

Laurus nobilis et la toxi-infection in vitro et in vivo

*¹ Ould Yerou Karima, ¹ Meddah B, ^{2,3} Tir touil A

¹ Laboratoire de Bioconversion; Génie microbiologique et sécurité sanitaire.

² Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomatique (LRSBG).

³ Faculté des sciences; département de biologie; Université de Mascara –Algérie.

Abstract

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 *Laurus nobilis* font l'objet dans cet article. In vitro l'évaluation de l'activité antibactérienne montre une sensibilité de *Salmonella spp.* avec une CMI égale à 2,5 mg.ml⁻¹, in vivo après infection des rats wistar puis administre par voie orale cet l'huile essentielle, les résultats microbiologique de la matière fécale montre l'effet antibactérien de cette huile sur *Salmonella spp.*

Keywords: *Laurus nobilis*, huile essentielle, *Salmonella*, activité antibactérienne. Matière fécale

1. Introduction

Laurus nobilis L., 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 (Pariante, 2001). 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 nouvelle application (Ferreira *et al.*, 2006).

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel végétale

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 sur 3 à 5 cm de large; elles se terminent en pointe des 2 cotés et sont courtement pétiolées; leurs limbe est coriace, glabre, entier, souvent légèrement ondulé et épaissi sur les bords, recourbé vers l'intérieure, d'un vert foncé et luisant à leurs partie supérieure plus est pâle en dessous; le limbe est parcouru de nervures pennées et saillantes (Hegi G., 1990).

Tableau 1: la Classification botanique de *Laurus nobilis* L (Quezel et santa, 1962).

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

Les feuilles de laurier noble de couleur verte et sèche ont été collectées entre Avril et Juin 2014 à la daïra de Mohammedia de willaya de Mascara (Algérie). L'identification des espèces végétales a été faite au Laboratoire de Biologie de l'Université de Mascara par un docteur botaniste. Les feuilles de *laurier noble* ont été séchées à l'abri des rayons solaires.

2.2. 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.

2.2. Matériel biologique

2.2.1. Matériel animal

Rattus norvegicus Les rats de laboratoire qui sont considérés comme modèles valides de la physiologie humaine dans certaines limites, ont subis une sélection après un chemin de reproduction au niveau de la ferme d'université de Mustapha Stambouli-Mascara (Algérie).

Nous avons choisi des rats de sexe masculin pesant environ 100 kg, n'ayant pas des problèmes de santé (rat chronique, système immunitaire faible, tendance poussée aux abcès, tumeur, diabète.....) ou présentant une malformation physique.

2.2.2. Matériel bactérien

Salmonella spp qui a été prélevé des eaux usées, et identifiée au niveau de Laboratoire de Bioconversion; Génie microbiologique et sécurité sanitaire, Université de Mustapha Stambouli-Mascara (Algérie).

3. Mode opératoire

3.1. 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⁻¹) est préparée puis diluée au 1/100. 20 ml de milieu gélosé MHA sont coulés par boîte de Pétri. Deux ml d'inoculum sont déposés sur chaque boîte. 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 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.

3.2. In vivo

La dose de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* choisie est 1g /kg, dilué dans de l'eau physiologique et administré par voie orale. L'étude porte sur 21 rats, après une période d'habituation, les rats sont pesés, identifiés par une marque sur la queue. Les animaux, sont répartis en 3 groupes de sept animaux chacun, dont un, est le groupe témoin, sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Le groupe 1 a reçu le premier jour 1ml de suspension bactérienne et 1 ml de dilue, et les six jours après a reçu que 1 ml de dilue. Le groupe 2 a reçu pendant sept jours 1 ml de dilue et Le groupe 3 le témoin a reçu que de l'eau de robinet. Chaque matin on prend de chaque cage la matière fécale, 1g de cette dernière est homogénéisé dans 9 ml d'eau physiologique a laide d'un Ultra Turrax (Janke und Kankel, Breisgau, Germany), puis ont fait la recherche *Salmonella spp*.

4. Résultats et Discussion

4.1. Pouvoir antibactérien

La méthode d'aromatogramme est la technique utilisée pour déterminer l'activité antibactérienne de notre HE. 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 1 isolats bactérien identifié *Salmonella spp*. les résultats du criblage sont présentés dans la figure 01. Les barres d'erreurs, figurées en rouge, représentent les écarts types à la moyenne pour chaque test.

