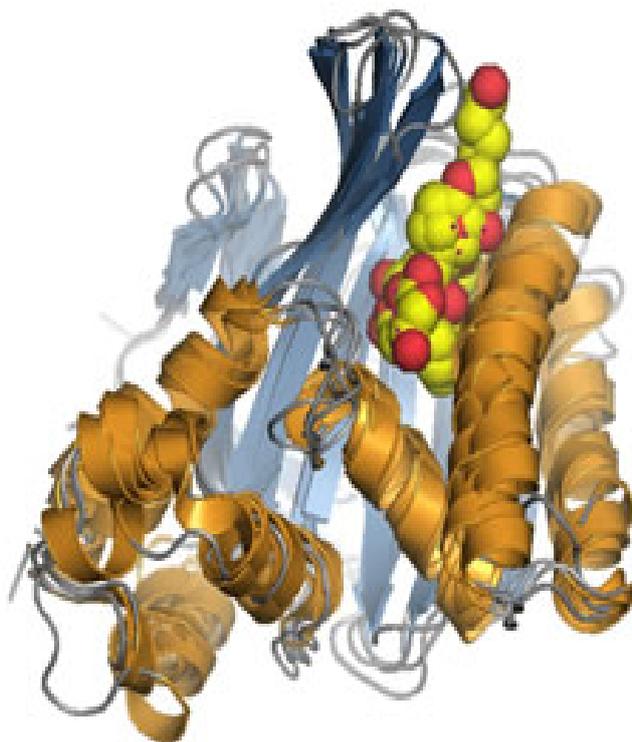


PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



PCBS Journal

Volume 8 N° 1, 2 & 3

2014

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768

PCBS Journal

*PCBS
Journal*

Volume 8 N° 2

2014



Edition LPSO
Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr

Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut. et de *Rosmarinus officinalis* L. sur des bactéries nosocomiales multirésistantes

Mostefa Sari F.¹, Djebli N.²

¹ Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de biologie, Université de Khemis Miliana.

² Laboratoire de pharmacognosie. Api phytothérapie, Université de Mostaganem, Algérie

Received: December 27, 2013; Accepted: April 25, 2014

Corresponding author Email msarifouzia@yahoo.fr

Copyright © 2014-POSL

DOI:10.163.pcbjsj/2014.8.2.97

Résumé. L'objectif de cette étude est d'isoler les bactéries causales au niveau du service de traumatologie, pédiatrie et de néonatalogie de l'hôpital de Khemis Miliana d'une part, et d'évaluer leur antibiorésistance, puis de tester la sensibilité des bactéries, ayant un profil d'antibiorésistance, aux extraits volatiles (huiles essentielles) pures et dilués (100 mg/ml, 10 mg/ml, 1 mg/ml et 0.1 mg/ml) des deux plantes étudiées (*T. fontanesii* Boiss et Reut et *R. officinalis* L.) d'autre part; et ce, après avoir analysé leur constituants chimiques par la technique chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Neuf bactéries nosocomiales présentant une multirésistance aux antibiotiques testés (Doxycycline : DO, Colistine : Cl, Amoxicilline : AML, Amoxicilline + Acide clavulanique : AMC, Ampicilline : AMP, Kanamycine : K, Cefotaxime : CTX, Vancomycine : VA, Pénicilline G : P) ont été sélectionnées pour le test de l'aromatogramme : *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogènes*, *Escherchia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis* et *Enterococcus*. D'après nos résultats, les deux HE ont agit sur la croissance microbienne, celui de *R. officinalis* L. étant le plus actif avec des CMI variant de 0.1 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*) à 100 mg/ml (*Pseudomonas aeruginosa* et *Entéroccoccus*). L'HE de *T. fontanesii* Boiss et Reut a agit sur la plus part des bactéries, le *Pseudomonas aeruginosa* étant la souche la plus sensible. L'analyse par CPG/SM a révélée les composants majoritaires suivants : l'*a*-pinène (37.31 %) et thymol (10.55%) pour l'HE de *T. fontanesii* Boiss et Reut, et 1,8-cinéol (13.98 %) linalool (12.03) et camphre (11.71 %) pour le *R. officinalis* L.

