

## Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut

Farah HADDOUCHI\*, Hamadi Abderrahmane LAZOUNI, Abdelkader MEZIANE et Abdelhafid BENMANSOUR.

Laboratoire des Produits Naturels, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Aboubekr BELKAID, B.P. 119, 13000 Tlemcen, Algérie.

\* Correspondance, courriel : [Kiratcqa@yahoo.fr](mailto:Kiratcqa@yahoo.fr)

### Résumé

*Thymus fontanesii* (thym) est une plante aromatique, répandue en Algérie et très utilisée par les populations locales pour ses vertus médicinales.

L'huile essentielle de cette plante originaire de l'ouest algérien, fait l'objet dans cet article d'une étude physicochimique et microbiologique. L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement obtenu à partir des feuilles (2%) est intéressant pour l'exploitation industrielle.

La densité spécifique (0.9219), l'indice de réfraction à 20° (1.4999), le pouvoir rotatoire (+3.4313), la miscibilité à l'éthanol (0.6V/1V), le point de congélation (<-20°), les indices d'acide (1.458), d'ester (16.83), d'iode (502.524) et de peroxyde (8000) ont été déterminés sur l'huile fraîchement extraite. Toutes ces valeurs sont comparables aux résultats obtenus pour les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Thymus Longiflorus*, à l'exception du pouvoir rotatoire et de la miscibilité à l'éthanol.

L'activité de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* sur les souches bactériennes (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* S3) et fongiques (*Penicillium spp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, *Candida albicans* 4441PP), par la technique de Vincent (Aromatogramme) et la méthode de contact direct, montre que le pouvoir antimicrobien de cette huile est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les bactéries gram négatif et bactériostatique contre les bactéries gram positif. Cette activité est plus importante sur les champignons que sur les bactéries. Le suivi de l'activité

microbienne de ces huiles essentielles en fonction de leur conservation, montre que le temps, la température et la lumière n'ont que peu d'effet sur leur efficacité par rapport aux huiles fraîchement extraites. Aussi, cette activité dépend de la nature de l'huile et du germe lui même.

**Mots-clés :** *Thymus fontanesii*, Huiles essentielles, caractères physicochimiques, pouvoir antimicrobien.

## Abstract

### Study physicochemical and microbiological of the essential oil of *Thymus fontanesii* Boiss & Reut

*Thymus fontanesii* (thyme) is an aromatic plant, common in Algeria and widely used by local people for its medicinal properties. The essential oil from this plant originating in the west of Algeria, is the subject in this article of a study physicochemical and microbiological. The extraction of the oil was carried out by water steam entrainment. The yield obtained from the leaves (2%) is attractive for industrial use. The specific gravity (0.9219), the refractive index at 20 ° (1.4999), the optical rotation (+3.4313), miscibility in ethanol (0.6V/1V), the freezing point (<-20 °), the indices acid (1,458), ester (16.83), iodine (502,524) and peroxide (8000) were determined on freshly extracted oil. All these values are comparable to the results obtained for the essential oils of *Thymus vulgaris* and *Thymus Longiflorus*, with the exception of optical rotation and miscibility in ethanol. The activity of the essential oil of *Thymus fontanesii* on bacterial strains (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* S3), and fungal (*spp Penicilium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer*, 444IPP *Candida albicans*), by the technique of Vincent (Aromatogramme) and the method of direct contact, shows that the antimicrobial power of this oil is very important and is characterized by an action bactericidal against gram negative bacteria and bacteriostatic against gram-positive bacteria. This activity is more important than that of the fungi on bacteria. The follow-up of microbial activity of these essential oils according to their conservation, shows that the temperature and light have little impact on their effectiveness compared to freshly extracted oils. Also, this activity depends on the nature of oil and the germ itself.

**Keywords :** *Thymus fontanesii*, Essential Oils, physicochemical characteristics, antimicrobial activity.

## 1. Introduction

*Thymus fontanesii* est une plante aromatique, spontanée appartenant à la famille des labiées et originaire d'Algérie et de Tunisie [1].

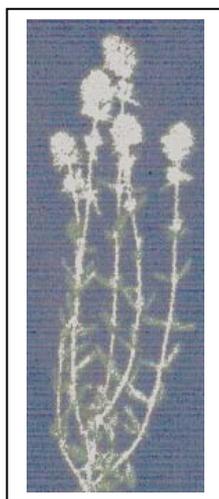
Appelée communément Zaâteur par les populations locales, la plante entière est très utilisée en médecine traditionnelle comme antispasmodique, carminatif, antitussif, antiseptique [2]. Ses huiles essentielles sont utilisées en particulier comme antiseptique [2].

