferreira A.,Proença C.,Serralheiro M.L.M.,ARAUJO M.E.M., 2006 :the in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal .*J.Ethnopharmacology* .,108:31-37.
- Filipowiczet *al.*, 2003; Filipowicz, N., M. Kamiński, J. Kurlenda and M. Asztemborska, 2003: Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components, *Phytotherapy Research*, 17: 227-231.
- Jirovetz, L., G. Buchbauer and M. Ngassoum, 1997. GC/MS-analysis of essential oils from Cameroon plants used as spices in local foodstuff. *Recent Research and Development In Agricultural and Food Chemistry*, 1: 241-255.
- Koji, Y.K., T. Yamamoto, Y. Kawai and N. Inoue, 2004: Enhancement of antilisterial activity of essentials oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid ester. *Food Microbiology*, 21: 283-289.
- Magiatiset *al.*, 1999;Magiatis, P., E. Melliou, A. Skaltsounis, I. Chinou and

S. Mitaku, 1999:Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacialentiscus*var. chia, *Planta Medica*, 65: 749-752.

NCCLS, 2005 :NIST National Institute of Standard Library The Perkin EimeCorporation.Performance Standards for Antimicrobial usceptibilityTesting.National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pennsylvania,USA,Twelfth International Supplement; M100-S12, 1997.

Sylvestre, M., A. Pichette, A. Longtin, F. Nagau and J. Legault, 2006: Essential Oil Analysis and Anticancer Activity Of Leaf Essential Oil of *Croton flavens* L. From Guadeloupe *J Ethnopharmacol*, 103: 99-102.

Sivropoulou, A., C. Nikolaou, E. Papanikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras and M. Arsenakis, 1997: Antimicrobial, Cytotoxic and Antiviral Activities Of *Salvia fruticosa* Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 3197-201.