Mots clefs: *Thymus fontanesii* Boiss et Reut., *Rosmarinus officinalis* L., huiles essentielles, activité antimicrobienne, bactéries nosocomiales.

Chemical Composition and antinosocomial effect of essential oils from *Thymus fontanesii* Boiss et Reut. and *Rosmarinus officinalis* L.

Abstract. Essential oils (EO) from *Thymus fontanesii* Boiss et Reut. and *Rosmarinus officinalis* L. were tested on nine nosocomial bacteria isolated from Khemis Miliana hospital (*Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogènes*, *Escherchia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis* and *Enterococcus*). The best active EO obtained from *R. officinalis* L. with varied

MIC from 0.1 mg/ml (*Klebsiella pneumoniae*) to 100 mg/ml (*Pseudomonas aeruginosa* et *Entérocooccus*). EO obtained from *T. fontanesii* Boiss et Reut inhibit the most tested bacteria. GC MS analysis indicate the presence of α -pinène (37.31 %) and thymol (10.55%) in *T. fontanesii* Boiss et Reut EO and 1.8-cinéol (13.98 %), linalool (12.03), camphre (11.71 %) in EO from *R. officinalis* L.

Key Words: *Thymus fontanesii* Boiss et Reut., *Rosmarinus officinalis* L., essential oils, antimicrobial activity, nosocomial bacteria

1. Introduction

Les soins hospitaliers se sont transformés d'une façon considérable depuis cinquante ans. Les techniques, la qualité des soins, l'organisation et l'équipement physique de l'hôpital ont connu des progrès importants et évidents. Malgré cela le niveau quantitatif global des risques infectieux nosocomiaux reste sensiblement le même [3].

Ces infections sont devenues une préoccupation majeure dans le domaine de la santé.

En devenant insensibles à tout traitement, les bactéries causales des infections hospitalières défient la gamme d'antibiotiques disponibles en thérapeutique médicale (perte d'efficacité de l'antibiothérapie). La situation est d'autant plus alarmante que les infections causées par les bactéries résistantes entraînent souvent une prolongation de l'état pathologique et un accroissement du taux de mortalité [10].

En France, l'incidence des infections nosocomiales est comprise entre 5% et 10% du total des admissions hospitalières, et le taux de prévalence est entre 7 et 12 %. On estime que la mortalité par infection nosocomiale est de l'ordre de 1 décès pour 5000 admissions.

Le nombre élevé de patients ayant contracté une de ces infections, a fait prendre conscience au gouvernement et aux établissements de soins de l'importance de la mise en place d'un dispositif de lutte contre les infections associées aux soins [11].

Aussi, au vu de la propagation du phénomène de résistance et du nombre limité d'antibiotiques en cours de développement, la découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives.

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser [14].

Ce travail vise à étudier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques, *Thymus fontanesii* Boiss et Reut., et *Rosmarinus officinalis* L., qui appartiennent à la famille des lamiacées. Elle sont parmi les plantes les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante.

L'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles est testée sur des bactéries multirésistantes ayant provoqués des infections nosocomiales au niveau d'hôpital de Khemis Miliana

2. Matériel et méthodes

2.1. Réactifs et milieux de culture

Les géloses (nutritive, hektoen, au sang frais, au sang cuit, mueller hinton, citrate de simmons), Bleu de méthylène, violet de gentian, fushine, lugol, ethanol 90°, huile de Vaseline, eau

physiologique, réactif de Kovacs, réactif de Voges-Proskauer I et II, vert de methyl, rouge congo, eau oxygénée, réactifs NRI et NRII, ONPG, eau peptonée exempte d'indol, réactif TDA, disques d'antibiotiques : P, AML, AMX, CTX, AMC, K, DO, Cl, VA.

2.2. Matériel microbien

Nous avons utilisé neuf souches bactériennes présentant une multi-résistance : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogène*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Entérocooccus*, *Neisseria meningitidis*.