Les huiles essentielles sont extraits à partir de la plante prélevée aux environs de Mostaganem (Algérie). La station est située à une altitude de 500m avec un étage climatique semi- aride [3]

Après la détermination des indices physiques et chimiques, l'étude porte essentiellement sur antimicrobiennes de l'huile essentielle. Les activités antibactériennes et antifongiques sont testées sur des souches de références et des souches prélevées qui sont la cause de maladies courantes.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Présentation de la plante



**Figure 1 :** *Thymus fontanesii*

*Thymus fontanesii* est un sous arbrisseau à tiges dressées et robustes, à feuilles oblongues- lancéolées, entières et glabres, de 10 à 12 mm de long et à fleurs blanches ou pales à peine plus longues que le calice.

La plante cueillie au mois de Février est séchée à l'ombre et à température ambiante entre 10 et 15 jours. Seules les feuilles sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles.

## 2-2. Extraction de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii*

Les huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement en huile essentielle est estimé en fonction de la masse totale du végétal sec. Les huiles essentielles sont conservées à 4°C et à l'abri de la lumière.

## 2-3. Analyse physicochimique de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii*

Ces analyses sont faites en conformité aux normes A.F.N.O.R [4] Nous avons déterminé les:

Caractères physiques : densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, point de congélation ;

Caractères chimiques : indice d'acide, indice d'ester, indice d'iode, indice de peroxyde.

## 2-4. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii*

Les souches conservées ont été fournies par le laboratoire de microbiologie et de mycologie de la faculté des sciences, département de biologie, université de Tlemcen (**Tableau 1**).

**Tableau 1** : Germes étudiés

Bactéries	Gram négatif	<i>Bacilles</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
			<i>Enterobacter cloacae</i>
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	Gram positif	<i>Coccies</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
			<i>Bacillus cereus</i>
		<i>Bacilles</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
			<i>Staphylococcus aureus</i> (S3)

Champignons	filamenteux	<i>Penicilium spp</i>
		<i>Aspergillus niger</i>
		<i>Aspergillus flavus</i>
		<i>Fusarium oxysporum</i>
		<i>Rhizopus stolonifer</i>
	Non filamenteux	<i>Candida albicans</i> 4441PP

**2-4-2. Préparation et concentration cellulaire des Inoculum**

Les préparations des Inoculum sont faites selon les méthodes traditionnelles. Les concentrations bactériennes des inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la Densité Optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08-0.1 correspond à 10<sup>8</sup> UFC/mL. La même technique est utilisée pour *Candida albicans*. Une densité de 0.12-0.15 correspond à 1-5 \* 10<sup>6</sup> UFC/mL.

**2-4-3. Milieux de culture et les méthodes utilisés**

Les différents milieux de culture solides et liquides utilisés sont:  
 Pour les bactéries : gélose nutritive, bouillon nutritif, bouillon cœur- cervelle (BHIB), Mueller- Hinton.  
 Pour les levures : bouillon nutritif, Sabouraud.  
 Pour les champignons : PDA et PDA acidifié.  
 Les méthodes utilisées sont regroupées dans le **Tableau 2**.

**Tableau 2: Méthodes utilisées dans l'étude du pouvoir antimicrobien**

Méthodes	Utilisée pour	Inoculum	Description	Incubation	Lecture
Méthode de Vincent (technique de l'aromatogramme)	bactéries	10 <sup>6</sup> UFC/ml	Dépôt des disques de papier filtre, de 0.6 mm de diamètre, préalablement imprégnés d'huile essentielle à la surface du milieu gélosé, dans des boites ensemencées par inondation (5).	37°C/ 18-24h	Mesure du diamètre d'inhibition.
	levures	10 <sup>4</sup> UFC/ml		35°C/ 24-48h	