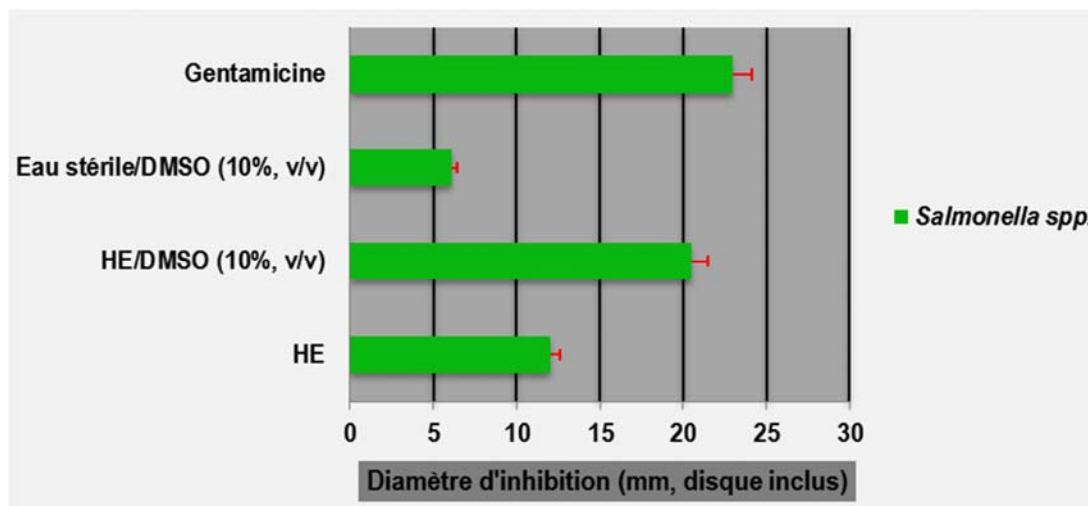


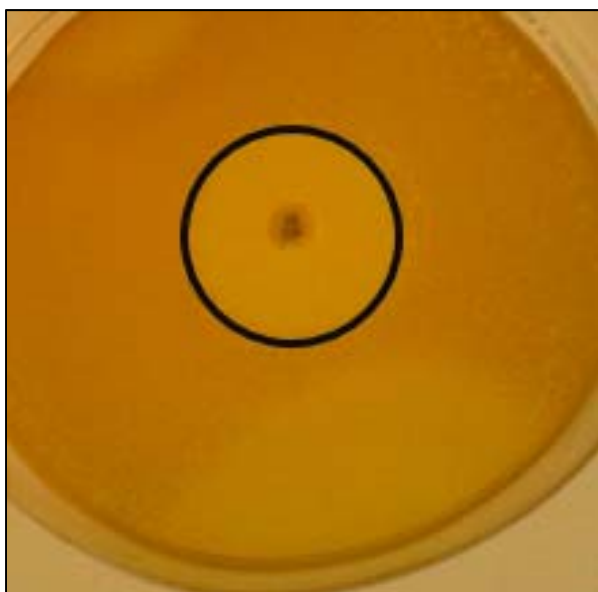
Fig 1: Activité antibactérienne de l'HE évaluée par la méthode de diffusion par disque.

La difficulté rencontrée pour l'utilisation des HEs dans des milieux de culture à base d'eau, c'est leur faible solubilité. Plusieurs substances ont été utilisées pour cette fin, le DMSO (Firouzi *et al.*, 1998) permet une très bonne dispersion des HEs. Ce qui explique la différence notable entre les diamètres des zones d'inhibition exercés par l'HE pure et ceux exercés par l'HE dilué dans la 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 gentamicine est utilisée comme ATB de contrôle. La classification des souches bactériennes en catégories « Sensible, (S) » ou « Résistante, (R) » aux ATB est définie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2010). Les valeurs de référence fournies par le CA-SFM, la zone d'inhibition d'ATB est de 23 mm, on constate que *Salmonella spp*. présente une zone

d'inhibition supérieures à la valeur de référence cela explique sa sensibilité à la gentamicine.



Salmonella spp. (S)

Photo 1: 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⁻¹,



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

Salmonella spp.

Photo 2: Activité antibactérienne de l'HE évaluée par la méthode de diffusion par disque.

Tableau 2: Résultats bactériologique de la matière fécale

Jours	Groupe 01	Groupe 02	Groupe témoin
1 ^{er} jours	+	+	-
2ème jour	+	+	-
3ème jour	+	+	-
4ème jour	-	+	-
5ème jour	-	+	-
6ème jour	-	+	-

+: Présence de *Salmonella spp.*

-: Absence de *Salmonella spp.*

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle ainsi que leur mode d'action sur *Salmonella spp.* sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition, les composés majoritaires comme le 1,8-cinéole sont souvent responsables de cette activité (Derwich *et al.*, 2009). L'huile essentielle semble d'ailleurs agir sur deux sites d'action préférentiels qui sont la paroi et la membrane plasmique.

Conclusion

L'action de l'HE 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 (Danièle, 2012).

5. Références

- Barla A, Topçu G, Oksuz S, Tumen G, Kingston DGI. Identification of cytotoxic sesquiterpenes from *Laurusnobilis*, Food che; istry 2007; 104:1484-1487.
- DemirV, GuhanT, Yagcioglu AK, Ddegir: encioglu A. Mathematical modeling and the determination of some Quality Parameters of Air-dried Bay leaves, Biosystems Engineering 2004; 88(3):325-355.

- derwich E, Benziane Z, Boukir A. GC/MS Analysis of Volatile Constituents and Antibacterial Activity of the Essential Oil of the Leaves of *Eucalyptus globules* in Atlas Median from Morocco, 2009.
- Ferreira A, Proença C, Serralheiro MIm, Araujo Mem. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal J. Ethnopharmacology. 2006; 108:31-37.