2.3. Matériel végétal

Deux plantes ont fait l'objet de cette étude : *Thymus fontanesii* Boiss et Reut (récoltée dans la région d'Elkarimia située à Chlef), et le *Rosmarinus officinalis* L. (récoltée dans la région de Aaja située à Khemis Miliana). Elles ont été récoltées en mois de Mai 2012.

Les plantes récoltées ont été nettoyées, lavées avec l'eau du robinet, puis séchées à l'ombre et à température ambiante. La durée de séchage est de 10 jours.

2.4. Isolement et identification des germes nosocomiaux

Les souches bactériennes ont été isolées à partir de différents prélèvements (Urine, liquide céphalorachidien, pus et sang) de malades hospitalisés au niveau de trois services de l'hôpital de Khemis Miliana (traumatologie, pédiatrie et de néonatalogie), puis identifiées.

2.5. Test de l'antibiogramme

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée selon la méthode de diffusion sur gélose à partir de disques d'antibiotiques.

2.6. Extraction des huiles essentielles

Ce sont les parties aériennes des plantes (tiges, feuilles) qui ont servis pour l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur type Clevenger.

2.7. Analyse par CPG /SM

L'appareillage de chromatographie utilisé est de type « Perkin Elmer Clarus 500 ». Les échantillons d'HE sont analysés dans les conditions opératoires suivantes :

Volume injecté : 1µl, mode d'ionisation : EI+ (Electron ionisation), potentiel d'ionisation : 70 électronvolts, gaz vecteur : Hélium, débit du gaz vecteur : 0.1ml/min, temps de Scan : 0.2 sec, balayage de scan entre M/Z (25-500), passeur d'échantillon: automatique, température d'injection : 250°C, Colonne utilisée : Elite -5Ms (Longueur : 30m, diamètre : 0.25µm), Programmation de la température :

Température initiale : 100°C (30 sec) et une augmentation de 8°C/ min.

Temperature finale: 290°C (20min).

Température de la ligne de transfert : 200°C.

Température de la source : 200°C.

Banques de données utilisées dans l'identification des composées : NIST, WYLEY, PELEGER.

2.8. Test de l'aromatogramme

Neuf souches multirésistantes sélectionnées ont été mises au contact des HE des deux plantes pures et dilués (100 mg/ml, 10 mg/ml, 1 mg/ml et 0.1 mg/ml).

Des disques de papier Whatman stérile de 6mm de diamètre ont été imbibés de 30µl d'HE puis déposés à la surface de la gélose ensemencée de la bactérie à tester, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C.

3. Résultats et discussion

3.1. Extraction et analyse des HE

Le rendement moyen en huiles essentielles de *T. fontanesii* est d'environ 1,3 % ± 0,08, ce dernier est plus élevé que celui obtenu chez *Rosmarinus officinalis* L. qui est de 0,8 % ± 0,05.

L'analyse par CG-SM a permis d'identifier 18 composés qui représentent environ 98.45 % du total chez l'HE de *T. fontanesii* Boiss et Reut, avec les composés majoritaires suivants : α-pinène (37.31 %), de 1,8-cinéole (18.20 %) et thymol (10.55 %), Tricyclène (09.40 %) accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : p-cymène (4.83 %), γ-terpinène (3.81 %) et carvacrol (03.61%) (Figure 1).

L'analyse de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. a permis d'identifier 17 composés qui représentent environ 94.46 % du total. Cette huile est composée principalement de 1,8-cinéole (13.98 %), α-pinène de (12.28 %), Linalool (12.03 %) et Camphre (11.71%) accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : Limonène (7.66 %), Camphène (07.44 %), Tricyclène (06.73 %) et β-ocimène (06.26%) (Figure2).