Méthode de contact direct	Champignons filamenteux	Disque d'agar de 6mm, couvert de mycélium	A partir d'une solution mère, différentes dilutions sont préparées et sont toutes mises au contact du milieu.	25°C/ 2 à 7 jours	Mesure du diamètre de la prolifération
	Bactéries	10 <sup>4</sup> UFC/ml	Les bactéries sont ensemencées en surface par spot. Pour les moisissures, le disque couvert de mycélium est déposé au milieu de la boîte (6).	37°C/ 18-24h	Présence ou absence de la croissance bactérienne
Nature de l'activité antibactérienne	Bactéries	Disque d'agar de 6mm, prélevé de la zone d'inhibition	Un prélèvement du disque d'agar sur la surface de la gélose nutritive est effectué	37°C/ 18-24h	Présence ou absence de la croissance bactérienne

Le coefficient d'activité A pour les souches bactériennes dont les zones d'inhibition sont importantes est estimé (7) :  $A = z' / q$  avec

$$z' = \pi (z^2 / 4)$$

$z'$  : la surface d'inhibition ;  $q$  : la quantité de l'huile essentielle (en  $\mu\text{l}$ ) ;

$z$  : le diamètre d'inhibition (cm), diamètre du disque imbibé inclus.

Les pourcentages d'inhibition des moisissures sont calculés selon l'équation suivante [8]:

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = [(D1 - D2) / D1] * 100$$

D1 : diamètre de la prolifération des champignons en absence de l'huile essentielle dans le milieu ;

D2 : diamètre de la prolifération des champignons en présence de l'huile essentielle dans le milieu.

### 3. Résultats et discussion

#### 3-1. Teneur et propriétés organoleptiques

L'huile essentielle de couleur jaune rougeâtre, d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante, a un rendement de 2 %.

Ce rendement en huile obtenue à partir des feuilles, est considéré comme important par rapport à celui donné par Dob et al. (2006) [9], obtenu à partir des tiges et des feuilles (0.9%).

#### 3-2. Indices physiques et chimiques

Les résultats des analyses physiques et chimiques sont regroupés dans le **tableau 3**.

A défaut de valeurs d'indices de notre plante, nous avons comparé nos résultats avec ceux donnés par la littérature pour les huiles du *Thymus vulgaris* et *Thymus longiflorus*.

La densité, l'indice de réfraction et l'indice d'ester sont comparables à ceux du *Thymus vulgaris*. La miscibilité à l'éthanol à 95° et l'indice d'acide sont largement inférieurs aux valeurs données, des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* [10-12].

Le pouvoir rotatoire, +3.4313, montre que notre huile essentielle est dextrogyre.

**Tableau 3:** Indices physiques et chimiques de l'huile essentielle fraîchement extraite de thym

Les propriétés	Résultats	Valeurs comparées aux :	
		<i>Thymus vulgaris</i> (10), (11), (12)*	<i>Thymus longiflorus</i> (13)
Densité spécifique	0.9219	0,9-0,955	0.917
Indice de réfraction à 20°	1.4999	1.491 à 1.510	1.470
Pouvoir rotatoire	+3.4313	-5 °à 0°	+1, 8
Miscibilité à l'éthanol à 95°	0.6V /1V	2V/1V-3V/1V	2g/7ml
Point de congélation	< -20°	-	-
Indice d'acide	1.458	8.4*	-
Indice d'ester	16.83	18.2*	-
Indice d'iode	502.524	-	-
Indice de peroxyde	8000	-	-

### 3-3. Pouvoir antimicrobien

Il s'agit de déterminer le diamètre d'inhibition selon la méthode de Vincent, pour les bactéries et *Candida albicans*, et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) selon la méthode de contact direct par dilution en milieu gélosé, pour les bactéries et les champignons filamenteux.

#### 3-3-1. Etude de l'effet antimicrobien par la Méthode de Vincent

Nous avons testé l'effet antimicrobien, sur toutes les souches bactériennes et sur *Candida albicans*, de l'huile fraîchement extraite et des huiles conservées pendant 150 jours dans les conditions suivantes:

\* Extrait 1 : Conservé à 4 degrés Celcius dans des tubes fermés à l'abri de la lumière.

\* Extrait 2 : Conservé à température de chambre dans des tubes fermés à l'abri de la lumière.

\* Extrait 3 : Conservé à température de chambre dans des tubes fermés exposés à la lumière.

Les résultats expérimentaux présentés dans le **Tableau 4** montrent que l'huile essentielle du thym fraîchement extraite est très active sur toute les souches (**Figure 1**) à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*.

Pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, ce comportement n'est pas surprenant car elles possèdent une résistance intrinsèque à une large gamme de biocides. En effet cette résistance est associée à la nature de sa membrane externe.

