

Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus* : *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*

Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of *Thymus* : *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*.

Manuscrit reçu le 21 juillet 2014 et accepté le 15 novembre 2014

Nadia ZAYYAD^{1‡}, Abdellah FARAH² et Jamila BAHHOU¹

¹ Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar l'Mehraz, Laboratoire d'Analyse et Modélisation des Ecosystèmes Continentaux, Fès.

² Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques, Taounate .Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès.

Résumé :

La composition chimique et l'activité antibactérienne des huiles essentielles hydro-distillées de trois espèces marocaines de thym (*Thymus bleicherianus*, *Thymus algeriensis* et *Thymus zygis*) ont été étudiées. Elles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (GC-FID) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). La composition chimique varie quantitativement et qualitativement en fonction des espèces étudiées. Les rendements obtenus respectivement de *T. algeriensis*, *T. bleicherianus* et *T. zygis* sont 2,96%, 1,8% et 0,3%. Les trois espèces de thym ont le thymol parmi les constituants majoritaires dont le taux varie de 37,5% à 55,9% en fonction des espèces. Une forte activité antibactérienne de ces huiles essentielles vis-à-vis d'*Erwinia chrysanthemi* et *Bacillus subtilis* a été détectée. Cette activité est liée à la présence des phénols dans la composition chimique.

Mots clés : *Thymus bleicherianus*, *Thymus algeriensis*, *Thymus zygis*, huile essentielle, composition chimique, activité antibactérienne.

Abstract:

The chemical composition and antibacterial activity of essential oils hydro-distilled from three species of Moroccan thyme (*Thymus bleicherianus*, *Thymus algeriensis* and *Thymus zygis*) were studied. These oils were analyzed by gas chromatography (GC-FID) and by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The chemical composition varies

[‡] Adresse électronique pour la correspondance : zayyadnadia@yahoo.fr

quantitatively and qualitatively depending on the species studied. Yields of *T. algeriensis*, *T. bleicherianus* and *T. zygis* are respectively, 2.96%, 1.8% and 0.3%. Thymol is the major constituents of the three thyme. The rate varies from 37.5% to 55.9% depending on the species. A high antibacterial activity of these essential oils vis-à-vis *Bacillus subtilis* and *Erwinia chrysanthemi* has been detected. This activity is related to the presence of phenols in the chemical composition.

Keywords : *Thymus bleicherianus*, *Thymus algeriensis*, *Thymus zygis*, chemical composition, essential oil, antibacterial activity.

Introduction

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont été reconnues depuis longtemps, mais n'ont été confirmées scientifiquement qu'avec l'évolution des moyens techniques et analytiques. Parmi ces plantes on note le thym qui possède des atouts considérables grâce à la découverte progressive de leurs applications dans les soins et beauté, ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêts économiques selon l'OMS. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur le marché mondial (Walter *et al.*, 2004). Elles ont un potentiel thérapeutique énorme pour guérir plusieurs maladies infectieuses (Janovska *et al.*, 2003). De ce fait, depuis deux décennies des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans différents domaines. Leur production et leur pouvoir antimicrobien a pris une place importante dans la recherche scientifique (Belaqziz *et al.*, 2002).

L'utilisation d'huiles essentielles est aujourd'hui d'actualité. Le nombre de produits et d'indications s'est multiplié. Exemple : les huiles essentielles peuvent assainir l'air ambiant ou les systèmes de ventilation dans le milieu hospitalier pour limiter la propagation des germes microbiens (De Billerbeck, 2007). Le Thym, une plante aromatique spontanée appartenant à la famille des Lamiacées, se retrouve principalement dans la région méditerranéenne, l'Asie, l'Europe du Sud et l'Afrique du Nord (Maksimovic *et al.* 2008). Au Maroc, il y a vingt et une espèces de thym dont 15 sont endémiques (Fennane *et al.*, 2007), (*Thymus maroccanus*, *Thymus bleicherianus*,...). Elle est appelée communément Zaâitra par les populations locales. La plante entière est très utilisée en médecine traditionnelle, leurs huiles essentielles sont largement utilisées dans la médecine alternative grâce à leurs

propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antimicrobiennes (Panizzi *et al.*, 1993 ; Van Den Broucke *et al.*, 1981).

Le présent travail a pour objectif la détermination de la composition chimique ainsi que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite dans les parties aériennes de trois thyms marocains : *T. bleicherianus*, *T. algeriensis* et *T. zygis*. Ces thyms sont collectés respectivement dans les régions de Meknès et Taza à géographie différente, où les habitants les utilisent fréquemment en médecine traditionnelle, et comme conservateur alimentaire. Les populations locales les récoltent également pour les commercialiser sous formes d'herbe fraîche et sèche dans les marchés des villes les plus proches. Cependant, ces espèces ne sont pas exploitées à grande échelle. Sur le plan géographique et floristique, ces espèces sont réparties comme suit : *T. zygis* est une espèce endémique du Maroc et de la Péninsule Ibérique. La période de floraison dure du printemps à l'été. On la rencontre dans les clairières des forêts, dans les pâturages pierreux des basses et moyennes montagnes, principalement dans le Haut Atlas, Moyen Atlas, le Maroc Atlantique moyen dans la région d'Essaouira, le Maroc Atlantique nord, le littoral de la Méditerranée; dans le bioclimat semi-aride froid, subhumide et humide (Flore pratique du Maroc).

T. bleicherianus est une espèce d'Afrique du Nord. Elle est endémique du Maroc. Elle se développe dans l'étage thermo-méditerranéen, dans les bioclimats semi-arides et subhumides tempérés et chauds. On la rencontre dans les régions de Meknès et Oujda (Forêt de Tafogalt), respectivement au Centre et à l'Est du Maroc.

T. algeriensis Boiss. & Reut. est une espèce endémique de l'Afrique du Nord. Au Maroc, elle est rencontrée dans le Moyen Atlas, le Haut Atlas, l'Anti Atlas occidental, le Rif et l'Oriental (Forêt de Béni Snassen).

I- Matériel et méthodes

I-1-Matériel végétal

Pour l'étude de la composition chimique et l'activité antibactérienne, des échantillons de Thym ont été récoltés de la manière suivante:

- Au mois d'avril 2010 dans la région d'Aknoul (région de Taza), pour *Thymus zygis* (TN001).

- Au mois de mai 2010 dans la région de Boufekrane (région de Meknès), pour *Thymus bleicherianus* (TN002).
- Au mois de mai 2010 dans la région d'Adarouche (région de Meknès, pour *Thymus algeriensis* (TN003).

I-2-Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928). Trois distillations ont été réalisées par ébullition pendant une heure trente de 200 g de matériel végétal avec un litre d'eau distillée.

Le rendement en huile essentielle a été déterminé en ml par rapport à 100g de matière sèche. L'huile essentielle obtenue a été stockée à 4° C à l'obscurité.

I-3 Analyse chromatographique

Les analyses chromatographiques ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Hewlett Packard (série HP 6890), équipé d'une colonne capillaire HP-5 (30 m x 0,25 mm) avec une épaisseur du film de 0,25 µm, d'un détecteur FID réglé à 260 °C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air et un injecteur split - splitless réglé à 275 °C. Le mode d'injection est split (rapport de fuite : 1/50, débit : 66 ml/min). Les échantillons sont dilués dans le méthanol (1/20v/v), 1 µl est injecté manuellement

Le gaz utilisé est l'azote avec un débit de 1,7 ml/min. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 4 °C/min. L'appareil est piloté par un système informatique de type « HP ChemStation », gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur leurs indices de Kováts (IK) et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Cette dernière est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett-Packard (série HP 6890) couplé avec un spectromètre de masse (série HP 5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m x 0,25 mm), l'épaisseur du film est de 0,25 µm. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 4 °C/min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1,5 ml/min. Le mode d'injection est split (rapport

de fuite : 1/70 débit 112 ml/min. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse NIST 98. (Adams, 2001).

I.4. activité antibactérienne

I.4.1. Choix des souches :

Pour l'étude de l'activité antibactérienne on a choisi des souches bactériennes pathogènes de l'ATCC (American Type Culture Collection), qui ont été entretenues par repiquage sur milieu LB pendant vingt-quatre heures à 37 °C. Il s'agit de trois bactéries Gram+ (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae* et *aphylococcus aureus*) et deux bactéries Gram- (*Escherichia coli* et *Enwinia chrysanthemii*).

I.4.2. Aromatogramme La méthode de diffusion en milieu gélosé est utilisée pour l'étude de l'activité antibactérienne. Le résultat est exprimé par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition où les bactéries n'ont pas pu se développer. Ce diamètre d'inhibition traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle. La technique utilisée est une modification de la méthode de Hayes et Markovic (2002). On a utilisé l'Ampicilline un antibiotique comme témoin positif.

I.4.3.. La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

Du fait de la non-miscibilité des huiles essentielles à l'eau et donc au milieu de culture, une mise en émulsion a été réalisée grâce à une solution d'agar à 0,2 % (Remmal *et al.*, 1993 ; Satrani *et al.*, 2001). Elle permet d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des huiles essentielles et d'augmenter au maximum le contact germe/composé. Des dilutions sont préparées au 1/10, 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/300 et 1/500 dans cette solution d'agar. Dans des tubes à essai contenant chacun 13,5 ml du milieu solide LB, stérilisé à l'autoclave pendant vingt minutes à 121 °C et refroidis à 45°C, on ajoute aseptiquement 1,5 ml de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations finales de 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000 et 1/5000 (v/v). On agite convenablement les tubes afin de bien disperser l'huile essentielle dans le milieu de culture avant de les verser dans les boîtes de Pétri. Des témoins, contenant le milieu de culture et la solution d'agar à 0,2% seule, sont également préparés.

L'ensemencement est fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum de bactéries préparé sous forme de bouillon de culture de 24 heures. L'incubation se fait à 37 °C pendant vingt-quatre heures. Chaque essai était répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

II. Résultats et discussion

II.1 Rendement et composition chimique

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation à partir des échantillons des thymus ont permis de dresser le tableau I.

Tableau I: Rendements moyens en huiles essentielles de différentes plantes étudiées.

Plantes	Rendement (%)	Caractéristiques Organoleptique
<i>Thymus zygis</i>	0,3	Liquide jaune
<i>Thymus algeriensis</i>	2,96	Liquide jaune clair
<i>Thymus bleicherianus</i>	1,8	Liquide jaune

Avec un rendement de 2,96 % les échantillons de *T. algeriensis* ont fourni le taux le plus élevé, suivi par *T. bleicherianus* avec un rendement de 1,8 %. Cependant, la teneur la plus faible est obtenue avec *T. zygis* 0,3 %.

Le rendement obtenu avec nos échantillons de *T. algeriensis* est largement plus important que celui trouvé par Hazzit *et al.* (2009) qui est de 0,4%. Comparativement aux résultats trouvés par Amarti *et al.* (2008), nos échantillons de *T. bleicherianus* ont fourni un rendement moyen très proche. Les différences obtenues au niveau des rendements peuvent être attribuées aux conditions climatiques et édaphiques (facteur écologique lié au sol) ainsi qu'au stade végétatif de la plante (Moldão *et al.*, 1999).

L'analyse chromatographique, de l'huile essentielle *T. algeriensis* a permis l'identification de 26 composés qui indiquent un total d'environ 99,45 % de composés identifiés. 18 composés (99,3 %) ont été identifiés pour *T. bleicherianus* et 29 composés (98.1 %) pour *T. zygis* (Tableau II). La comparaison des trois espèces de thym montre un polymorphisme au niveau de la composition chimique avec un composé majoritaire en commun qui est le thymol.

La composition chimique de *thymus algeriensis* est marquée par la présence du thymol (37.78%), d' α terpinène (15,13%), d'E- β -cymène (11.72%) et de carvacrol (8,1%) comme constituants majoritaires.

Tableau II : Composition chimique des huiles essentielles de *T. zygis*, de *T. algeriensis* et de *T. bleicherianus* (en % de l'huile essentielle).

Composants	IK	Tz	Ta	Tb
α -Thujène	921	0,8	0.84	0.57
α -Pinène	928	0,4	0.75	0.51
Camphène	943		1.08	0.69
Sabinène	971		0.17	0.15
1-Octène-3-ol	978	0,1	0.72	-
β -Pinène	980	0,3	0.23	-
β -Myrcène	986	T	0.26	1.14
Myrcène	991	2,1	-	-
δ -2-Carène;	1001	-	0.14	-
α -Phellandrène	1005	0,3	-	-
δ -3-Carène	1012	T	1.07	0.91
α -Terpinène	1019	2,8	15.13	13.19
p-Cymène	1026	12,1	0.57	0.44
Limonène	1031	0,5	-	-
1,8-Cinéole	1033	T	-	-
E- β -Ocymène	1052	0,1	11.72	10.43
γ -Terpinène	1062	29,7	0.80	1.04
Oxyde de cis-linalol	1074	0,3	-	-
Terpinolène	1088	0,1	-	-
Linalol	1093	1,5	6.13	4.54
Camphre	1140	-	0.25	-
Bornéol	1165	0,1	5.76	4.67
Terpin-4-ol	1177	0,3	0.59	0.59
α -Terpinéol	1189	0,1	0.18	-
trans-Carvéol	1202	0,2	-	-
Carvéol	1223	-	1.75	-
Thymoquinone	1250	-	1.73	-
Géranial	1269	-	0.91	-
Acétate de Bornyl	1287	T	-	-
Thymol	1290	37,5	37.78	55.90
Carvacrol	1298	6,5	8.17	2.71
E-Caryophyllène	1418	3,2	1.38	1.35
Aromadendrène	1439	0,2	-	-
α -Humulène	1454	0,2	-	-
δ -Cardinène	1524	T	-	-
Oxyde de caryophyllène	1581	0,2	0.54	0,62
		99,45 %	99,3 %	98.1 %

IK : Indice de Kovalts ; Tz : *T. zygis* ; Ta : *T. algeriensis* ; Tb : *T. bleicherianus*

Contrairement au *T. algeriensis* de Tunisie et d'Algérie qui sont riches en camphre et 4-terpinéol (Zouari *et al.*, 2012 ; Hazzit *et al.*, 2009), les échantillons du Maroc sont riches en thymol, avec un taux proche de celui obtenu dans l'huile essentielle de la Lybie (38.50 %) (Giweli *et al.*, 2013).

En ce qui concerne *T. bleicherianus*, les composés majoritaires sont le thymol (55,9 %), l' α -terpinène (13,19 %), l'E- β -ocymène (10,43 %) et le carvacrol 2,71 %. mais *T. bleicherianus* étudié par Ajjouri *et al.*, (2008) a comme composé majoritaire l' α -terpinène (42,23 %) suivie du thymol (23,95 %).

Pour *T. zygis*, la composition chimique est marquée par la présence de thymol (37,5 %), de γ -terpinène (29,7 %) et de p-cymène (12,1 %) comme composés majoritaires. Cependant, pour *T. zygis* d'Espagne, le thymol est détecté avec un pourcentage de 68,1 % (Rota *et al.*, 2008). En revanche, les pourcentages des autres composés sont négligeables, contrairement à *T. zygis* du Portugal qui a un faible taux en thymol (23,8 %) (Goncalves, 2010).

Les variations du rendement et du polymorphisme chimique des huiles essentielles entre les trois plantes, peuvent être dues à divers conditions, l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte et le stade végétatif de la plante (Smallfield, 2001 ; Moldão *et al.*, 1999).

II.2 Activité antibactérienne

Les résultats des tests antibactériens avec des huiles essentielles de trois espèces du Thym sont résumés dans le tableau III.

Les trois huiles essentielles ont démontré une activité inhibitrice sur l'ensemble des microorganismes testés. Dans ces tests, les huiles essentielles de *T. bleicherianus* et *T. algeriensis* étaient les plus actives que celles de *T. zygis*.

En général, les bactéries Gram positives sont plus sensibles que les bactéries Gram négatives ; mais dans notre cas, on a trouvé que la souche la plus sensible est *Erwinia chrysanthemi* (Gram-) avec CMI de 1/5000 v/v et la souche la plus résistante *Streptococcus pneumoniae* (Gram+) CMI de 1/750v/v après *E.coli*.

L'huile essentielle de *T. zygis* révèle une faible activité par rapport à *T. algeriensis* et à *T. bleicheirianus*. L'efficacité de l'huile essentielle de *T. zygis* est très marquée vis-à-vis d'*Erwinia chrysanthemi* (CMI de 1/3000v/v). Avec *T. zygis*, la plus faible activité est détectée

Tableau III: Évaluation de l'activité antibactérienne

Bactérie	CMI (v/v)																									
	1/100			1/250			1/500			1/750			1/1000			1/2000			1/3000			1/5000			T	
	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	Tz	Ta	Tb	TN	TP (AMP)
TG1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Bac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
Strept	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Staph	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-
erwinia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

(-) inhibition ; (+) croissance ; **TG1** : *Echerchia coli* ; **Staph** : *Staphylococcus aureus* ; **Bac** : *Bacillus subtilis* ; **Erwinia** : *Erwinia chrysanthemi* ; **Strep** : *streptococcus pneumoniae* ; **Tz** : *T. zygis* ; **Ta** : *T. algeriensis* ; **Tb** : *T. bleicherianus* ; **TN** : témoin négatif ; **TP** : témoin positif (AMP : ampiciline) ; **CMI** : concentration minimale inhibitrice.

par rapport à *Echerchia coli* (1/500v/v). Les souches les plus sensibles vis-à-vis de l'huile essentielle de *T. algeriensis* sont *Bacillus subtilis* et *Erwinia chrysanthemi* (1/5000v/v). Le *Staphylococcus aureus* est sensible aux deux huiles (*T. algeriensis* et *T. bleicheirianus*) (1/3000v/v). Sauf la forte activité de l'huile essentielle de *T. algeriensis* sur *Echerchia coli* (1/2000v/v), les résultats de *T. algeriensis* et de *T. bleicheirianus* sont les mêmes. En outre, la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux huiles est moyenne en comparaison avec les autres souches.

Nos résultats sont semblables à ceux de Rota *et al.* (2008) qui ont montré une sensibilité plus importante de *Staphylococcus aureus* comparée à *Escherichia coli* vis-à-vis des huiles essentielles à thymol extraites de *T. zygis ssp. Gracilis*. Aussi les trois huiles ont une forte activité sur *Erwinia chrysanthemi* par rapport à l'activité de *T. palludis* (Sqalli *et al.*, 2009).

Cette recherche révèle que l'activité inhibitrice de *T. algeriensis* et *T. bleicherianus* est très forte sur toutes les souches étudiées en comparaison avec les travaux précédents (Aouni *et al.*, 2013 ; Belaqziz *et al.*, 2010 ; Cao *et al.*, 2009 ; Mangena *et al.*, 1999). L'action des huiles essentielles est due à la concentration élevée du thymol et α -terpinène, et malgré la petite concentration du carvacrol et bornéol dans la composition on peut les considérer comme des composés clés qui font la différence entre l'activité de ces trois huiles (Cao *et al.*, 2009).

La plupart des composés sont déjà reconnus pour leur activité antibactérienne. Le thymol et le carvacrol sont les plus bactéricides (Zohary *et al.*, 2004 ; Friedman *et al.*, 2002 ; Aligiannis *et al.*, 2001 ; Dorman et Deans, 2000). Le thymol peut également être impliqué dans l'inhibition des processus de transport des électrons, dans le transport intracellulaire des protéines, dans les étapes de phosphorylation et dans d'autres réactions enzymatiques (Burt, 2004 ; Ultee *et al.*, 1999 ; Knobloch *et al.*, 1986). Le carvacrol est aussi considéré comme biocide, avec son précurseur, le p-cymène, un antibactérien faible, mais il agit probablement en synergie avec lui par l'expansion de la membrane, ce qui entraîne la déstabilisation de la membrane (Jamali *et al.*, 2013 ; Cristani *et al.*, 2007 ; Ultee *et al.*, 2002). L' α -terpinène assure aussi, l'inhibition de plusieurs espèces bactériennes (Dorman et Deans, 2000). Il a été prouvé que le bornéol est un composé doté d'un haut pouvoir antimicrobien du fait de sa grande solubilité dans l'eau, ce qui lui confère une haute capacité à traverser les membranes des cellules bactériennes (Tabacana *et al.*, 2003 ; Knobloch *et al.*, 1989). Dans le cas de *T. zygis* la faible activité antibactérienne peut être due à la faible concentration en carvacrol et en bornéol par rapport aux deux autres huiles essentielles, et l'existence de limonène connu pour sa faible activité antibactérienne (Knobloch *et al.*, 1989 ; Chalchat *et al.*, 2000).

En plus des composés majeurs, les composants secondaires interagissent entre eux pour donner un effet sur les activités antimicrobiennes des huiles essentielles (Cao *et al.*, 2009 ; Bounatirou *et al.*, 2007 ; Peñalver *et al.*, 2005 ; Chorianopoulos *et al.*, 2004 ; Sokmen *et al.*, 2004). Certaines études ont conclu que les composants mineurs jouent un rôle sur l'activité et peuvent avoir un effet ou une influence sur l'huile essentielle (Rota *et al.*, 2008 ; Gill *et al.*, 2002).

Au cours des dernières années, la recherche de nouvelles techniques et de nouvelles stratégies de gestion des maladies des plantes ont conduit au développement d'études avec des antagonistes des agents pathogènes des plantes (Basan et Basan, 2002 ; Johnson et Dileone, 1999), parallèlement nos tests sur la souche phytopathogène *Erwinia chrysanthemi* a illustré une large sensibilité aux trois huiles essentielles.

Enfin, plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs tels que : la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, le choix des plantes, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des microorganismes ciblés.

III. Conclusion

D'après ces résultats, les huiles essentielles de *T. zygis*, de *T. bleicherianus* et de *T. algeriensis* ont montré une activité antibactérienne importante sur les souches étudiées. Cette activité peut être attribuée à la richesse de la composition chimique en composés phénoliques des trois huiles.

La mise en évidence des performances de ces trois huiles essentielles, sur différentes souches bactériennes, peut conduire à une étude approfondie et à des perspectives pour leur application comme agent de phytomédecation et de conservation des aliments.

Bibliographie

Aligiannis N., Kalpotzakis E., Mitaku S., and Chinou I.B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. of Agric. and Food Che.*, **40**, 4168 – 4170.

Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M. et Chaouch A. (2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*, **6**, 342 – 347.

Aouni M., Pelen F. et Soulimani R. (2013). Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*, **11**, 225 – 236.

Bashan Y. and Bashan L.E. (2002). Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. tomato by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 2637 – 2643.

Belaqziz R., Harrak R., Romane A., Oufdou K., and Alaoui EIFels M. A. (2010). Antimicrobial and Insecticidal Activities of the Endemic *Thymus broussonetti* (Boiss.) and *Thymus maroccanus* (Ball). *Records of Natural Products*. **4**, 230 – 237.

Benabid A. (2000). Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Ibis Press Éd., Paris, 159 – 161.

Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Rejeb M.N., Nefati M., Costa M.M., Faleiro L., Figueiredo A.C., Baroso J.G., and Pedro L.G. 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*, **105**, 146 – 155.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223 – 253.

Cao L., Yong Si J., Liu Y., Sun H., Jin W., LiZ., Hong ZhaoX., and Le Pan R. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* (Maxim). *Food Chem.*, **115**, 3801 – 805.

Chalchat J.C., Petrovic S.D., Makisimovic Z.A., and Gorunovic M.S. (2001). Essential oil of *Stachys officinalis* (L.) Trevis., Lamiaceae from Montenegro. *J. Essent. Oil. Res* **13**, 286 – 287.

Chorianopoulos N., Kalpoutzakis E., Aligiannis N., Mitaku, S., Nychas, G. J., and Haroutounian, S.A. (2004). Essential oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* species: Chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *J. of Agric. and Food Chem.*, **52**, 8261 – 8267.

Clevenger J. F. (1928) Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am. Perf. Ess. Oil Review*, 467 – 503.

Cristiani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G., Micieli D., Venuti V, Bisignano G, Saija A and Trombetta D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *J. of Agric. and Food Chem.*, **55**, 6300 – 6308.

De Billerbeck V.G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*. **5**, 249 – 253.

Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, **88**, 308–316.

Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A. et El Oulaidi J. (eds) (2007). Flore pratique du Maroc. vol. 2 Trav. Inst. Sci. Sér. Bot. 38, Rabat.

- Friedman M., Henika P.R., and Mandrell R.E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J. Food Prot.*, **65**, 1545 – 1560.
- Gill A.O., Delaquis P., Russo P., and Holley R.A., (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *Int. J. of Food Microbiology*, **73**, 83 – 92.
- Gonçalves M.J., Cruz M.T., Cavaleiro C., Lopes M.C., and Salgueiro L. (2010). Chemical, antifungal and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Thymus zygis* subsp. *Sylvestris*. *Ind. Crops and Prod*, **32**, 70 *Ind. Crops and Prod* – 75. DOI : 10.1016/j.indcrop.2010.03.005.
- Gweli A.A., Dzamic A.M., Sokovic M.D., Ristic M.S., and Marin P.D. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Cent., Eur. J. Bot*, **8**, 504 – 511.
- Hayes A. J. and Markovic B. (2002). Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity, *Food and Chemical Toxicology*, **40**, 535 – 543.
- Hazzit M., Baaliouamer A., Veríssimo A.R., Faleiro M.L., and Miguel M.G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food. Chem.*, **116**, 714 – 721.
- Jamali A. C., Kasratia A., Bekkouchea K., Hassanib L., Wohlmuthc H., Leachc D., and Abbada A. (2013). Phenological changes to the chemical composition and biological activity of the essential oil from Moroccan endemic thyme (*Thymus maroccanus* Ball). *Industrial Crops and Products*, **49**, 366 – 372.
- Janovska D., Kubikova K., and Kokoska L. (2003). Screening for antimicrobial activity of some medicinal plants species of traditional Chinese medicine. *Czech J. of Food Sciences*, **21**, 107 – 110.
- Johnson K.B. and Dileone J.A. (1999). Effect of antibiosis on antagonist dose-plant disease response relationships for the biological control of crown gall of tomato and cherry. *Phytopathology*, **89**, 974 – 980.
- Knobloch K., Paulis A., Iberl B., Weignaud H., and Weis N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. Ess. Oil Res.* **1**, 118 – 119.
- Maksimovic Z., Stojanovic D., Sostaric I., Dajic Z., and Ristic M. (2008). Composition and radical-scavenging activity of *Thymus glabrescens* Willd. (Lamiaceae) essential oil. *J. Sci. Food Agr.*, **88**, 2036 – 2041.
- Mangena T. and Muyima N.Y.O. (1999). Comparative evaluation of the oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Appl. Microbiol.*, **28**, 291 – 296.
- Moldão-Martins M., Bernardo-Gil M.G., Beirão Da Costa M.L. (2002). Sensory and chemical evaluation of *Thymus zygis* L. essential oil and compressed CO₂ extracts. *European Food Research and Technology A*, **214**, 207 – 211.

- Panizzi L., Flamini G., Cioni P.L., and Morelli I. (1993). Composition and antimicrobial activity of essential oils of four mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacology*, **39**, 167 – 170.
- Peñalver P., Huerta B., Borge C., Astorga R., Romero R., and Perea A. (2005). Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, **113**, 1 – 6.
- Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., and Tantaoui-Elaraki A. (1993). Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Essent. Oils Res.*, **5**, 179 – 184.
- Rota M.C., Herrera A., Martínez R.M., Sotomayor J.A., and Jordán M.J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, **19**, 681 – 687.
- Satrani B., Farah A., Fechtal M., Talbi M., Blaghen M. et Chaouch A. (2001). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calaminthe* et *Satureja alpina* du Maroc. *Ann. Falsif. Expert. Chim.*, **94**, 241 – 250.
- Shahram S. and Bahmani A. (2014). Main Components in Aroma Profile of Genus Thymus: A Short Review *Journal Of Current Research In Science*. ISSN 2322-5009 CODEN (USA): JCRSDJ, **2**, 158 – 161.
- Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H. A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M. and Sahin F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, **15**, 627 – 634.
- Sqalli H., El Ouarti A., Farah A., Ennabili A., Haggoud A., Ibsouda S., A Houari, and Houssaini I.M. (2009) Antibacterial activity of *Thymus pallidus* (Batt.) and determination of the chemical composition of its essential oil. *Acta Bot. Gallica* **156**, 303 – 310.
- Tabanca N., Kirimer N., Demirci F., and Baser K.H. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristana* subsp. *Phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4300 – 4303.
- Ultee A., Kets E.P.W., and Smid, E.J. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 4606 – 4610.
- Ultee A., Bennik M.H.J., and Moezelaar R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 1561 – 1568.
- Van Den Broucke C.O. and Lemli J.A. (1981). Pharmacological and chemical investigation of thyme liquid extracts. *Planta Medica*, **41**, 129 – 135.
- Walter L. H., Vaisberg A., Lamas G., Sarasara C., and Memory E.L. (2004). Advantage of Ethnobotanically-based Research for Searching New Pharmaceuticals. *Ethnobotany*, **16**, 10 – 15.
- Zhiri A. (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News Science, Nutrition, Prévention et Santé*. Édité par la Fondation pour le libre choix, **12**, 8.

Zohary M. and Davis P.H. (2004). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various Extracts of *Thymus eigii*. J. Agric. Food Chem., **52**, 1132 – 1137.

Zouari N., Ayadi I., Fakhfakh N., Rebai A, and Zouari S. (2012). Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic Species. Lipids in Health and Disease, **11**, 28 – 39.