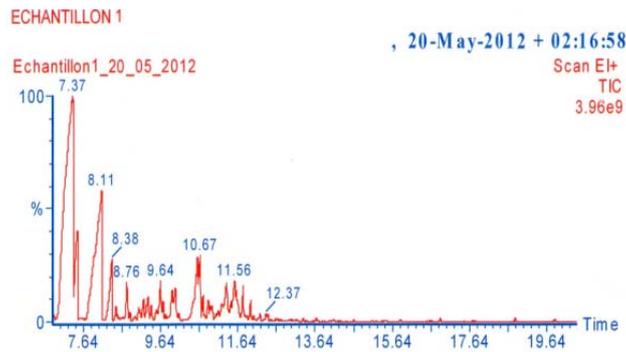


Figure 1. Composition de l'huile essentielle de *T. fontanesii* Boiss et Reut



Figure 2. Composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

3.2. Evaluation de l'antibiorésistance des bactéries isolées

Les espèces bactériennes isolées à partir des trois services sont les suivantes : *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus épidermidis*, *Streptococcus pyogène* et *Entérocooccus*. Les figures 3, 4, 5, 6,7, 8, 9, 10 et 11 représentent les pourcentages moyens de sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des ATB testés.

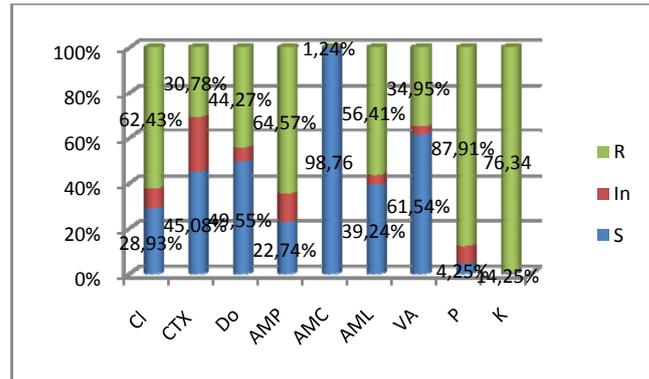


Figure 3. Pourcentages de sensibilité des *Escherichia coli* aux antibiotiques.

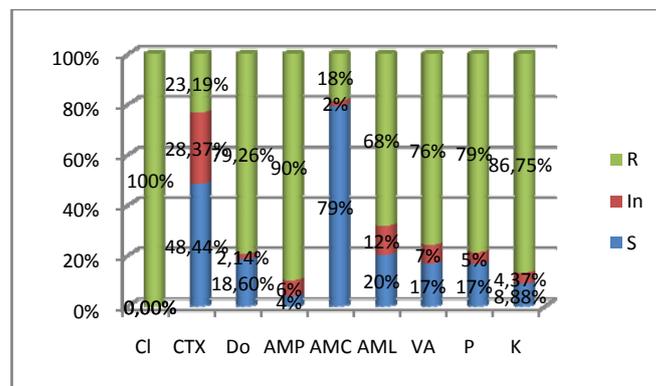


Figure 4. Pourcentages de sensibilité des *Proteus vulgaris* aux antibiotiques

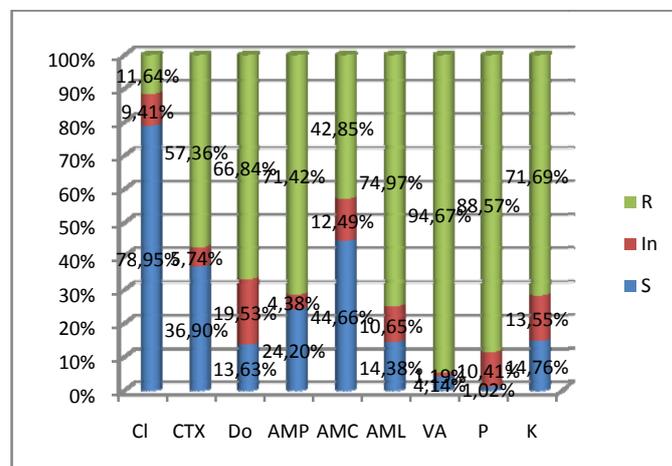


Figure 5. Pourcentages de sensibilité des *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