Les autres souches se comportent différemment avec des diamètres compris entre 17 et 34 mm.

			
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Candida albicans</i>

**Figure 1:** Aromatogrammes de l'huile fraîche, effectués sur *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et sur *Candida albicans*.

La plus grande surface d'inhibition est observée dans le cas d' *Acinetobacter baumannii*, suivi par les 2 souches de *Staphylococcus aureus*. Ces espèces sont donc les plus sensibles à cette huile.

L'activité de l'huile est plus importante sur la souche fongique de *Candida albicans* (diamètre de 39mm) par rapport aux bactéries.

Les activités antimicrobiennes de l'huile fraîchement extraite, comparée à celles conservées pendant les 5 mois, dans les conditions décrites, nous permet de déduire qu'elles ne varient pas, ou peu, pour la plupart des souches, à l'exception des deux souches de *Staphylococcus aureus*, dont l'activité a sensiblement augmenté pour l'extrait 1 pour la souche de référence, et pour l'extrait 3 pour la souche prélevée. Aussi bien qu'une augmentation d'activité est observée pour *Bacillus cereus* pour l'extrait 3 et une diminution pour *Candida albicans* pour les extraits 2 et 3 ; ces extraits demeurent très actifs.

Nous pouvons conclure donc que le temps, la température et la lumière n'ont que peu d'effet sur l'efficacité antimicrobienne de cette huile essentielle.

La nature de l'activité de l'huile est faite sur les bactéries. Elle est bactéricide contre les bactéries gram négatif et bactériostatique contre les bactéries gram positif (**Tableau 5**). Nos résultats sont en accord avec ceux de Zaika L.L. en 1988 [14] Il est communément reconnu que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles [15,16] Il apparaît dans notre étude, que l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* constitue une exception.

**Tableau 4 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii***

3 µl d'huile essentielle du Laurier						
Les souches	J <sub>0</sub>			J <sub>150</sub>		
	Diamètres d'inhibition (mm)	Surface d'inhibition a (cm <sup>2</sup> )	Coefficient d'activité A (cm <sup>2</sup> /µl)	Extrait 1	Extrait 2	Extrait 3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8-9	-	-	8	8	9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	9	-	-	7	7	7
<i>Enterobacter cloacae</i>	17	3.5	1.16	19	19	19
<i>Escherichia coli</i>	20	3.14	1.04	20	20	20

<i>Acinetobacter baumannii</i>	34	9.61	3.2	>35	31	30
<i>Bacillus cereus</i>	20-25	5	1.66	23	26	34
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	25-30	7	2.33	>35	34	30
<i>Staphylococcus aureus</i> S <sub>3</sub>	31	7.5	2.5	31	33	>35
<i>Candida albicans</i>	39	/	/	39	30	31

- : pas de coefficient d'activité, / : coefficient d'activité non défini.

**Tableau 5 : Nature de l'activité antibactérienne**

Les souches	Huile essentielle du thym		
<i>Escherichia coli</i>	-	Bactéricide	
<i>Acinetobacter baumannii</i> (Illustration a)			
<i>Enterobacter cloacae</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (Illustration b)	++ (10mm)	Bactériostatique	
<i>Staphylococcus aureus</i> S <sub>3</sub>	+ (7mm)		
<i>Bacillus cereus</i>	++ (13mm)		

Le diamètre du disque de la gélose inclus (6mm), - : Pas de croissance bactérienne, + : faible croissance bactérienne, ++ : Croissance bactérienne moyenne.

### 3-3-2. Etude de l'effet antibactérien par la méthode de contact direct en milieu solide

Seules les bactéries dont les diamètres d'inhibition sont importants sont considérées dans cette étude. Nos résultats sont regroupés dans le **Tableau 6**.