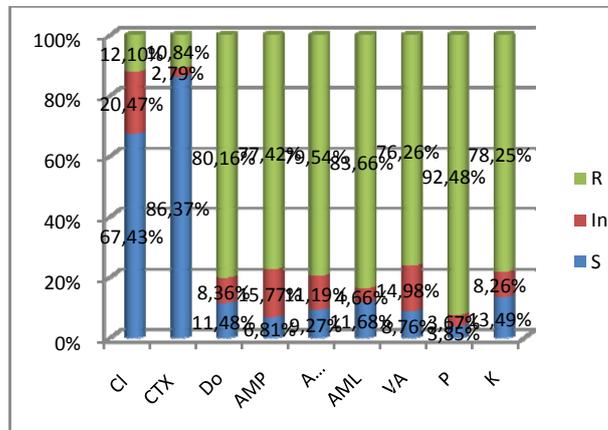


Figure 6. Pourcentages de sensibilité des *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

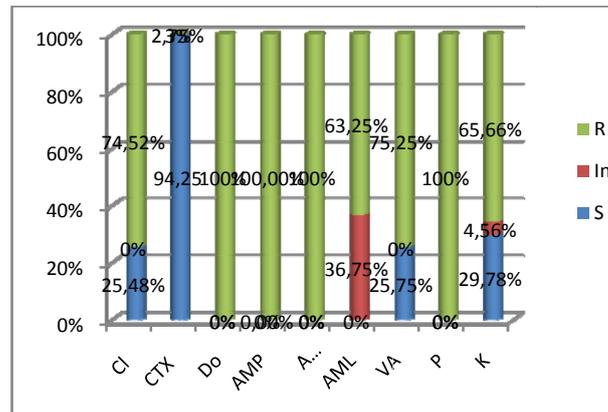


Figure 7. Pourcentages de sensibilité des *Neisseria meningitidis* aux antibiotiques

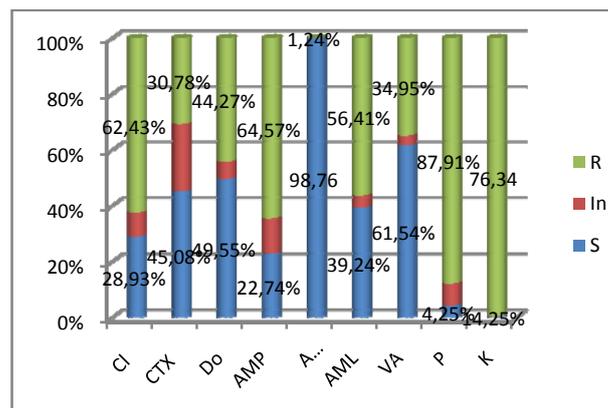


Figure 8. Pourcentages de sensibilité des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

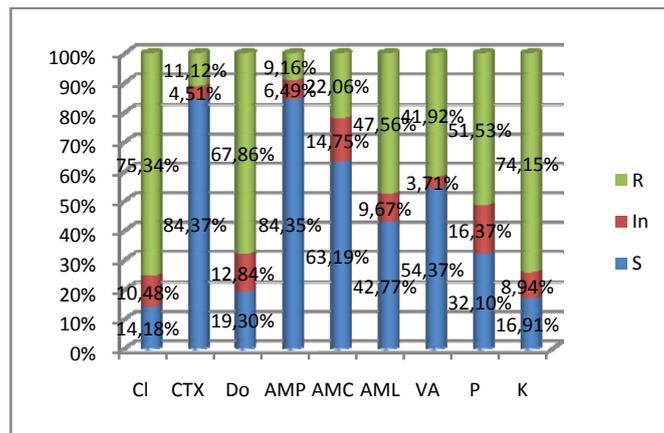


Figure 9. Pourcentages de sensibilité des *Staphylococcus epidermidis* aux antibiotiques

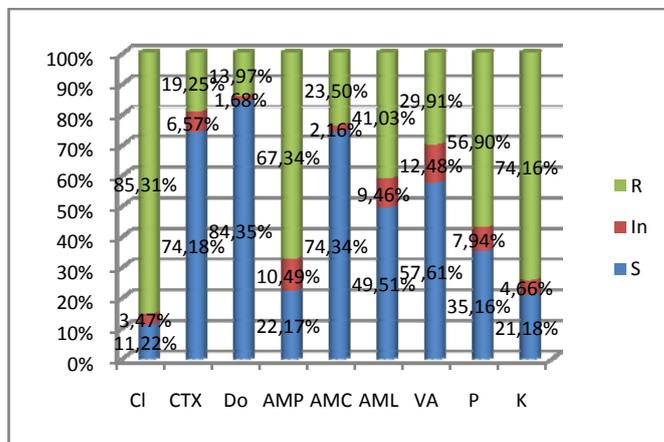


Figure 10. Pourcentages de sensibilité des *Streptococcus pyogène* aux antibiotiques