**Tableau 6 : Pouvoir antimicrobien selon la méthode de contact direct**

Dilutions Souches	T	SM	1/10	1/15	1/20	1/25	1/50	1/75	1/100	1/1000	1/10000
Concentrations d'HE dans le milieu (µg/ml)	0	9219	921.9	614.6	460.95	368.76	184.38	122.92	92.19	9.219	0.9219
<i>Enterobacter cloacae</i>	++	-	-	±	+	+	++	++	++	++	++
<i>Escherichia coli</i>	++	-	-	-	-	-	±	+	+	++	++
<i>Acinetobacter baumannii</i>	++	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++
<i>Bacillus cereus</i>	++	-	-	-	-	±	+	+	++	++	++
<i>Staphylococcus aureus ATCC 25923</i>	++	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++
<i>Staphylococcus aureus S<sub>3</sub></i>	++	-	-	-	-	±	+	+	++	++	++

Il y a absence de la croissance de toutes les souches au niveau de la solution mère et dans la dilution 1/10. La souche d' *Enterobacter cloacae* est la plus résistante avec une CMI comprise entre 614.6 et 921.9 µg/ml. Les CMI des souches de *Bacillus cereus* et de *Staphylococcus aureus S<sub>3</sub>* sont comprises entre 368.76 et 460.95 µg/ml, alors que les souches d'*Escherichia coli*, d' *Acinetobacter baumannii* et de *Staphylococcus aureus ATCC 25923* ont des CMI plus faibles qui sont comprises entre 184.38 et 368.76 µg/ml.

L'huile essentielle de thym est donc très active sur l'ensemble des souches testées. Comparativement parlant, l'activité de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii* testée par les deux méthodes (Aromatogramme et contact direct), est proche de celle de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* à thymol vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (7, 17).

### 3-3-3. Etude de l'effet antifongique par la méthode de contact direct en milieu solide

Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile étudiée sont comprises entre 4.6 µg/ml et 46 µg/ml contre la totalité des moisissures (Tableau 7).

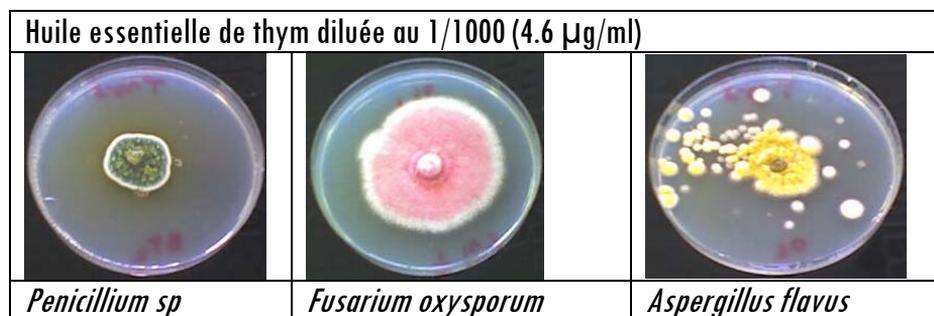
L'inhibition totale de la croissance de toutes les moisissures étudiés nécessite une concentration ≥ 46 µg/ml. A une concentration de 4.6 µg/ml le pourcentage d'inhibition d' *Aspergillus flavus* est important (Tableau 8).

**Tableau 7 : Pouvoir antifongique selon la méthode de contact direct**

Souches	Volume d'huile essentielle du thym ( $\mu\text{l}$ )								Durée d'incubation (jours)
	0 (T)	10	8	4	2	1	0.1		
Concentrations d'HE dans le milieu ( $\mu\text{g/ml}$ )	0	461	369	184	92	46	4.6		
<i>Fusarium oxysporum</i>	+++ 85mm	-	-	-	-	-	++	48.5mm	6
<i>Penicillium sp</i>	++ 40mm	-	-	-	-	-	+	26mm	7
<i>Aspergillus flavus</i>	+++ 90mm	-	-	-	-	-	+	28mm	
<i>Aspergillus niger</i>	++ 54mm	-	-	-	-	-	+		
<i>Rhizopus stolonifer</i>	+++ 90mm	-	-	-	-	-	++	55.2mm	2

**Tableau 08 : Les pourcentages d'inhibition de l'huile essentielle de thym**

	$\geq 1 \mu\text{l}$ d'HE du thym ( $\geq 46 \mu\text{g/ml}$ )	$0.1 \mu\text{l}$ d'HE du thym ( $4.6 \mu\text{g/ml}$ )
<i>Fusarium oxysporum</i>	100%	42.94%
<i>Aspergillus flavus</i>		68.88%
<i>Rhizopus stolonifer</i>		38.66%
<i>Aspergillus niger</i>		
<i>Penicillium sp</i>		35%

**Figure 2 : Pouvoir antifongique de l'huile essentielle du *Thymus fontanesii* selon la méthode de contact direct.**

#### 4. Conclusion

Le rendement en huiles essentielles de thym (2%) est appréciable et peut être rentable à l'échelle industrielle.

Le contrôle de l'huile essentielle par les caractéristiques physiques et chimiques permet de mettre en évidence la qualité de cette huile. Elle se distingue par une acidité et un indice d'ester élevés et des indices physiques et chimiques comparables à ceux obtenus par la littérature à l'exception du pouvoir rotatoire et de la miscibilité à l'éthanol.

Les activités antibactériennes et antifongiques sont confirmées. L'activité antimicrobienne est très importante vis-à-vis de toutes les souches étudiées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*. Elle est plus importante sur la souche de levure *Candida albicans* 4441PP et sur les champignons filamenteux (moisissures) comparés aux souches bactériennes. En effet, les souches les plus résistantes sont *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* qui sont totalement résistantes. De même *Enterobacter cloacae* avec une CMI comprise entre 614.6 et 921.9 µg/ml et *Aspergillus flavus* dont le pourcentage d'inhibition est important à la concentration de 4.6 µg d'huile essentielle /ml.

L'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile en fonction du temps et du mode de conservation permet de constater, contre toute attente, qu'elles conservent presque la même activité après 5 mois dans les trois conditions de stockage décrites.

L'huile essentielle de thym apparaît comme une exception comparativement parlant à la plupart des huiles essentielles dans son activité. En effet, elle est bactéricide contre les bactéries gram négatif et bactériostatique contre les bactéries gram positif.

Cette étude permet encore une fois la mise en valeur de l'exploitation des huiles essentielles dans les domaines, pharmaceutique et cosmétique. Par la même occasion, elle confirme leur utilisation comme conservateur dans le domaine de l'industrie agroalimentaire.

#### Références

- [1] - Quezel P. et Santa S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II.
- [2] - Ghannadi A., Sajjadi S. E., Kabouche A., Kabouche Z., 2004. *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. A Potential Source

- [3] - Encarta 2007. Carte et situation géographique.
- [4] - AFNOR NF T75-006, 1998. Les huiles essentielles-vocabulaire-1ere liste.
- [5] - Joffin J.N., Leyral G., 2006. Microbiologie technique. Tome 1 : Dictionnaire des techniques, 4eme édition. Scérén CRDP AQUITAINE.
- [6] - Courvallin P., Goldstein F., Philippon A., Sirot J., 1985. L'antibiogramme. MPC, Videom, Paris.
- [7] - Pibiri M.C., 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse no 3311, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.
- [8] - Soliman K.M., badeaa R.I., 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Ed. Elsevier Science Ltd- Food and chemical Toxicology 40 (2002) 1669 - 1675.
- [9] - Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C., 2006. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. DOI: 10.1080/13880200600897106. *Pharmaceutical Biology*, Volume 44, Issue 8 October 2006, pages 607 – 612.
- [10] - Garnero J., 1991. Les huiles essentielles, leurs obtentions, leur composition, leur analyse et leur normalisation. *Phytotherapie. Aromatotherapie*. 2,9-20.
- [11] - Fesneau M., De Larochequet P., 2005 \*. Les huiles essentielles de A-Z. La nature au service de la vie, les essences végétales naturelles.
- [12] - Naves Y.R., 1974. Technologie et chimie des parfums naturels. Ed. Masson et Cie (Paris). pp 326.
- [13] - Cruz Garcia T., Jimenez J., Navarro C., Cabo J., Cabo M.M., 1988. Étude sur l'huile essentielle du *Thymus longiflorus* Boiss. *Plantes Med. Phytother.* TOME XXII (4), 22, 225-230.
- [14] - Zaika L. L., 1988. "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its Determination" *Journal of Food Safety* 9- 2: (97-118).
- [15] - De Billerbeck G., 2000. "Activité fongique de l'huile essentielle de cymbopogon nardus sur l'aspergillus niger. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur." *Faculté des sciences pharmaceutiques, Institut national polytechnique de Toulouse* (236).
- [16] - Cosentino S., Tuberoso C. I. G., et al., 1999. "In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils" *Lett Appl Microbiol* 29-2: (130-135).
- [17] - Piccaglia R., Marotti M., Giovanelli E., Deans S.G., Eaglesham E., 1993. Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants. *Industrial Crops and Products* 2(1993) 47- 50. Ed. Elsevier Science Publishers B.V.