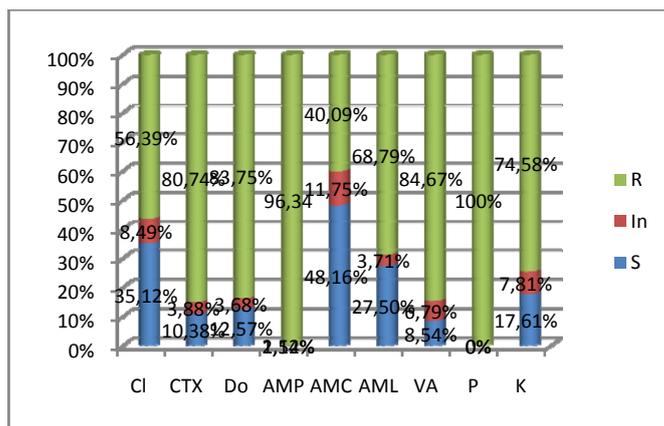


Figure 11. Pourcentages de sensibilité des *Entérocooccus* aux antibiotiques

Tableau 1. Diamètre des halos d'inhibition des bactéries testées(en millimètre)

Concentrations Germe	Pure 1g/ml		10 ⁻¹ (100mg/ml)		10 ⁻² (10mg/ml)		10 ⁻³ (1mg/ml)		10 ⁻⁴ (0.1 mg/ml)	
	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	08±0.47	16±0.24	08±0.38	11±0.62	07±0.73	05±0.58	04±0.69	00±0.00	0.5±0.61	00±0.00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15±0.64	15±0.16	07±0.56	02±0.76	03±0.52	05±0.43	01±0.91	01±0.77	00±0.00	00±0.00
<i>Escherichia coli</i>	20±0.19	15±0.83	17±0.21	03±0.83	03±0.68	05±0.44	01±0.47	00±0.00	0.5±0.11	00±0.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	07±0.38	18±0.28	03±0.44	01±0.19	00±0.00	00±0.00	00±0.00	00±0.00	00±0.00	00±0.00
<i>Streptococcus pyogène</i>	20±0.27	22±0.76	17±0.84	12±0.36	05±0.34	05±0.60	01±0.17	00±0.00	00±0.00	00±0.00
<i>Proteus vulgaris</i>	12±0.86	13±0.42	07±0.67	08±0.51	04±0.31	06±0.91	02±0.33	03±0.94	01±0.38	00±0.00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13±0.07	36±0.89	09±0.43	21±0.39	03±0.59	15±0.24	00±0.00	10±0.16	00±0.00	02±0.26
<i>Entérocooccus</i>	00±0.00	15±0.33	00±0.00	02±0.12	00±0.28	00±0.00	00±0.00	00±0.00	00±0.00	00±0.00
<i>Neisseria meningitidis</i>	08±0.51	17±0.58	03±0.23	03±0.98	02±0.41	02±0.65	0.5±0.41	0.5±0.08	00±0.00	00±0.00

Tableau 2. Concentrations minimales inhibitrices des H.E de *T. fontanesii* Boiss et Reut et de *Rosmarinus officinalis* L. testées sur les bactéries multirésistantes

CMI (mg /ml) Souches	<i>T. fontanesii</i> Boiss et Reut	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁻³	10 ⁻²
<i>Staphylococcus épidermidis</i>	10 ⁻²	10 ⁻²
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁻²	10 ⁻²
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁻¹	10 ⁻¹
<i>Streptococcus pyogène</i>	10 ⁻²	10 ⁻²
<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁻³	10 ⁻³
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ⁻²	10 ⁻⁴
<i>Entérocooccus</i>	Pas d'inhibition	10 ⁻¹
<i>Neisseria meningitidis</i>	10 ⁻²	10 ⁻²

Le profil de résistance des neuf bactéries sélectionnées est le suivant :

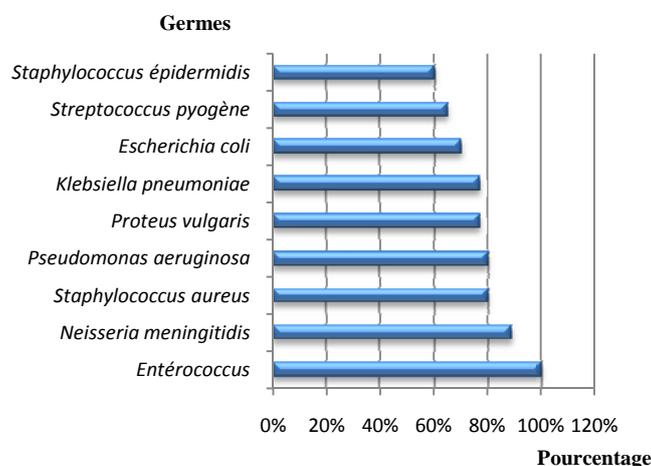


Figure 12. Pourcentages de résistance des 09 bactéries en présence des différents Antibiotiques.

On observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés, avec un développement de résistance, au minimum, à cinq types d'antibiotiques.

3.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles des deux plantes :

Les deux HE ont inhibé la croissance de presque toutes les souches bactériennes testées. (Tableau 1 et 2). Les souches les plus sensibles à l'action de l'HE de *T. fontanesii Boiss et Reut* sont le *Streptococcus pyogène* et *Escherichia coli* (20 mm), suivi de *Staphylococcus épidermidis* (15mm), *Klebsiella pneumoniae* (13mm) et *Proteus vulgaris* (12mm). Cependant, l'*Enterococcus* n'a montré aucune sensibilité à l'action de cette huile.

L'HE pure de *Rosmarinus officinalis L.* a une activité inhibitrice remarquable sur toutes les souches bactériennes testées, avec un diamètre d'inhibition de 36mm pour *Klebsiella pneumoniae*, et de 13 mm pour *Proteus vulgaris*.

Plusieurs études ont eu pour objet la détermination du pouvoir antimicrobien de certains extraits de *Thymus vulgaris L.* et de *Rosmarinus officinalis L.*, on cite celles de Rasooli et ses collaborateurs (2008), Ettayebi et ses collaborateurs (2000), Thuille et autres (2003), Bouhdid et collègues (2006) et plusieurs autres qui ont tous révélé une importante activité de ces extraits.

Généralement, toutes les plantes de la famille des *Lamiaceae* connues pour leurs composés phénoliques, ont été prouvés actifs contre une variété de micro-organismes [9].

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est attribuée à leur composition en molécules actifs tel que le thymol et le carvacrol, les flavonoïdes et les triterpénoïdes ainsi que d'autres composés de nature phénolique ou groupes hydroxyle libres, qui sont classés comme composés antibactériens très actifs [5][7][8][14]. La variation de la composition chimique explique les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes.

La sensibilité des souches hospitalière, multi-résistantes aux HE de *T. fontanesii Boiss et Reut* et de *Rosmarinus officinalis L.* suggère leur possible utilisation en thérapeutique comme alternative naturelle aux agents chimiothérapeutiques dont le spectre d'action est en réduction continue.

Aligiannis et ses collaborateurs (2001) ont proposés une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit : – forte inhibition : CMI inférieure à 500 µg/ml ; – inhibition modérée : CMI variant de 600 µg/ml à 1 500 µg/ml ; – faible inhibition : CMI supérieure à 600 µg/ml. Ainsi, selon cette classification, on constate une très forte inhibition par l’H E de *T. fontanesii* Boiss et Reut chez toutes tes espèces testées sauf l’Enterococcus. D’autre part, l’HE de *Rosmarinus officinalis* L. s’est révélé très active sur les souches bactériennes testées. Globalement l’activité antibactérienne de l’H.E de *T. fontanesii* Boiss et Reut à l’état diluée est plus importante que celle de *Rosmarinus officinalis* L.

Conclusion

L’étude de l’antibiorésistance des bactéries testées a montré une fréquence alarmante de multirésistance vis-à-vis des antibiotiques testés, en particulier à ceux appartenant à la famille des Béta-lactamines.

L’analyse qualitative et quantitative des deux HE par la technique de CGSM a révélée les composants majoritaires suivants : l’ α -pinène (37.31 %) et thymol (10.55 %) pour l’HE de *T. fontanesii* Boiss et Reut, et 1,8-cinéole(13.98 %), Linalool (12.03 %) et Camphre (11.71%) pour l’HE de *Rosmarinus officinalis* L.

L’étude de l’activité antibactérienne de ces huiles essentielles sur les bactéries nosocomiales multirésistantes a montré que ces huiles possèdent une activité antibactérienne sur presque toutes les souches bactériennes testées avec des CMI comprises entre 10^{-1} et 10^{-3} pour le Thym et entre 10^{-1} et 10^{-4} pour le Romarin.

Les deux huiles essentielles se sont montrées actives contre les bactéries testées, mais c’est l’essence de *T. fontanesii* Boiss et Reut qui a manifesté le plus grand pouvoir antimicrobien grâce à sa teneur en Thymol.

Références

- [1] Aligiannis N., Kalpotzakis E., Mitaku S., Chinou I. B. , “Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species”. *J. Agric. Food Chem.* 40: 4168-4170, 2001.
- [2] Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J., “Composition chimique de l’huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l’état spontané et cultivé de la région de Tlemcen”. *Biologie & Santé.* 7: 6-11, 2007.
- [3] Avril J-L. et Carlet J., “ Les infections nosocomiales et leur prevention”, ellipses, Paris, 687p, p 38, 1998.
- [2] Bricaire L., Bricaire F., “ Maladies infectieuses”, Elsevier Masson SAS, 114p, p 61,62. 2007.
- [4] Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J., “ Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities”. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies*, Agadir. 324-327, 2006.
- [5] Ettayebi K., El Yamani J., Rossi-Hassani B. D., “Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in *Listeria monocytogenes* and *Bacillus subtilis*”. *FEMS Microbiology Letters.* 183:191-195, 2000.
- [6] Fabrice Bardeau., “Les huiles essentielles ; découvrir les bienfaits et les vertus d’une médecine ancestral”, Edition Lanore, 315p. (P : 277), 2009.
- [7] Faleiro M.L, Miguel M.G, et al., : Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of Thymus- *Lett Appl Microbiol* ; Vol. 36 ; N°1 ; PP35-40, 2003.
- [8] Friedman M., Henika P. R., Mandrell R. E., “Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteric*”. *J. Food Prot.* 65 : 1545-1560, 2002.

- [9] Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J., “Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes”, *Molecules*, 12: 932-945, 2007.
- [10] Léopoldine Bricaire., François Bricaire., “Maladies infectieuses”. Elsevier Masson SAS, 114p (P : 61-62), 2007.
- [11] Malek K., Mino J-C., Lacombe K., “Santé publique: médecine légale, médecine du travail”, ESTEM et MED-LINE. 200 p, p 47, 2000.
- [12] Rasooli I., Fakoor M.H., Yadegarinia D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B., “Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils”, *International J of Food Microbiology*, 122:135-139, 2008.
- [13] Thuille N., Fille M., Nagl M. , : Bactericidal activity of herbal extracts. *Int. J. Hug. Environ. Health*. 206 : 217-221, 2003.
- [14] Ultée A., Slump R.A., Steging G. & Smid E.J., “Antimicrobial activity of carvacrol towards *Bacillus cereus* on rice”, *J. Food Prot.*, 63(5): 620-624, 2000
- [15] Yano Y., Satomi M., Oikawa H., “Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*.”, *International Journal of Food Microbiology*, 111: 6-11, 2006.

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS
Journal*



Edition LPSO

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr