



Fès, le 29/ Octobre/2016

N° d'ordre 31/2016

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Mr : Moulay SADIKI

Discipline : Biologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Sujet de la thèse : Approche microbiologique et physicochimique de la biodétérioration du bois de cèdre : développement des produits de préservation à base des extraits de plantes aromatiques et médicinales.

Thèse présentée et soutenue le Samedi 29 Octobre 2016 à 10h au Centre de conférence devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
IRAQUI HOUSAINI Mohammed	PES	Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès	Président
EL MODAFAR Cherkaoui	PES	Faculté des Sciences et Techniques, Université Cadi Ayyad Marrakech	Rapporteur
EL GHACHTOULI Naima	PES	Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès	Rapporteur
FILALI MALTOUF Abdelkarim	PES	Faculté des Sciences-Rabat, Université Mohammed V-Agdal	Rapporteur
EL HASSOUNI Mohammed	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès	Examineur
BOUKIR Abdellatif	PES	Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès	Examineur
EL ABED Soumya	PA	Cité de l'innovation de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah	Invitée
IBNSOUDA KORAICHI Saad	PES	Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès	Directeur de thèse

Laboratoire d'accueil : Biotechnologie microbienne.

Etablissement : Faculté des Science et Techniques de Fès.



Titre de la thèse : Approche microbiologique et physicochimique de la biodétérioration du bois de cèdre : développement des produits de préservation à base des extraits de plantes aromatiques et médicinales.

Nom du candidat : Moulay SADIKI

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Résumé de la thèse

Le bois de cèdre est utilisé dans la construction de nombreux édifices faisant partie de patrimoine d'une grande importance culturelle, historique, archéologique, artistique et spirituelle. Cependant, comme toutes les surfaces inertes, ce bois est un site potentiel pour l'adhésion et la formation des biofilms par des micro-organismes, causant ainsi la détérioration de son aspect physique, esthétique et de ses propriétés mécaniques. L'objectif principal de ce travail était la mise au point d'un traitement de surface du bois de cèdre, basé sur l'exploitation des extraits de plantes médicinales et aromatiques *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*, pour préserver et stabiliser ce matériau.

L'isolement et l'identification des microorganismes colonisateurs du bois de cèdre ont mis en évidence la présence des bactéries appartenant au genre *Bacillus* et des champignons appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*. La préparation des extraits des plantes étudiées, tout en déterminant leurs profils phytochimiques et antimicrobiens vis-à-vis des microorganismes isolés a été réalisée. Les résultats obtenus montrent des activités antimicrobiennes variables des extraits de *M. communis* et *T. vulgaris*. Les huiles essentielles de ces plantes se sont montrées capables d'inhiber la croissance des souches étudiées, avec un meilleur effet enregistré par celle du *T. vulgaris*.

L'étude a porté ensuite sur l'effet des extraits sur la physicochimie du bois de cèdre et sur leur pouvoir antiadhésif vis-à-vis des microorganismes étudiés. Les résultats ont permis de mettre en lumière la présence d'une modification significative des propriétés physicochimiques du bois après traitement. De plus, une diminution significative de l'adhésion microbienne a été démontrée par les extraits obtenus par ultrason. Par la suite, l'effet des fractions de ces extraits sur l'adhésion théorique et expérimentale des microorganismes étudiés à la surface du bois a été examiné. Leurs fractions méthanoliques ont montré une activité antiadhésive plus importante que celles des autres fractions. Enfin, l'effet de la vapeur des huiles essentielles en fonction du temps sur la physicochimie du bois ainsi que sur le comportement adhésif des microorganismes du bois a été évalué. Le traitement a montré à la fois une modification des propriétés physicochimiques du bois et des propriétés antiadhésives et antimicrobiennes importantes. Ces résultats ont une signification importante pour leur exploitation comme méthode biologique de lutte contre les biofilms du bois et pour la préservation du patrimoine.

Mots clés : Bois de cèdre, Biodétérioration, Adhésion, Microorganismes, *T. vulgaris*, *M. communis*

A ma mère BERJADUI Amina

A la mémoire de mon père SADIKI El Houssain

A mes frères SADIKI Mohamed et SADIKI Charif

A mes sœurs

A mon cousin

Aziz EL HACHIMI

A mes oncles

Mohamed BERJADUI et EL Madani SADIKI

A DUARDI Mouhcine, PROUST Youssef et EL AZIZI Hamid

A mes chers amis

BALOUIRI Mounyr, BARKAI Hassan et MOHIM Mohamed

REMERCIEMENTS

D'abord et avant tout je remercie Dieu le tout puissant pour tout le courage, la santé et la force dont il m'a doté pour mener à bien ce travail.

La réussite de ce travail ne saurait possible sans le grand apport de mon directeur de recherche le Professeur SAAD IBNSOUDA KORAICHI et de ma co-directrice la Professeur EL ABED SOUMYA. Ils ont chacun à leur manière su me montrer la voie et me transmettre les valeurs et les qualités d'un chercheur.

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement et très chaleureusement Monsieur SAAD IBNSOUDA KORAICHI, Professeur à la Faculté des Science et Techniques de Fès, de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce projet au sein de son équipe, d'avoir suivi mon travail avec beaucoup d'intérêt et enthousiasme dans chaque instant, pour la confiance qu'il m'a témoignée, pour les grandes libertés qu'il m'a accordées dans la conduite de ce projet, pour son humanité, son soutien, sa rigueur scientifique, ses conseils pertinents et ses encouragements tout au long de ces années de recherches.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et à remercier très chaleureusement Madame EL ABED SOUMYA, Professeur à la Cité de l'Innovation de l'Université Sidi Mohamed Ben abdellah, pour l'intérêt qu'elle a toujours porté à mon travail, pour les nombreuses discussions scientifiques, pour sa bonne humeur, sa gentillesse, son sourire et son agréable assistance, ses encouragements ainsi que pour son soutien et ses conseils judicieux. Je tiens à lui adresser également mes remerciements pour les relectures et la grande aide qu'il m'a apporté lors de la rédaction de mon mémoire de thèse. J'ai beaucoup appris à votre contact, et je pense sincèrement que je n'aurais pas pu trouver meilleurs encadrants que vous deux. Merci infiniment !

J'adresse ma sincère gratitude à Messieurs les Professeurs CHARKAOUI EL MODAFAR, Vice Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech et Directeur du Laboratoire de Biotechnologie de la Valorisation et la Protection des Agro-ressources ; Pr. ABDELKARIM FILALI-MALTOUF, Directeur du Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire FSR, et Pr. NAIMA EL GHACHTOULI, Professeur à la Faculté des Science et Techniques de Fès, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'être rapporteurs et d'honorer ma soutenance de thèse.

De même je remercie vivement Messieurs les Professeurs, EL HASSOUNI Mohammed, Vice Doyen de la Faculté des Sciences Dhar Mahraz et Pr. BOUKIR Abdellatif, Professeur à la

Faculté des Science et Techniques de Fès, pour avoir accepté d'être examinateurs de mon travail.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à Monsieur le Professeur IRAQUI HOUSAINI Mohammed, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse.

Mes remerciements sont aussi adressés au Professeur FIKRI BENBRAHIM KAWTAR pour son soutien, encouragement, sympathie ainsi que son aide au cours de la rédaction de ce manuscrit. Je la remercie aussi de m'avoir accordé sa confiance en m'attribuant le rôle d'assistant des travaux pratiques pour les étudiants de Licence, de Cycle d'Ingénieur et de Master.

Mes plus vifs remerciements sont aussi adressés aux chers Professeurs de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, HAGGOURD ABDELATIF, EL FARRICHA OMAR, BAKHTI KHADIJA, GUSSI SANAE, HOUARI Abdellah TAHRI JOUTI ALI, FARAH ABDELLAH, AANANOU SAMIR, CHADLI, Nourddine, SKALLI Hakima, BENSLIMANE Rachid, LACHKAR Mohammed, KERBAL Abdelali, BOUTAHRI Said, MOUSTAKIM Mohamed, BAHAFID Wifak et MANNI Laila. C'est également un réel et grand plaisir de travailler auprès de vous, de bénéficier de vos expériences et de vos soutiens et de partager nos discussions scientifiques. J'exprime ma vive reconnaissance également à tous les enseignants du département du Biologie et du laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès qui m'ont tant aidé durant la réalisation de ce travail, et plus particulièrement Professeur EL HARCHELI Hassan.

Je remercie cordialement les membres de l'équipe du laboratoire d'extraction et synthèse chimique de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques de Taounate pour leur soutien, leur disponibilité et de vie pratique au laboratoire.

Un grand merci et mon respect également aux membres de la Cité de l'Innovation de Fès avec qui j'ai travaillé (ou pas) pendant cette thèse, AMAL EL ABEEDY, HAKIMA EL KNIDERI, RAJA et EL HOUCINE, REDOUANE OUAFI, AKHAZANE MOHAMED et Mamoun pour leur gentillesse, pour leur amour et pour leur immense générosité.

Je veux remercier tout particulièrement mon collègue et ami BALOUIRI MOUNYR, que j'estime énormément. Donc, «considérable» merci pour ta disponibilité, ton aide en statistique, ton écoute, ton amour, ton immense générosité, tes discussions, aussi bien scientifiques que personnelles. Merci encore une fois mon véritable ami et pilier pour les moments agréables passés ensemble depuis notre Master 2009 : tu es pour moi plus qu'un frère.

De grands, spéciaux et sincères remerciements vont également à mon collègue et ami BARKAI HASSAN, avec qui j'ai passé beaucoup de mon temps libre dans ce Laboratoire et qui a été d'une grande aide durant mes manipulations au sein du Laboratoire de Biotechnologie microbienne. Merci pour ta disponibilité, ton soutien, ta patience, ton écoute, tes conseils avisés, encouragements, ton amitié, tes réponses, tes questions, nos discussions, aussi bien scientifiques que personnelles. Merci pour les bons moments et souvenirs partagés durant ces années de recherches.

J'adresse mes profondes amitiés aux docteurs, doctorants, stagiaires et étudiants que j'ai eu le plaisir de côtoyer au laboratoire et en-dehors: LEBRAZI Sara (SARITA), MOHIM Mohamed, CHRAIBI Marwa (Marwita et Bayanita), ASRI Meryem, NAKKABI Asmae, BENNOUNA Fadoua, OUEDRHIRI Wessal, EL AMINE Oumaima, LOUKILI Jihad, OUYAHIA Douaae, EL ABED Alae, LEKBACH Yassir, MISBAH Asmae, KOUCHOU Aziza, TIRRY Nabil, LHOUTI Asmae, MAATAOUI Hajar, MAGHNIA Fatima, EL BERGADI Fatima, LAACHARI Faouzi, HALOUI Taoufik, HAZZOUMI Zakaria, MOUSTAKIM YOUSSEF, HAFSI Maha, SLAOUI Kenza, BENTABT Loubna, ELJABOURI Abdelkarim, EL AZZAOU Samir, IDRISSE Mohamed, FADIL Mouhcine, HAJJAJI Mouhamed, BACHAR Azzeddine, NASRI Abdelbar, ZERIOUL Jawhara, EL MAHTAL Karima, AMOSSOU Gaffan, HAFSSI Maha, EL KHADIR Mounia, AOULLAY Zineb, BEN Taoufik, KADIRI Zaina, BASE Hasnae, SAYAH Yassine, ADMANT Fedoua, SAMI Soumia, MENI Abdelkader, BEKKALI Noura, AIT HMAD abdelmajid, BAKKALI Halim, FAHIM Soumya, OURID Btissam, LMIR mohamed, LAPOINTE Adrien, MAKRAN Ilham, ETTADILI Hamza, LAKHLIFI Tarik, HEROUANE Omar, THAMSSOUN Mostapha, EL QUACIMY Farid, El AIRAJ Hicham, EL HILALI Youssef et OUMAROUCHE Amine. Une "spéciale" dédicace à chacun de vous (sans développer car je vais allégrement dépasser le nombre de pages allouées !). Voilà, j'espère que je n'ai oublié personne, et si c'est le cas je m'en excuse !

Enfin, ce travail est l'aboutissement de nombreuses années d'étude, tant ici à Fès comme à Errachidia auxquelles l'amour et le soutien inconditionnel de ma famille ont largement contribué. Je remercie particulièrement mes parents, mes frères et mes sœurs : Hakima, Hasania, Nezha, Charifa, Zohrae et Zolikha. Un énorme merci à Michel Proust (Youssef), SADIKI Mohamed, OUARDI Ghizlane, EL BAHR BTISSAM, EL JAOUHARI OUFAR et EL BAHR Ayoub, EL HACHIMI Hafid.

Je ne saurais clore ce paragraphe sans penser à tous ceux qui de près ou de loin m'ont soutenu tant moralement que matériellement, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

AVANT PROPOS

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre d'un programme National de Développement de Recherche Sectorielle proposé et coordonné par le Laboratoire de Biotechnologie Microbienne de l'Université Sidi Mohamed Ben abdellah (LBM-USMBA). Ce projet (n° RS/2011/35) est intitulé « Valorisation des plantes médicinales et aromatiques: application comme agent antibiofilm pour la conservation du patrimoine marocain ». Dans ce projet, la question principale était la présence d'un biofilm sur le bois de cèdre causant ainsi la biodétérioration et la biodégradation de notre patrimoine historique et culturel abritant des monuments de valeurs, témoins d'une civilisation marocaine millénaire, classé comme patrimoine universel en 1981 par l'UNESCO.

Ce travail s'intègre dans la continuité des travaux réalisés dans le cadre de l'Équipe d'Ingénierie des Biofilms et Génie enzymatique au sein du LBM-USMBA, sous le thème de recherche « Isolement et lutte contre les microorganismes impliqués dans la biodégradation du bois et du papier du patrimoine de l'ancienne médina de Fès » débuté en 2008.

Le tableau ci-après résume l'ensemble des travaux réalisés dans le cadre de ce projet de recherche.

Tableau I : Travaux réalisés dans le cadre du projet n° RS/2011/35 au LBM-USMBA

Docteurs	Titre de la thèse	Travaux réalisés	Références
Zyani Mourad (Juin 2013)	Isolement, identification et lutte contre les microorganismes impliqués dans la biodégradation du bois de l'ancienne Médina de Fès	- Isolement et identification des microorganismes destructeurs du bois de cèdre (champignons appartenant aux genres <i>Penicillium</i>, <i>Cladosporium</i> et <i>Thielavia</i> et bactéries du genre <i>Bacillus</i>) et détermination de leurs activités enzymatiques (cellulolytique) et leurs pourritures du bois. - Étude du pouvoir antifongique <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> des huiles essentielles d'<i>Origanum compactum</i> et d'<i>Eugenia caryophyllata</i>, et des souches d'actinomycètes comme méthode de lutte biologique contre les microorganismes causant la dégradation du bois.	(Zyani <i>et al.</i> 2009, 2011, 2014) (Mortabit <i>et al.</i> 2010, 2015)
El Bergadi Fatima (Mars 2014)	Isolement, identification et lutte contre les microorganismes impliqués dans la biodégradation du bois et du papier du patrimoine de l'ancienne médina de Fès	- Isolement et identification des espèces microbiennes attachés au bois et au papier (champignons appartenant aux genres <i>Penicillium</i> et <i>Aspergillus</i> et bactéries du genre <i>Bacillus</i>), et étude de leurs mécanismes enzymatiques (cellulolytique, amylolytique, pectinolytique et ligninolytique) impliqués dans l'altération de ces deux matériaux en fonction de température et du pH. - Confirmation de l'implication de ces microorganismes dans le processus de biodétérioration de ces matériaux par le test de pourriture et de perte de masse. - Évaluation de l'effet antifongique <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> des extraits et des huiles essentielles d'<i>Origanum compactum</i>, d'<i>Eugenia caryophyllata</i>, d'<i>Allium sativum</i>, de <i>Lawsonia inermis</i> et de <i>Thymus vulgaris</i> vis-à-vis des champignons isolés du bois et du papier.	(El Bergadi <i>et al.</i> 2011, 2014, 2015, 2016)

El Abed Soumya (Juillet 2012)	Approche microbiologique et physico-chimique de la biocontamination du bois de cèdre : développement de stratégies de prévention par les huiles essentielles	- Étude de l'écosystème microbien présent à la surface du bois de cèdre, et la caractérisation moléculaires et physico-chimique par l'angle de contact des micro-organismes isolés. - Étude des mécanismes physico-chimiques régissant l'adhésion des micro-organismes au bois de cèdre ainsi que leur adhésion théorique au bois de cèdre et d'autres variétés du bois utilisées dans la construction. - Étude des paramètres influençant (pH, rugosité) l'adhésion des micro-organismes au bois de cèdre. - Évaluation de l'effet de la vapeur des composés majoritaires des HE (en fonction du temps et de concentration) sur la physicochimie du bois et sur le comportement adhésif des champignons du bois pour le protéger et le préserver contre les biofilms.	(EL Abed <i>et al.</i> 2010, 2012, 2011a, 2011b, 2011c, 2012a, 2012b, 2012c, 2012d, 2013)
Barkai Hassan (Thèse en cours)	Étude des caractéristiques physicochimiques du bois et prévention de l'adhésion microbienne	- Isolement et identification des espèces microbiennes attachés au bois de cèdre. - Étude de l'effet des composés majoritaires des huiles essentielles sur la physicochimie du bois de cèdre. - Évaluation du pouvoir antifongique et antiadhésif des composés majoritaires des huiles essentielles vis-à-vis des champignons responsables de la bio détérioration du bois de cèdre. - Étude de l'effet des enzymes microbiens (commercialisés) sur les propriétés physicochimiques du bois de cèdre ainsi que sur l'adhésion fongique. - Étude de l'impact de l'adhésion microbienne sur la physicochimie du bois.	(Barkai <i>et al.</i> 2014, 2015a, 2015b, 2016a, 2016b, 2016c, 2016d)

VALORISATION DES TRAVAUX DE THÈSE

PUBLICATIONS INTERNATIONALES

- [1] **Sadiki, M.**, El Abed, S., Barkai, H., Laachari, F., Ibnsouda Koraichi, S., 2015a. The impact of *Thymus vulgaris* extractives on cedar wood surface energy: Theoretical and experimental of *Penicillium* spores adhesion. *Industrial Crops and Products* 77, 1020–1027.
- [2] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, A., Asri, M., Mohamed, M., Ibnsouda Koraichi, S., Elabed, S., 2016. The Anti-Adherent Activity of Plant Extracts on *Penicillium commune* Spores Causing Cedar Wood Decay: An ESEM Analysis. *The Journal of Adhesion*. 92, 295–305.
- [3] **Sadiki, M.**, Barkai, H., Ibnsouda Koraichi, S., El Abed, S., 2014a. The effect of the *Thymus vulgaris* extracts on the physicochemical characteristics of cedar wood using angle contact measurement. *Journal of Adhesion and Science Technology*, 28, 1925–1934.
- [4] **Sadiki, M.**, El Abed, S., Balouiri, M., Barkai, H., Maataoui, H., Ibnsoud Koraichi, S., 2014b. Synergistic antibacterial effect of *Myrtus communis* and *Thymus vulgaris* essential oils fractional inhibitory concentration index. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 6–9.
- [5] **Sadiki, M.**, El Abed, S., Barkai, H., Balouiri, M., El Bergadi, F.Z., Ibnsouda Koraichi, S., 2016. Plant Extracts Effect on the Cell Fungal Surface Hydrophobicity and Acid-base Properties. *Research Journal of Microbiology*, 11, 139–145.
- [6] **Sadiki, M.**, El Abed, S., Barkai, H., Balouiri, M., Nasri, A., Ibnsouda Koraichi, S., 2016 The cedar wood surface properties modification to prevent fungal adhesion. *International Journal of Adhesion and Adhesives* (accepté).
- [7] **Sadiki, M.**, El Abed, S., Balouiri, M., Barkai, H., El Bergadi, F.Z., EL Farrich, O., Ibnsouda Koraichi, S., 2016. Combined effect of essential oils against bacteria associated with deterioration of historical wood. *Journal of Materials and Environmental Science* (accepté).
- [8] **Sadiki, M.**, El abed, A., El Aabedy, A., El Abed, S., Farah, A., Iraqui, H., Ibnsouda Koraichi, S., 2015b. Characterization and antibacterial activity of the essential oil from *Thymus vulgaris* cultivated in Morocco (Taounat) against ten Bacteria. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 314–325.
- [9] Barkai, H., **Sadiki, M.**, El Abed, S., Boutahari, S., Ibnsouda Koraichi, S., 2015a. The-Effect-of-Carvacrol-and-Carvone-Treatments-on-the-Cedar-Wood-SurfacePhysico-chemical-Properties. *International Journal of Scientific and Engineering Research*. 6, 767–771.
- [10] Barkai, H., **Sadiki, M.**, El Abed, S., Moustakim, M., Iraqui Houssaini, M., Ibnsouda Koraichi, S., 2015b. Comparison of the evolution of Physico-chemical properties due to

- the single and combined adhesion of two species of the *Penicillium* genus on cedar wood. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6, 749–755.
- [11] Balouiri, M., **Sadiki, M.**, Ibnsouda Koraichi, S., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71–79.
- [12] Barkai, H., El abed, S., **Sadiki, M.**, Balouiri, M., Koraichi Ibnsouda, S., 2016. Antifungal Activity and Physico-chemical Surface Properties of the Momentaneously Exposed *Penicillium expansum* Spores to Carvacrol. *Research Journal of Microbiology*, 11, 178–185.
- [13] Barkai, H., El Abed, S., **Sadiki, M.**, Iraqui Houssaini, M., Ibnsouda Koraichi, S., 2014. A Study on the Impact of the Adhesion of *Penicillium expansum* on the Physicochemical Surface Properties of Cedar Wood. *The Journal of Adhesion*, 92 , 341–348.
- [14] Barkai, H., Elabed, S., **Sadiki, M.**, Balouiri, M., Maataoui, H., Koraichi, I.S., 2016. Evaluation of Hydrophobic-hydrophilic Properties and Anti-adhesive Potential of the Treated Cedar Wood by Two Essential Oil Components Against Bioadhesion of *Penicillium expansum* Spores. *Journal of Applied Sciences*, 16, 372–379.
- [15] Barkai, H., Elabed, S., **Sadiki, M.**, Boutahari, S., Mounyr, B., Omar, E.F., 2016. The Effect of Cellulase Treatment Time on the Cedar Wood Surface Physicochemical Properties. *American Journal of Advanced Scientific Research*, 3, 296–304.
- [16] Barkai, H., Elabed, S., **Sadiki, M.**, Balouiri, M., Ibnsouda, K.S., 2016. Impact of enzymatic treatment on wood surface free energy: contact angle analysis. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 4243, 1–9.
- [17] El Bergadi, F., Laachari, F., **Sadiki, M.**, Elabed, S., Iraqui, M.H., Ibnsouda, S.K., 2016. Determination of endoglucanase activity of paper decaying fungi from an old library at the ancient Medina of Fez. *Microbiology*, 85, 47–55.
- [18] El Bergadi, F., Laachari, F., **Sadiki, M.**, Megzari, A., El abed, S., Iraqui, H., Ibnsouda, K., 2015. Antifungal effect of Moroccan *Lawsonia inermis* leaf extracts on the growth of filamentous fungi isolated from historical wood. *International journal of current research*, 7 , 14237–14240.
- [19] Maataoui, H., Barkai, H., **Sadiki, M.**, Haggoud, A., Ibnsouda Koraichi, S., El Abed, S., 2014. Physicochemical characterization of actinomycetes isolated from decayed cedar wood: contact angle measurement. *Journal of Adhesion and Science Technology*, 28, 2046–2053.

COMMUNICATIONS ORALES

- [1] **Sadiki, M.**, El Abed, S., Barkai, H., Balouiri, M., Ibnsouda Koraichi, S. The effect of *Myrtus communis* extract on cedar wood surface energy : Theoretical and experimental of fungal adhesion. The 3^{ed} International Conference “Microbial Biotechnology for Development” MICROBIOD 3, du 24 au 26 Octobre 2016, Mohammedia (Maroc).
- [2] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Étude de l’effet des fractions de l’extrait de *Myrtus communis* sur la physicochimie du bois de cèdre et sur l’adhésion des spores fongiques « *Penicillium commune* et *Thielavia hyalocarpa* ». 5^{ème} Colloque Bioadhésion Biocontamination des surfaces, du 5 au 7 Mai 2015, Beni Mellal (Maroc).
- [3] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Balouiri, M., Ibnsouda Koraichi, S. Étude de l’activité antiadhésive des huiles essentielles vis-à-vis des bactéries du bois de cèdre : L’angle de contact et le Microscope Électronique à Balayage ». Journée doctorale du Laboratoire de Biotechnologie Microbienne, du 13 Juin 2015, Fès (Maroc).
- [4] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Valorisation des plantes médicinales et aromatiques dans l’activité antibiofilm : Cas d’inhibition de l’adhésion des spores fongiques dégradant le bois par les fractions de l’extrait de *Thymus vulgaris*. 1^{ème} Rencontre International des Jeunes Chercheurs sur les Plantes Aromatiques et Médicinales, du 29 au 31 Octobre 2014, Meknès (Maroc).
- [5] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Study of the effect of the *Thymus vulgaris* extracts on the physicochemical characteristics of cedar wood and on the adhesion behavior of *Penicillium* spores using contact angle measurement. 2nd International Congress of Plant Biodiversit, du 27 au 29 Mars 2014, Marrakech (Maroc).
- [6] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Asri, M., Loukili, J., Ibnsouda Koraichi, S. Activité antiadhésive des plantes médicinales et aromatiques-cas du *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*. 5^{ème} Symposium International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales (SIPAM₅), du 14 au 16 Novembre 2013, Marrakech (Maroc).
- [7] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Asri, M., Loukili, J., Farah, A., Ibnsouda Koraichi, S. Évaluation de l’activité antiadhésive des extraits de plantes médicinales et aromatiques. Symposium Franco-marocain BIOADHESION-BIOFILM, 28 Mai 2013, Fès (Maroc).

POSTERS

[1] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Balouiri, M., Ibnsouda Koraichi, S. Effet antiadhésif de la vapeur des huiles essentielles vis-à-vis de *Bacillus safensis* causant la biodégradation du bois. Congrès international Biotechnologie au Service de la Société « BioSeS 2015 » du 22 au 24 Octobre, FST-Fès (Maroc).

[2] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Balouiri, M., Ibnsouda Koraichi, S. Surface properties modification of the cedar wood to prevent microbial adhesion. The International Conference « HUMBOLDT KOLLEG », BoHMena'IS Beacons of Hope in the Quest for the Next Einstein in the MENA region, du 3 au 6 Mars 2015, Fès, (Maroc).

[3] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Utilisation des extraits de plantes comme agents antibiofilm pour la préservation du bois. École Internationale de Microscopie Électronique (**EIME**) du 29 Septembre au 4 Octobre 2014, Cité de l'Innovation de Fès (Maroc).

[4] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Nouveaux produit biologiques pour la préservation du bois de cèdre basé sur le concept biophysique. 2^{ème} Forum Universitaire Maghrébin des Arts, Patrimoine & Innovation du 17 au 20 Marc 2014, Rabat-(Maroc).

[5] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Evaluation of the effect of plant extracts on the wood physicochemical properties and on the adhesive behavior of *Penicillium* spores. 2^{ème} Edition des Journées Jeunes Chercheurs de la Société Marocaine de la Chimie Thérapeutique (SMCT) du 20 au 21 Décembre 2013, Kénitra, (Maroc).

[6] **Sadiki, M.**, Barkai, H., El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S. Plantes médicinales et aromatiques : application comme agent antibiofilm pour la conservation de patrimoine marocain (bois de cèdre). Doctoriales du 13 au 15 Février 2013, Cité de l'Innovation de Fès (Maroc).

RÉSUMÉ

Le bois de cèdre est utilisé dans la construction de nombreux édifices faisant partie de patrimoine d'une grande importance culturelle, historique, archéologique, artistique et spirituelle. Cependant, comme toutes les surfaces inertes, ce bois est un site potentiel pour l'adhésion et la formation des biofilms par des microorganismes, causant ainsi la détérioration de son aspect physique, esthétique et de ses propriétés mécaniques. L'objectif principal de ce travail était la mise au point d'un traitement de surface du bois de cèdre, basé sur l'exploitation des extraits de plantes médicinales et aromatiques *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*, pour préserver et stabiliser ce matériau.

L'isolement et l'identification des microorganismes colonisateurs du bois de cèdre ont mis en évidence la présence des bactéries appartenant au genre *Bacillus* et des champignons appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*. La préparation des extraits des plantes étudiées, tout en déterminant leurs profils phytochimiques et antimicrobiens vis-à-vis des microorganismes isolés a été réalisée. Les résultats obtenus montrent des activités antimicrobiennes variables des extraits de *M. communis* et *T. vulgaris*. Les huiles essentielles de ces plantes se sont montrées capables d'inhiber la croissance des souches étudiées, avec un meilleur effet enregistré par celle du *T. vulgaris*.

L'étude a porté ensuite sur l'effet des extraits sur la physicochimie du bois de cèdre et leur pouvoir antiadhésif vis-à-vis des microorganismes étudiés. Les résultats ont permis de mettre en lumière la présence d'une modification significative des propriétés physicochimiques du bois après traitement. De plus, une diminution significative de l'adhésion microbienne a été démontrée par les extraits obtenus par ultrason. Par la suite, l'effet des fractions de ces extraits sur l'adhésion théorique et expérimentale des microorganismes étudiés à la surface du bois a été examiné. Leurs fractions méthanoliques ont montré une activité antiadhésive plus importante que celles des autres fractions. Enfin, l'effet de la vapeur des huiles essentielles en fonction du temps sur la physicochimie du bois ainsi que sur le comportement adhésif des microorganismes du bois a été évalué. Le traitement a montré à la fois une modification des propriétés physicochimiques du bois et des propriétés antiadhésives et antimicrobiennes importantes. Ces résultats ont une signification importante pour leur exploitation comme méthode biologique de lutte contre les biofilms du bois et pour la préservation du patrimoine.

Mots clés : Bois de cèdre, Biodétérioration, Adhésion, Microorganismes, *T. vulgaris*, *M. communis*

ABSTRACT

Cedar wood is used in the construction of many buildings that are part of heritage characterized by great cultural, historical, archaeological, artistic and spiritual importance. However, like all inanimate surfaces, the wood is a potential site for the adhesion and biofilm formation by microorganisms, causing the deterioration of its physical appearance, aesthetics and mechanical properties. The main objective of this work was the development of a surface treatment of cedar wood, based on the exploitation of extracts from medicinal and aromatic plants, *Thymus vulgaris* and *Myrtus communis*, in order to preserve and stabilize this material.

Isolation and identification of microorganisms colonizing cedar wood revealed the presence of bacteria belonging to the genus *Bacillus*, and fungi belonging to the genus *Penicillium* and *Aspergillus*. The preparation of extracts from the studied plants and the determination of their phytochemical profiles and antimicrobial activities against the isolated microorganisms were performed. The obtained results showed different antimicrobial activities of *M. communis* and *T. vulgaris* extracts. The essential oils of these plants have shown capable of inhibiting the growth of strains studied, with better effect recorded by that of *T. vulgaris*.

The study has then focused on the crude extracts effect on the cedar wood physicochemistry and their antiadhesive activity against the isolated microorganisms. The results highlighted the presence of a significant change in the physicochemical properties of wood after treatment. In addition, a significant decrease in microbial adhesion was demonstrated by the extracts obtained by ultrasound. Subsequently, the effect of the fractions of these extracts on the theoretical and experimental adhesion, of the studied microorganisms, on wood surface was examined. Their methanol fractions showed a greater antiadhesive activity than other ones. Finally, the effect of the essential oils vapor, with time, on the wood physicochemistry and on the adhesion behavior of the wood microorganisms was evaluated. The treatment showed together, a modification of the wood physicochemical properties and important antiadhesive and antimicrobial properties. These results have important significance for their exploitation as a biological method to fight against the wood biofilms and for heritage preservation

Keywords: Cedar wood, Biodeterioration, Adhesion, Microorganisms, *T. vulgaris*, *M. communis*.

ملخص

يستعمل خشب الأرز في تشييد العديد من المعالم التراثية ذات قيمة ثقافية، تاريخية، أثرية وفنية. لكن وككل المواد الخاملة، يعتبر هذا النوع من الخشب مجالا مناسباً لالتصاق الكائنات الدقيقة وتكوين مستعمرات جرثومية تدعى البيوفيلم (Biofilm)، الشيء الذي يسبب تدهور جوانبه الفيزيائية والجمالية وكذا خصائصه الميكانيكية. يتمثل الهدف الرئيسي لهذه الدراسة في تطوير أساليب تحافظ على سطح خشب الأرز باستعمال مستخلصات نباتين عطريتين وطببتين هما الزعتر (*Thymus vulgaris*) والريحان (*Myrtus communis*) .

أوضح عزل وتحديد الكائنات الدقيقة المستعمرة لخشب الأرز وجود بكتيريا من نوع *Bacillus* و فطريات من نوع *Aspergillus* و *Penicillium*. بعد ذلك تم تحضير مستخلصات النباتين المدروستين ودراسة مواصفاتها الكيميائية ونشاطهما المضاد للميكروبات ضد المتعضيات المجهرية المستخرجة . أوضحت النتائج وجود اختلاف في حدة النشاط المضاد للميكروبات بالنسبة لمستخلصات نباتي الزعتر والريحان. كما بينت هذه النتائج قدرة زيوتها الأساسية على كبح نمو الميكروبات المدروسة مع تسجيل أفضل فعالية لزيت الزعتر.

ركزت الدراسة كذلك على تقييم تأثير المستخلصات على الخصائص الفيزيوكيميائية لخشب الأرز وكذا مفعولها المضاد لالتصاق الميكروبات المدروسة. مكنت النتائج المحصلة من إظهار وجود تغيير ملحوظ على الخصائص الفيزيوكيميائية للخشب بعد المعالجة. بالإضافة إلى تسجيل انخفاض ملموس في التصاق الميكروبات بواسطة المستخلصات المحصل عليها بتقنية الموجات فوق-الصوتية. بعد ذلك تمت دراسة تأثير أجزاء هذه المستخلصات على الالتصاق النظري والتطبيقي على سطح الخشب للميكروبات المدروسة، تبين من خلالها أن الأجزاء الميثانولية أظهرت أقصى نشاط مضاد لالتصاق مقارنة مع الأجزاء الأخرى.

في النهاية تم تقييم مفعول بخار الزيوت الأساسية على الخصائص الفيزيوكيميائية للخشب بدلالة الزمن وكذلك على كيفية التصاق المكروبات المستخرجة. العلاج أظهر في آن واحد تغييرا في الخصائص الفيزيوكيميائية للخشب ووجود خصائص مضادة لالتصاق و للميكروبات ذات فعالية مهمة. لهذه النتائج أهمية كبيرة حيث يمكن استغلالها كطريقة بيولوجية لمحاربة تكون البيوفيلم على الخشب وبالتالي الحفاظ على التراث.

الكلمات الرئيسية : خشب الأرز، تدهور ، التصاق، كائنات دقيقة، الزعتر، الريحان

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
AVANT PROPOS.....	iii
VALORISATION DES TRAVAUX DE THÈSE.....	iv
RÉSUMÉ.....	v
ABSTRACT.....	vi
ملخص.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	x
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. BIOFILMS MICROBIENS.....	5
1. Définition d'un biofilm.....	5
2. Processus de formation du biofilm	5
3. Modèles théoriques prédictifs de l'adhésion des microorganismes aux surfaces.....	8
3.1. Approche DLVO classique.....	9
3.2. Approche thermodynamique.....	12
3.3. Approche DLVO étendue	13
4. Facteurs influençant l'adhésion microbienne.....	14
4.1. Facteurs liés au microorganisme.....	15
4.2. Facteurs liés à la surface solide.....	16
4.3. Film organique	17
4.4. Caractéristiques du milieu environnant	18
4.5. Nettoyage des surfaces	19
II. BIODÉGRADATION DU BOIS DE CÈDRE PAR LES BIOFILMS.....	20
1. Bois de cèdre et son exploitation.....	20
2. Dégradation microbienne du bois.....	21

2.1. Rappel sur la composition chimique du bois	22
2.1.1. Cellulose	22
2.1.2. Hémicellulose.....	23
2.1.3. Lignine	23
2. 2. Agents biotiques responsables de la biodégradation du bois	24
2.2.1. Champignons du bois	24
2.2.2. Bactéries du bois	27
3. Systèmes enzymatiques impliqués dans la dégradation du bois	29
3.1. Dégradation enzymatique de la cellulose et de l'hémicellulose	29
3.2. Dégradation enzymatique de la lignine.....	30
4. Dégradation du bois des œuvres monumentales.....	31
5. Biofilms sur le bois.....	32
III. PRÉSERVATION DU BOIS ET LUTTE CONTRE LES BIOFILMS	34
1. Préservation du bois	34
2. Méthodes de lutte contre les biofilms.....	35
2.1. Méthodes physiques	35
2.2. Méthodes chimiques.....	37
2.3. Méthodes biologiques	37
IV. SUBSTANCES BIOACTIVES DES PLANTES AROMATIQUES ET	
MÉDICINALES	40
1. Aperçu sur les plantes étudiées.....	40
1.1. <i>Myrtus communis</i> L.	41
a. Description botanique.....	41
b. Localisation	42
c. Utilisation médicinales et traditionnelles.....	42
1. 2. <i>Thymus vulgaris</i> L. ...	44
a. Description botanique.....	44
b. Localisation.....	45
c. Utilisation médicinales et traditionnelles.....	46
2. Huiles essentielles et composés phénoliques.....	47
2.1. Définitions	47
2. 2. Techniques d'extraction.....	48
2. 3. Activités biologiques.....	49

2.4. Utilisation des plantes aromatiques et médicinales comme agents antiadhésifs et antibiofilms	50
---	----

PARTIE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES MICROORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LA BIODÉTÉRIORATION DU BOIS DE CÈDRE	54
1. Prélèvement, préparation des échantillons et isolement des microorganismes attachés au bois	54
2. Repiquage et conservation des souches	55
3. Identification moléculaire des isolats	55
3.1. Extraction de l'ADN génomique	55
3.2. Amplification de l'ADNr 5,8S (champignons) et de l'ADNr 16S (bactéries) par PCR.....	56
3.3. Électrophorèse sur gel d'agarose	58
3.4. Séquençage des ADN amplifiés.....	59
3.5. Analyse informatique des séquences.....	60
II. ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS DE <i>MYRTUS COMMUNIS</i> ET <i>THYMUS VULGARIS</i>.....	61
1. Matériel végétal	61
2. Extraction des huiles essentielles	61
2.1. Détermination de l'humidité	61
2.2. Détermination du rendement en huiles essentielles	62
2.3. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles	62
3. Préparation des extraits méthanoliques	63
3.1. Extraction par macération	63
3.2. Extraction par ultrason	65
3.3. Détermination du rendement en extraits bruts	65
4. Screening phytochimique des extraits	65
5. Dosage des composés phénoliques	67
5.1. Dosage des polyphénols totaux	67
5.2. Dosage des flavonoïdes	67
6. Fractionnement des extraits bruts.....	68

III. ÉTUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DES EXTRAITS DE <i>MYRTUS COMMUNIS</i> ET <i>THYMUS VULGARIS</i>	68
1. Étude de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits méthanoliques	68
1.1. Méthode de diffusion sur disques	68
1.2. Technique de diffusion sur des puits (agar-well diffusion method)	69
1.3. Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI), de la concentration minimale bactéricide (CMB) et de la concentration minimale fongicide (CMF)	70
2. Effet antibactérien et antifongique des huiles essentielles	72
2.1. Méthode de diffusion sur disque	72
2.2. Détermination de la CMI, CMB et CMF	72
IV. CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE DES SURFACES ET ÉTUDE DU POUVOIR ANTIADHÉSIF DES EXTRAITS DES PLANTES ÉTUDIÉES	73
1. Caractérisation physicochimique de la surface du bois de cèdre et des microorganismes par l'angle de contact	73
1.1. Angle de contact	73
1.2. Caractérisation physicochimique du bois de cèdre	76
1.2.1. Préparation du substrat	76
1.2.2. Mesure de l'angle de contact	76
1.3. Caractérisation physicochimique des microorganismes	77
1.3.1. Conditions de culture et préparation des souches bactériennes et fongiques	77
1.3.2. Mesures de l'angle de contact	78
2. Effet des extraits bruts obtenus par macération et ultrason sur la physicochimie du bois de cèdre	78
3. Étude de l'activité antiadhésive des extraits de <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Myrtus communis</i> vis-à-vis des spores de <i>Penicillium commune</i>	78
3.1. Préparation de la suspension fongique	78
3.2. Test de l'adhésion	79
3.3. Analyse et observation du comportement adhésif des spores fongiques par le Microscope Électronique à Balayage Environnemental	79
3.4. Quantification de l'adhésion de spores fongiques au bois de cèdre par le logiciel Matlab®	80

4. Effet des fractions des extraits obtenus par ultrason sur l'énergie de surface du bois de cèdre : Étude de l'adhésion théorique et expérimentale des microorganismes dégradant le bois	81
4.1. Effet de différentes fractions préparées sur la physicochimie du bois de cèdre	81
4.2. Calcul de l'énergie libre d'interaction totale entre les microorganismes et le bois après traitement par les différentes fractions testées : Théorie de DLVO étendue	81
4.3. Étude de l'adhésion expérimentale des microorganismes au bois de cèdre après traitement par les différentes fractions testées	82
5. Étude de l'effet des huiles essentielles des plantes étudiées sur la physicochimie du bois de cèdre	82
6. Étude de l'activité antiadhésive de la vapeur des huiles essentielles testées vis-à-vis des microorganismes dégradant le cèdre	83
V. ANALYSE STATISTIQUE	83

PARTIE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. MICROORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LA BIODÉTÉRIORATION DU BOIS DE CÈDRE	85
1. Flore microbienne attachée à la surface du bois	85
2. Souches microbiennes identifiées	86
II. CARACTÉRISTIQUES PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS DE <i>THYMUS VULGARIS</i> ET <i>MYRTUS COMMUNIS</i>	90
1. Taux d'humidité et rendements en huiles essentielles	90
2. Composition chimique des huiles essentielles	91
3. Rendements en extraits bruts	94
4. Screening phytochimique	95
5. Teneurs des extraits en composés phénoliques	98
6. Rendements et teneurs en polyphénols totaux des fractions préparées	99
III. POUVOIR ANTIMICROBIEN DES EXTRAITS DES PLANTES ÉTUDIÉES CONTRE LES AGENTS DESTRUCTEURS DU BOIS	100

1. Activité antibactérienne et antifongiques des extraits bruts	101
1.1. Méthodes de diffusion sur disque	101
1.2. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits de <i>M. communis</i>	103
2 Activité antibactérienne et antifongiques des huiles essentielles	104
2.1. Méthode de diffusion sur disque.....	104
2.2. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles	106
2.3. Concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles	110
IV. CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE DES SURFACES ET	
ÉTUDE DU POUVOIR ANTIADHÉSIF DES EXTRAITS DES PLANTES	
ÉTUDIÉES	113
1. Caractérisation physicochimique du bois de cèdre et des microorganismes étudiés par la méthode d'angle de contact	113
2. Effet des extraits de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. communis</i> sur les propriétés physico-chimiques du bois de cèdre et sur le comportement adhésif des microorganismes	118
2.1. Caractéristiques physicochimiques du bois après traitement par les extraits obtenus par macération et ultrason	118
2.2. Effet antiadhésif des extraits de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i> vis-à-vis de <i>Penicillium commune</i>	121
3. Effet de différentes fractions des extraits obtenus par ultrason sur la physicochimie du bois : Adhésion théorique et expérimentale des microorganismes dégradant le bois	125
3.1. Propriétés physicochimiques du bois après traitement	125
3.2. Adhésion théorique des microorganismes à la surface du bois après traitement : Approche DLVO étendue	126
3.3. Effet des fractions testées sur l'adhésion expérimentale des microorganismes au bois de cèdre	132
4. Effet du temps de contact avec la vapeur des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Myrtus communis</i> sur la physicochimie du bois et sur l'adhésion microbienne	140
4.1. Effet de la vapeur des huiles essentielles sur la physicochimie du bois de cèdre.	140
4.2. Pouvoir antiadhésif de la vapeur des huiles essentielles étudiées vis-à-vis des microorganismes du bois	143
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	146
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	152
ANNEXES.....	184

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition chimique du bois de cèdre	22
Tableau 2 : Revue des différents travaux concernant l'étude des biofilms à la surface du bois .	33
Tableau 3 : Différentes méthodes de lutte contre les biofilms du bois	39
Tableau 4 : Classification botanique de <i>Myrtus communis</i> L.....	42
Tableau 5 : Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	45
Tableau 6 : Revue des différents travaux concernant la lutte contre les biofilms par les PAMs	51
Tableau 7 : Milieux de culture et conditions d'incubation en fonction des microorganismes....	55
Tableau 8 : Séquences des amorces utilisées dans la réaction PCR	56
Tableau 9 : Composition des mélanges réactionnels utilisés pour les PCR d'amplifications des ADNs génomiques	57
Tableau 10 : Programme de la PCR utilisé pour l'amplification des ADNs génomiques	58
Tableau 11 : Mélange réactionnel du séquençage	60
Tableau 12 : Programme d'amplification (séquençage)	60
Tableau 13 : Caractéristiques énergétiques (en mJ/m ²) des liquides utilisés pour la mesure des angles de contact	75
Tableau 14 : Isolats obtenus à partir du bois des deux sites étudiés	85
Tableau 15 : Résultats d'identification moléculaire de la communauté bactérienne et fongique isolées du bois de cèdre.....	87
Tableau 16 : Récapitulatif des microorganismes isolés à partir du bois de cèdre des monuments historiques et identifiés au sein du laboratoire de Biotechnologie Microbienne.....	89
Tableau 17 : Composition chimique des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Myrtus communis</i>	93
Tableau 18 : Rendements en extraits méthanoliques de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i>	95
Tableau 19 : Analyse phytochimique de différents extraits de <i>M. communis</i> et <i>T. vulgaris</i>	97
Tableau 20 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits préparés	98
Tableau 21 : Rendements des fractions préparées (en mg/g) et leurs teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g).....	100
Tableau 22 : Activité antibactérienne et antifongique des extraits de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. communis</i> vis-à-vis des microorganismes étudiés.....	101
Tableau 23 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) des extraits méthanoliques de <i>Myrtus communis</i> vis-à-vis des bactéries étudiées.....	103

Tableau 24 : Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. communis</i> vis-à-vis des microorganismes étudiés.....	105
Tableau 25 : Concentrations minimales d'inhibition (CMI) des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i> vis-à-vis des bactéries étudiées.....	107
Tableau 26 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i> vis-à-vis des bactéries étudiées.....	108
Tableau 27 : Concentrations minimales d'inhibition (CMI) des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i> vis-à-vis des champignons étudiés.....	111
Tableau 28 : Concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i> vis-à-vis des champignons étudiés.....	112
Tableau 29 : Angle de contact par rapport aux différents solvants et énergie libre d'interaction (ΔG_{wi}) du bois de cèdre et des microorganismes étudiés.....	114
Tableau 30 : Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneur d'électrons (γ^-) et d'accepteur d'électrons (γ^+) du bois de cèdre et des microorganismes étudiés.....	116
Tableau 31 : Angle de contact par rapport aux différents solvants et énergie libre d'interaction (ΔG_{wi}) du bois de cèdre avant et après traitement par les extraits de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i>	118
Tableau 32 : Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) du bois de cèdre après traitement par les extraits de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i>	119
Tableau 33 : Angle de contact par rapport aux différents solvants et énergie libre d'interaction (ΔG_{wi}) du bois de cèdre traité par les différentes fractions testées.....	125
Tableau 34 : Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) du bois de cèdre après traitement par les différentes fractions testées	126
Tableau 35 : Energies libres de Van der Waals ΔG^{LW} (mJ/m ²), acide-base ΔG^{AB} (mJ/m ²) et totale ΔG^{Tot} (mJ/m ²) de l'adhésion des micro-organismes à la surface du bois avant et après traitement par les différentes fractions testées	128
Tableau 36 : Quantification de l'adhésion des spores fongiques étudiées à la surface du bois de cèdre traité avec les différentes fractions des extraits de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. communis</i>	136
Tableau 37 : Effet du temps de contact avec la vapeur des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. communis</i> sur l'hydrophobicité et l'énergie libre d'interaction (ΔG_{wi}) du bois de cèdre	141
Tableau 38 : Effet du temps de contact avec la vapeur des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. communis</i> sur le caractère donneur-accepteur d'électrons du bois de cèdre.....	142

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm	6
Figure 2 : Schéma descriptif des interactions pouvant s'établir entre deux corps et distances pour lesquelles ces interactions sont significatives	7
Figure 3 : Représentation schématique des énergies interfaciales mises en jeu lors de l'adhésion d'un micro-organisme (M) en suspension dans un liquide (L) à un support (S). (a) pas d'adhésion (b) adhésion	11
Figure 4 : Exemples d'utilisation du bois de cèdre dans les monuments et sites historiques de la médina de Fès (a) La médersa Sahrij (b) La médersa Saffarine (c) El Najjarine (d) Minaret de la mosquée Sidi Ahmed Tijani	21
Figure 5 : a) Structure moléculaire de la cellulose. b) Représentation schématique des zones cristallines et amorphes de la cellulose	22
Figure 6 : Principaux composants de l'hémicellulose.....	23
Figure 7 : Précurseurs de la biosynthèse de la lignine	23
Figure 8 : Échantillons représentatifs des différents types de pourriture de bois : (a) décoloration par les moisissures ; (b) pourriture brune (notez la forme cubique et la couleur foncée du bois, (c) pourriture blanche (notez l'aspect blanchi) (d) pourriture molle	26
Figure 9 : Aspects de l'attaque du bois par les bactéries de tunnels comme visualisées en utilisant la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie électronique en transmission (MET). a) La sécrétion visqueuse typique qui permet l'entrée de ces bactéries dans les cellules du lumen du bois. b) bactéries renfermées dans les tubes extracellulaire formés et fixés sur les cellules du lumen du bois. 1.0 µm.....	28
Figure 10 : MEB et MET micrographies montrant les bactéries d'érosion attaquant le bois. a) étape de décomposition précoce en forme de tige encapsulés au niveau de la paroi cellulaire de le lumen du bois ; b) l'attaque de la paroi des cellulaire secondaire en formant des canaux d'érosion. a, 0.4µm b, 1.0 µm.....	28
Figure 11 : Schéma général de la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose. a) Schéma d'un système cellulosique montrant les différentes enzymes impliquées dans la dégradation. Le schéma propose l'intervention des expansines, protéines pouvant perturber les liaisons hydrogènes entre les polysaccharides des parois cellulaires sans les hydrolyser. b) Schéma d'un système de dégradation des hémicelluloses	30
Figure 12 : Quelques exemples de la dégradation des œuvres monumentales de la Médina de Fès. a) Médersa Sahrij. b) Ancienne maison de la Médina de Fès. d) Médersa Sbaiyine	31

Figure 13 : Aspects morphologiques de <i>Myrtus communis</i> L.....	41
Figure 14 : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	45
Figure 15 : Espèces de plantes étudiées	61
Figure 16 : Fiche descriptive des techniques d'extraction, de fractionnement et d'analyse phytochimique des extraits de <i>T. vulgaris</i> et <i>M. communis</i>	64
Figure 17 : Principe de la méthode de diffusion par disque.....	69
Figure 18 : Diffusion sur des puits (agar-well diffusion method), observation après l'incubation.....	70
Figure 19 : Schéma de la technique de microdilution pour le test antibactérien	70
Figure 20 : Réduction de la résazurine en résorufine catalysée par des enzymes d'origine bactérienne	71
Figure 21 : Représentation du modèle de Young, mesure de l'angle de contact liquide/solide ..	74
Figure 22 : Angle de contact θ formé par une goutte d'eau sur une surface hydrophobe (a) et hydrophile (b).....	74
Figure 23 : Mesure de la rugosité avec le rugosimètre « Mitutoya SJ 301 »	76
Figure 24 : Appareil d'angle de contact GBX France.....	77
Figure 25 : Protocole de l'adhésion des microorganismes au bois	79
Figure 26: Microscope électronique à balayage environnemental.....	80
Figure 27 : Humidité des deux plantes étudiées.....	90
Figure 28 : Rendement en huile essentielle obtenue par hydrodistillation.....	90
Figure 29 : Observation par ESEM de l'adhésion de la souche <i>Penicillium commune</i> à la surface du bois de cèdre avant et après traitement (x 1500)	122
Figure 30 : Pourcentage d'adhésion de <i>Penicillium commune</i> à la surface du bois avant et après traitement par les extraits de plantes étudiées.....	123
Figure 31: Corrélation entre l'énergie libre totale d'interaction et l'hydrophobicité du bois traité (a) et son caractère donneur d'électrons (b) (champignons).....	130
Figure 32 : Corrélation entre l'énergie libre totale d'interaction et l'hydrophobicité du bois traité (a) et son caractère donneur d'électrons (b) (bactéries).....	131
Figure 33 : Clichés microscopiques des spores de <i>P. commune</i> (d'') à la surface du bois de cèdre traité avec les fractions d'acétate d'éthyle, méthanol et hexane -acétate d'éthyle de <i>T. vulgaris</i> (FAT, FMT, FHAT) et de <i>M. communis</i> (FAM, FMM, FHAM) (x 1000).....	133
Figure 34 : Clichés microscopiques des spores de <i>P. commune</i> (d10) à la surface du bois de cèdre traité avec les fractions d'acétate d'éthyle, méthanol et hexane -acétate d'éthyle de <i>T. vulgaris</i> (FAT, FMT, FHAT) et de <i>M. communis</i> (FAM, FMM, FHAM) (x 1000).....	134

Figure 35 : Clichés microscopiques des spores de <i>T. hyalocarpa</i> à la surface du bois de cèdre traité avec les fractions d'acétate d'éthyle, méthanol et hexane -acétate d'éthyle de <i>M. communis</i> (FAM, FMM, FHAM) (x 1000).....	135
Figure 36 : Corrélation entre le pourcentage de l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre et l'hydrophobicité (a) et le caractère donneur d'électrons (b)	137
Figure 37 : Corrélation entre l'énergie libre totale d'interaction et le pourcentage de l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois traité. a) : <i>P. commune</i> (d''), b) : <i>P. commune</i> (d10), c) : <i>T. hyalocarpa</i>	139
Figure 38 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> sur l'adhésion de <i>B. subtilis</i> et <i>B.safensis</i> à la surface du bois évaluée en fonction du temps de traitement (x 1000).....	144
Figure 39 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur de l'huile essentielle de <i>M. communis</i> sur l'adhésion de <i>B. subtilis</i> et <i>B. safensis</i> à la surface du bois évaluée en fonction du temps de traitement (x 1000).....	144
Figure 40 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> (a) et <i>M. communis</i> (b) sur l'adhésion de <i>P. commune</i> (d'') à la surface du bois évaluée en fonction du temps de traitement (x 1000)	145

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN	: Acide DésoxyriboNucléique
ADNr	: Acide DésoxyriboNucléique Ribosomal
ARN	: Acide Ribonucléique
ARNr	: Acide RiboNucléique Ribosomal
BET	: Bromure d’Ethidium
CMB	: Concentration minimale bactéricide
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
DLVO	: Derjaguin et Landau et Verwey et Over Beek
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
EDTA	: Éthylène-diamine-tétra-acétate sodique
EM	: Extrait de Malt
EPS	: Exopolysaccharides
GC-MS	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
H	: Heure
HE	: Huile essentielle
IK	: Indice de Kovàts
LB	: Luria Bertani
MATH	: Adhésion Microbienne aux Hydrocarbures
MATS	: Adhésion Microbienne aux Solvants
MEBE	: Microscope Electronique à Balayage Environnemental
Min	: Minute
PAM	: Plantes Aromatiques Médicinales
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PGE/DEX	: Partage entre phase aqueuse non miscibles polyéthylène glycol et dextran
Rpm	: Rotation par minute
UFC	: Unité formant colonie
XPS	: X-Ray Photoélectron Spectroscopy

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis des siècles, le bois a occupé une place centrale dans la vie et les activités humaines. En effet, il est omniprésent dans la construction des maisons, des monuments historiques et d'édifices, ainsi que dans la fabrication d'équipements variés, d'instruments divers, etc. Parmi les espèces de bois employées au Maroc, en passant par l'époque des dynasties arabo-berbères, il y a le bois du cèdre qui est pourvu de nombreuses qualités. Il fut le matériau noble le plus exploité en architecture rencontré fréquemment dans les villes impériales marocaines dont la ville de Fès. Cette dernière regorge d'un patrimoine en bois d'une haute importance culturelle, historique, archéologique, artistique et spirituelle. En fait, le bois du cèdre a été utilisé dans la construction, l'ornementation et la décoration de maisons, palais, mosquées, fondouks, fours, fontaines..., ainsi que dans la construction des médersas d'éducation religieuse et de formation scientifique (M'hirit et Benzyane, 2006; Ouedraogo, 2008). Toutefois, ce fameux patrimoine est menacé de partir en fumée au fil des années. En effet, le bois se caractérise par son caractère naturel, biodégradable et sa sensibilité à de nombreux agents de dégradation biotiques dont les champignons et les bactéries. Ces microorganismes colonisent le bois en formant des biofilms et produisent des enzymes hydrolytiques capables de décomposer ses constituants, en provoquant ainsi l'altération de ses propriétés esthétiques, mécaniques, physicochimiques et la diminution de sa durabilité et, par conséquent, sa biodétérioration (Fazio *et al.* 2010, Ortiz, *et al.* 2014a).

Depuis plusieurs décennies, de nombreuses études ont porté sur le processus de formation des biofilms microbiens, essentiellement sur les mécanismes impliqués dans leur étape clé l'adhésion, sur une grande variété de matériaux telles que le plastique, le polypropylène, le caoutchouc, l'acier inoxydable, la pierre, le téflon et le verre (Hamadi *et al.* 2005, Hornstra *et al.* 2007, Scheerer *et al.* 2009, Estivill *et al.* 2011, Limsuwan *et al.* 2014). Cependant, peu sont des investigations qui ont été menées sur les biofilms du bois et les interactions bois/microorganismes ce qui suscite un intérêt grandissant (Mariani *et al.* 2007, El Abed *et al.* 2011, Galinari *et al.* 2014, Barkai *et al.* 2015).

Pour pallier aux inconvénients du bois naturel, particulièrement son instabilité dimensionnelle et sa sensibilité aux agents microbiens, plusieurs approches de préservation et de stabilisation basées sur les méthodes physiques ou chimiques ont été utilisées. En effet, différentes études sur le traitement thermique du bois ont été rapportées dans la littérature (Bakar *et al.* 2013, Kamperidou *et al.* 2013, Araujo *et al.* 2016). Leurs résultats expérimentaux ont démontré que

même si ce traitement améliore la stabilité dimensionnelle et la durabilité du bois traité, la forte odeur de ce matériau et la baisse de ses propriétés mécaniques restent ses inconvénients. En outre, plusieurs produits chimiques (biocides) ont été utilisés pour protéger le bois. Cependant, bien que permettant d'améliorer considérablement les propriétés du bois, l'utilisation des produits chimiques fait l'objet de restrictions de plus en plus importantes voire d'interdiction pure et simple pour certains produits, du fait de leur toxicité potentielle pour la santé publique et pour les écosystèmes, par la mise en place de la Directive biocide (98/8/CE) et de la prise de conscience collective pour la protection de l'environnement. Ainsi, l'importance de substituer les procédés à base de produits chimiques par des procédés plus propres et plus respectueux de l'environnement, a poussé plusieurs chercheurs à mener des investigations et de développer de nouvelles alternatives pour la protection du bois en utilisant les produits naturels (biomolécules) dans l'objectif de réduire voire d'éradiquer complètement les nuisances des traitements chimiques.

C'est dans ce cadre que s'intègre notre travail de thèse, dont l'objectif principal est la préservation du patrimoine culturel et historique de l'ancienne médina de Fès en valorisant nos ressources naturelles en plantes aromatiques et médicinales.

De ce fait, notre travail réalisé dans un esprit de pluridisciplinarité avait pour objectifs : i) la caractérisation et l'identification des microorganismes responsables de la biodétérioration du bois de cèdre, ii) la compréhension et la maîtrise des mécanismes impliqués dans l'adhésion et la formation des biofilms à la surface du bois et, iii) la caractérisation physicochimique des surfaces et la mise au point d'un bois antiadhésif à des fins de prévention de la formation du biofilm à la surface de ce matériau via des traitements à base des extraits de deux plantes *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*.

L'ensemble de ce travail se décompose en trois parties. La première partie du manuscrit est consacrée à une étude bibliographique relative au phénomène de biodétérioration, de l'adhésion et de la formation des biofilms sur les supports en abordant au début un aperçu général sur le processus, les modèles théoriques et les facteurs influençant ce phénomène d'adhésion microbienne. Ensuite, nous mettrons l'accent sur la problématique du sujet en décrivant d'une manière générale l'importance du bois de cèdre dans notre société et sa biodétérioration. Nous présentons par la suite une revue sur les différents traitements de préservation du bois. Enfin, un aperçu sur l'utilisation des substances biologiques à base des plantes comme agents antiadhésifs et antibiofilms.

La seconde partie est consacrée à la description du matériel et des méthodes analytiques utilisées pour caractériser l'écosystème microbien attachés au bois, réaliser des études

phytochimiques des extraits de deux plantes étudiées et pour évaluer leurs activités antimicrobiennes, antiadhésives et physicochimiques ciblées.

La dernière partie du mémoire exposera les résultats obtenus et leur discussion. Les résultats, concernant l'isolement et l'identification moléculaire des microorganismes attachés au bois de cèdre seront d'abord abordés. Les résultats d'extractions et d'étude phytochimique de différents extraits préparés seront traités dans un deuxième temps, suivis de ceux visant à étudier leurs effets antimicrobiens vis-à-vis des microorganismes isolés. Ensuite, les résultats décrivant la caractérisation physicochimique du bois de cèdre, des microorganismes isolés et de l'évaluation du pouvoir antiadhésif des extraits de plantes étudiées seront donnés, avec une discussion permettant de mettre en évidence l'efficacité des traitements réalisés dans l'objectif de la protection de notre patrimoine. Enfin, une conclusion générale est consacrée à l'ensemble des résultats obtenus et aux différentes perspectives envisagées pour donner suite à ce travail.

PARTIE 1 :

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. BIOFILMS MICROBIENS

Depuis l'époque pasteurienne, la plupart des études du laboratoire menées par les microbiologistes ont porté sur des cellules en suspension. Cependant, dans la majorité des écosystèmes naturels étudiés, le mode planctonique est très rarement rencontré ou ne constitue qu'un état transitoire. Durant ces 20 dernières années, les microbiologistes ont pris conscience que le mode de croissance bactérien utilisé au laboratoire avait ses limites. En effet, dans la nature, la vie microbienne se déroule majoritairement et préférentiellement à l'état sessile, fixé sur un support plutôt qu'à l'état planctonique, libre et isolé dans le milieu environnemental. Ce mode de vie constitue une réelle stratégie de survie par la mise en place et le développement d'une communauté véritablement organisée, à laquelle Costerton a donnée le nom de « biofilm » (Costerton *et al.* 1978, Costerton 2007).

1. Définition d'un biofilm

Le biofilm est défini comme une communauté microbienne (bactéries, champignons, protozoaires ou algues) adhérant à une surface biotique ou abiotique ou à une interface en milieu humide ou aqueux. Ces micro-organismes sessiles sont enrobés dans une matrice autoproduite, constituée d'exopolysaccharides (EPS) protectrice, hautement hydratée et adhésive et dans laquelle ils font intervenir le système « Quorum Sensing ». Ce système est un mode de signalisation bactérien qui repose sur la production de petites molécules médiatrices appelées « auto-inducteurs » (Lahaye 2006). Le mode de vie microbienne en biofilm constitue une réelle stratégie de la survie de ces communautés sessiles qui diffère de celui de leurs homologues planctoniques (libre en suspension) et qui leur procure de nombreux avantages dont, la stabilité, l'augmentation de l'efficacité du métabolisme et l'augmentation de différents types de résistance contre les différents mécanismes antimicrobiens (Molin et Tolker-Nielsen 2003, Vázquez-Sánchez *et al.* 2014).

2. Processus de formation du biofilm

La formation d'un biofilm à l'interface solide/liquide en présence de microorganismes est un phénomène dynamique complexe dans lequel des processus physicochimiques (diffusion, adhésion...) et biologiques (production d'exo-polymères, formation d'agrégats...) sont impliqués (Celmer *et al.* 2008, Andersson *et al.* 2009). Comme les premières études le montrent, les biofilms se forment de la même manière quel que soit l'environnement qu'ils colonisent et suivent généralement les grandes étapes suivantes (Figure 1) (Stoodley *et al.* 2002).

- Transport
- Phase de conditionnement
- Adhésion réversible et irréversible
- Croissance et maturation du biofilm
- Dispersion du biofilm.

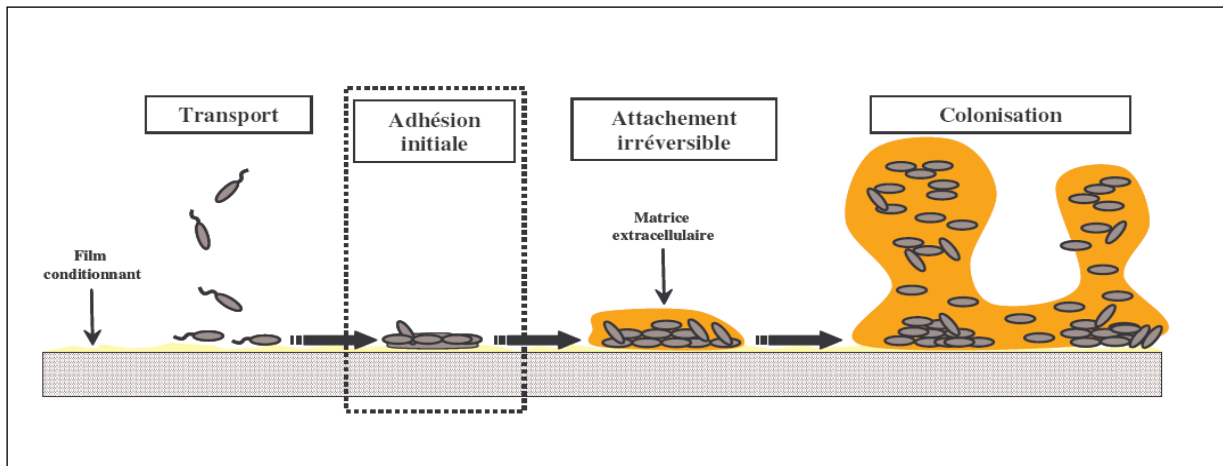


Figure 1 : Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm (Stoodley *et al.* 2002).

Transport

L'adhésion des microorganismes sur les surfaces est forcément précédé d'un rapprochement entre les deux éléments qui se fait par le transport des cellules. Ce rapprochement dépend des propriétés dynamiques du milieu (vitesse d'écoulement du fluide) et des propriétés physicochimiques de la surface (Stoodley *et al.* 2002).

L'adhésion microbienne implique le déplacement de la cellule vers le lieu de son adhésion. Cette approche nécessite différents appendices bactériens, tels que les flagelles et les cils (Katsikogianni et Missirlis 2004) qui permettent également à la bactérie de se déplacer sur la surface. D'autres appendices, les pili sont pour leur part impliqués dans l'attachement initial à la surface (Gavín *et al.* 2003).

Les différents mécanismes de ce transport sont : la sédimentation (due aux forces de gravité), le mouvement brownien (mouvement lié à l'énergie de surfaces des molécules immergées dans un milieu liquide) et la chimiotaxie rencontré chez les espèces mobiles.

Phase de conditionnement

La nature du milieu, du matériau, ainsi que ses caractéristiques physicochimiques, interviennent essentiellement durant cette deuxième étape. En effet, avant que les bactéries ne viennent au contact du support, un mélange complexe composé de protéines, de glycoprotéines et de nutriments organiques, forme un film de conditionnement sur la surface,

qui va modifier ses propriétés physicochimiques, notamment la polarité et la mouillabilité, ce qui permet de créer une zone riche en nutriments qui va favoriser ou au contraire défavoriser la croissance et l'adhésion microbienne.

Adhésion réversible et irréversible des microorganismes

L'adhésion des microorganismes sur une surface solide est un processus s'effectuant en plusieurs étapes : transport vers la surface, adhésion réversible, adhésion irréversible.

L'adhésion réversible constitue l'étape initiale de l'interaction entre les cellules et le support. Elle est aussi facilitée par les forces hydrodynamiques et les propriétés physicochimiques à la fois de la surface du support et de la bactérie (Katsikogianni et Missirlis 2004).

Les forces hydrodynamiques vont permettre aux micro-organismes de se déplacer dans le milieu et de rapprocher aléatoirement au support. Ensuite, L'adhésion initiale s'effectue par l'intervention des interactions non spécifiques de type Van der Waals dite « force à longue distance », électrostatiques, interactions hydrophobes et les interactions acido-basiques dites « forces à courte distance » (Figure 2). A ce niveau, le microorganisme peut se détacher de la surface et retourner à son état planctonique, de ce fait, l'adhésion est réversible. Ensuite, l'adhésion devient irréversible par l'intermédiaire d'exo-polymères sécrétés par les microorganismes, qui se lient au support et forment avec la surface des complexes qui à leur tour vont fixer d'autres bactéries et assurer leur adsorption sur la surface (Khalilzadeh 2009). En plus, l'acquisition de nouvelles structures adhésives spécifiques, notamment les flagelles, et les pili, permet ainsi aux microorganismes la consolidation de leur fixation au matériau.

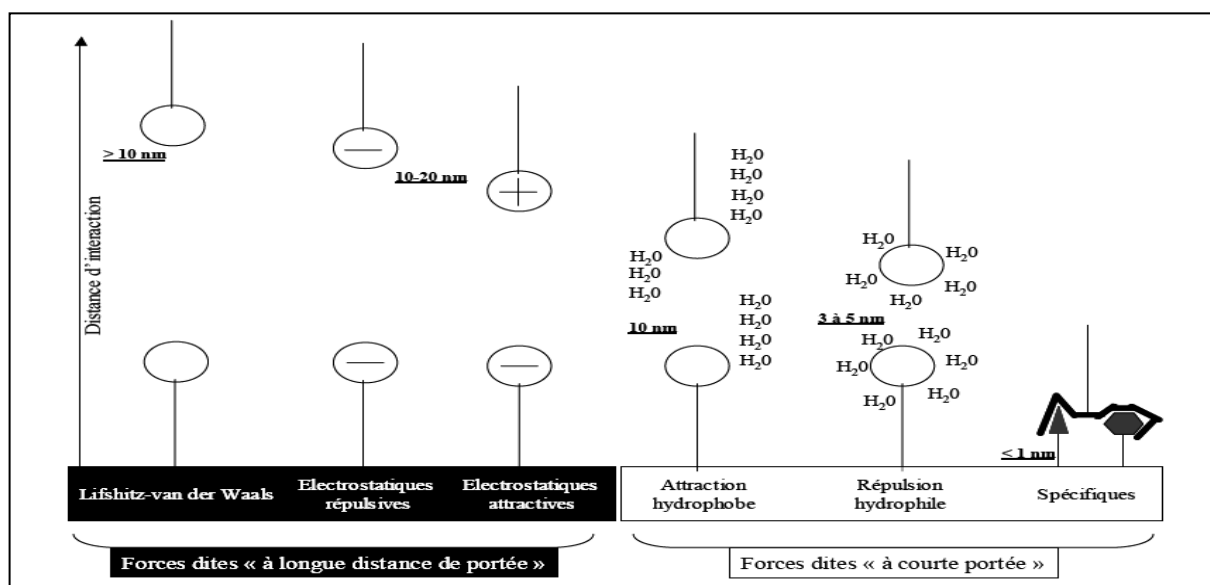


Figure 2 : Schéma descriptif des interactions pouvant s'établir entre deux corps et distances pour lesquelles ces interactions sont significatives (Guillemot 2006).

Croissance et maturation du biofilm

Une fois que les cellules microbiennes sont irréversiblement fixées sur la surface, elles commencent la colonisation en se multipliant de manière intense et rapide en recouvrant ainsi toute ou une partie de la surface. Les caractéristiques à la fois de la surface, des matériaux et des microorganismes ainsi que les conditions environnementales (source de carbone, régime hydrodynamique) jouent un rôle dans l'adhésion et l'agrégation des microcolonies, et par la suite jouent un rôle important dans le développement et la structure du biofilm (Klausen *et al.* 2006). Par la suite, le biofilm connaît une croissance exponentielle qui correspond aux vitesses et taux maximaux de production de biomasse, de protéines, de polysaccharides au sein de la structure ainsi que l'augmentation de son épaisseur, conduisant ainsi à un film hétérogène tridimensionnel (Davey et O'toole 2000, Sauer *et al.* 2002) caractérisé par la formation des canaux permettant l'échange, la circulation et la distribution des nutriments, d'oxygène et l'évacuation des déchets résultant du métabolisme microbien.

Dispersion du biofilm

Le détachement et la dispersion d'un biofilm est induit par plusieurs facteurs dont, le manque de nutriments, l'âge du biofilm, les stress (physique, chimique et biologique), ainsi que les conditions hydrodynamiques. C'est une étape essentielle du cycle de vie du biofilm en contribuant ainsi à la dispersion, la survie des microorganismes, la translocation et le rattachement des cellules à une nouvelle surface (Kaplan 2010). Plusieurs études ont montré que les enzymes extracellulaires produites par les bactéries (glycoside hydrolase, protéases, déoxyribonucléase) jouent un rôle très important dans le détachement et la dispersion du biofilm. En effet, ces molécules extracellulaires peuvent dégrader les composants de la matrice EPS du biofilm permettant la dispersion des cellules (Boles et Horswill 2008, Mann *et al.* 2009).

3. Modèles théoriques prédictifs de l'adhésion des microorganismes aux surfaces

L'adhésion microbienne sur une surface solide est un processus très complexe qui implique deux surfaces dont l'une au moins est de nature biologique. Les différents types d'interactions matériau/surface microbienne, qu'elles soient spécifiques ou non spécifiques et la diversité des facteurs impliqués, compliquent d'avantage l'analyse et la compréhension des données. Cependant, il faut noter que les interactions spécifiques et non spécifiques résultent des mêmes interactions physico-chimiques fondamentales.

Pour les interactions spécifiques, seules les forces entre des groupements présents et très localisés à la surface des corps sont prises en compte. Alors que, dans le cas des interactions non spécifiques, les forces intégrées sur la surface entière des corps sont prises en compte.

Dans l'approche physico-chimique « pure », on ne dissocie pas le vivant des autres matériaux. Les cellules sont identifiées comme des particules colloïdales idéales, sphériques et rigides, avec une surface parfaitement définie et uniforme.

Les molécules (atomes ou ions) de tout corps sont liées entre elles par des forces de différentes énergies assurant ainsi sa cohésion. En surface, les atomes sont liés par les liaisons non saturées et subissent un champ de force différent de celui exercé à l'intérieur cristallin. En plus, un champ de force superficiel attractif s'exerce sur ces atomes de surface en satisfaisant leurs liaisons chimiques permettant ainsi la symétrie à celui existant dans la matière. L'énergie qui est donc le résultat d'un équilibre s'établissant entre les forces extérieures subies par les atomes superficielles est dite une énergie libre de surface dans le cas d'un solide ou tension superficielle dans le cas d'un liquide (Kaoru 1998). Cette énergie est une grandeur physique qui comprend les interactions de Lifshitz-van der Waals, les interactions électrostatiques et les interactions polaires.

Pour comprendre l'adhésion des micro-organismes aux surfaces et pour déterminer l'énergie libre de surface, trois approches basées toutes sur la physico-chimie des surfaces ont été fournies et développées.

3.1. Approche DLVO classique

La théorie DLVO doit son nom aux auteurs qui l'ont développée indépendamment (Derjaguin et Landau 1941, Verwey 1947). D'après cette théorie, une particule qui s'approche à une certaine distance d'une surface donnée va interagir avec cette surface par des forces de type Lifshitz-van der Waals ou électrostatiques répulsives et/ou attractives.

La description du comportement des particules colloïdales donné par cette théorie, ne prend pas en considération les interactions intermoléculaires à courte distance. En effet, d'autres types d'interaction à savoir les liaisons hydrogènes peuvent être établies à des faibles distances et déterminent la force de l'adhésion irréversible que la théorie DLVO ne prévoit pas.

Bien que les microorganismes sont loin d'être des particules idéales et qu'ils n'ont ni géométrie simple ni composition moléculaire uniforme et sont donc difficilement « modélisables », la théorie DLVO peut toutefois être appliquée dans la prédiction de l'adhésion de ces microorganismes aux surfaces en les assimilant à des colloïdes lorsque leur

taille est voisine de 1µm. Selon la théorie DLVO, l'adhésion microbienne est le résultat d'un équilibre s'établissant entre les forces de van der Waals et les forces électrostatiques. L'énergie libre d'interaction nette totale ΔG^{TOT} , entre le micro-organisme et le support, séparés d'une distance d, est la somme des énergies libres liées aux interactions attractives de Van der waals ΔG^{LW} , et aux interactions électrostatiques ΔG^{EL} . Cette énergie est exprimée en mJ/m².

$$\Delta G^{TOT} = \Delta G^{LW} + \Delta G^{EL} \quad (1)$$

L'énergie d'interaction ΔG^{LW} liée aux forces de Lifshitz-van der waals, entre une sphère de rayon a et un plan, séparées d'une distance « d » est calculé selon la relation suivante.

$$\Delta G^{LW} = -\frac{A}{6} \left[\frac{2a(d+a)}{d(d+2a)} - \ln \left(\frac{d+2a}{d} \right) \right] \quad (2)$$

Où,

A: Constante de Hamaker

a : Rayon de la sphère,

d : Distance de séparation entre la sphère et le plan.

Cette énergie (ΔG^{LW}) est fonction de la nature de la particule, du solvant et du support, de leur géométrie et de la distance de séparation entre les corps. Elle est exprimée en mJ/m²

En cas de deux particules d'interaction identiques, ces forces sont généralement attractives ($\Delta G^{LW} < 0$). Elles sont maximales au contact, diminuent quand la distance entre les particules augmente et elles restent effectives à des distances de l'ordre de 10 nm.

L'énergie libre d'interaction électrostatiques entre une sphère de rayon a (de potentiel zéta ξ_1) et un plan (de potentiel zéta ξ_2), et à une distance d, s'écrit comme suit :

$$\Delta G^{EL} = \pi \epsilon a (\xi_1^2 + \xi_2^2) \cdot \left[\frac{2\xi_1\xi_2}{\xi_1^2\xi_2^2} \ln \frac{1+e^{(-Kd)}}{1-e^{(-Kd)}} + \ln(1 - e^{(-2Kd)}) \right] \quad (3)$$

$$\text{Avec } K = \sqrt{\frac{e^2}{\epsilon B T} \cdot \sum z_i n_i}$$

Où ϵ : permittivité du milieu (6,96.10-10 J.m⁻¹.V⁻² pour l'eau) e : charge des électrons (1,6021.10-19 C)

B : Constante de Boltzmann (1,3807.10-23 J.K⁻¹)

T : Température (K)

zi : valence des ions

ni : Nombre d'ions par cm³

Cette énergie est fonction de la nature de la particule, du solvant et du support, de leur géométrie, de la distance de séparation entre les corps et notamment de la force ionique du milieu. En effet, Satou *et al.* (1988) concluent que la diminution de la force ionique du milieu induit une augmentation des charges électrostatiques et par conséquent l'apparition de répulsions électrostatiques ce qui induit une diminution de l'adhésion bactérienne ($\Delta G^{\text{TOT}} > 0$). Cependant, à des forces ioniques élevées, les interactions électrostatiques sont masquées par les nombreuses charges du milieu et l'interaction totale est attractive, de part les forces de Lifshitz-van der Waals, ce qui favorise l'adhésion bactérienne ($\Delta G^{\text{TOT}} < 0$) (Boutalbe *et al.* 2008).

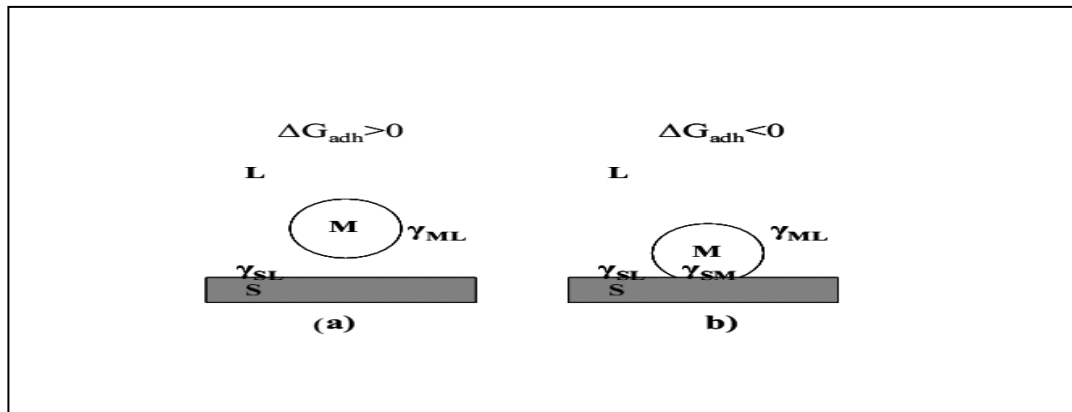


Figure 3 : Représentation schématisée des énergies interfaciales mises en jeu lors de l'adhésion d'un micro-organisme (M) en suspension dans un liquide (L) à un support (S). (a) pas d'adhésion (b) adhésion (Bos *et al.* 1999).

Bien que l'approche DLVO constitue une théorie intéressante dans l'étude de l'adhésion microbienne aux surfaces, en prenant compte des interactions à longues distances, cette théorie reste restreinte et présente des limites. En effet, elle prend en compte uniquement les interactions de Lifshitz-van der Waals et les interactions électrostatiques et néglige les interactions polaires. En plus, les contradictions entre la prédiction théorique et observations expérimentales ont été observées (Dufrêne *et al.* 1996). De ce fait, cette approche physicochimique ne peut pas décrire le comportement d'un microorganisme à des faibles distances d'un support, particulièrement en milieu aqueux, où les interactions hydrophiles et hydrophobes sont susceptibles d'être très importantes.

3.2. Approche thermodynamique

Lorsque le microorganisme se trouve en milieu suspendant énergétiquement faible, une couche d'eau est maintenue à l'interface de ce dernier et la surface du solide. Ainsi, son adhésion à ce matériau ne peut être établie que si ce film d'eau est éliminé.

D'après l'approche thermodynamique qui ne prend en compte que les interactions non électrostatiques (les interactions Van der Waals et acides-bases), la variation d'énergie libre de ce système correspond à l'énergie d'adhésion (ΔG_{adh}) exercée par le microorganisme pour supprimer cette couche d'eau et peut être déterminée en négligeant les interactions électrostatiques par l'équation suivante (Absolom *et al.* 1983).

$$\Delta G_{adh} = \Delta G_{MSL} = \gamma_{MS} - \gamma_{ML} - \gamma_{SL} \quad (4)$$

Où γ_{MS} , γ_{ML} et γ_{SL} représentent respectivement les énergies interfaciales entre le micro-organisme (M) et le support (S), le micro-organisme et le milieu liquide (L), le support et le milieu liquide. L'adhésion est énergétiquement favorable si l'énergie libre par unité de surface $\Delta G_{adh} < 0$. Au contraire, si ΔG_{adh} est positif, l'adhésion sera impossible.

La détermination des énergies libres de surface des trois entités (microorganisme, support, milieu de suspension) par l'angle de contact permet de calculer la variation d'énergie libre ΔG_{adh} accompagnant le phénomène de l'adhésion de ce microorganisme au support en milieu liquide en exploitant les équations suivantes :

Selon Van Oss et ses collaborateurs (Van Oss *et al.* 1986), l'expression de l'énergie libre non électrostatique entre un solide (S) et un liquide (L) s'écrit :

$$\Delta G_{SL}^{nonEL} = \Delta_{SL}^{LW} + \Delta_{SL}^{AB} \quad (5)$$

$$\text{Avec } \Delta_{SL}^{LW} = -2 \sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}}$$

$$\text{Et } \Delta_{SL}^{AB} = -2 \left(\sqrt{\gamma_S^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \gamma_L^+} \right)$$

Avec l'indice S désignant le solide et L le liquide, (γ^-) composante donneur d'électrons, (γ^+) composante accepteur d'électrons.

D'après l'équation de Dupré, nous avons donc

$$\Delta_{SL}^{LW} + \Delta_{SL}^{AB} = \gamma_{SL} - \gamma_S - \gamma_L \quad (6)$$

Avec γ_L : tension superficielle du liquide, γ_S : énergie de surface du solide et γ_{SL} : énergie interfaciale solide – liquide

D'après l'équation de Young, l'énergie interfaciale solide – liquide s'écrit comme suit ;

$$\gamma_{SL} = \gamma_S - \gamma_L \cos\Theta \quad (7)$$

En combinant l'équation 7 aux équations 5 et 6, l'équation de Young-Dupré est obtenue (Equation 8), ce qui permet de déterminer les propriétés de surface du solide ($\gamma_S^+, \gamma_S^-, \gamma_S^{LW}$), à partir de la mesure d'angles de contact de ce solide avec des liquides dont on connaît les caractéristiques polaires (γ_L^-, γ_L^+) et apolaires (γ_L^{LW}).

$$\gamma_L (\cos\theta + 1) = 2(\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW})^{1/2} + 2(\gamma_S^+ \gamma_L^-)^{1/2} + 2(\gamma_S^- \gamma_L^+)^{1/2} \quad (8)$$

Dans le cas d'un microorganisme (M), le même raisonnement peut être appliqué pour déterminer ses composantes de l'énergie de surface. Pour les liquides, la tension superficielle est facilement accessible de manière expérimentale : elle correspond à sa tension de vapeur (Bellon-Fontaine et Vernhet 1999).

Dans le cas d'un système à trois entités (microorganisme (M), surface (S) et liquide (L)), nous avons vu que l'équation de Dupré peut être appliquée (l'équation 4). Ainsi, Il est possible d'exprimer l'interaction entre le micro-organisme et la surface solide immergés dans un liquide (ΔG_{MSL}), en tenant compte des interactions de Lifshitz-Van der Waals et des interactions polaires selon l'équation suivante :

$$\Delta G_{MSL} = \Delta G_{adh} = 2 \left[\sqrt{\gamma_M^{LW} \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} - \sqrt{\gamma_M^{LW} \gamma_S^{LW}} - \gamma_L^{LW} + \sqrt{\gamma_L^+} \left[\sqrt{\gamma_M^-} + \sqrt{\gamma_S^-} - \sqrt{\gamma_L^-} \right] + \sqrt{\gamma_L^-} \left(\sqrt{\gamma_M^+} + \sqrt{\gamma_S^+} - \sqrt{\gamma_L^+} \right) - \left(\sqrt{\gamma_M^+ \gamma_S^-} - \sqrt{\gamma_M^- \gamma_S^+} \right) \right] \quad (9)$$

3.3. Approche DLVO étendue

Van Oss *et al.* (1986) ont développé l'approche DLVO classique afin de prendre en compte les interactions acido-basiques de Lewis au côté des interactions de Lifshitz-van der Waals et les interactions électrostatiques dans le phénomène d'adhésion des microorganismes aux surfaces. Ces interactions acido-basiques sont dues aux caractères électron-donneur et

électron-accepteur des espèces polaires en solution et prennent aussi en compte les forces d'attraction hydrophobes et les forces de répulsion hydrophiles.

Selon cette théorie, l'énergie libre d'interaction totale ΔG^{TOT} entre deux corps, séparés d'une distance d , est alors la résultante des interaction de Lifshitz-van der Waals, des interactions électrostatiques et des interactions acido-basiques dont l'influence est plus forte que les deux autres. Elle s'écrit donc selon l'équation suivante (Equation 10).

$$\Delta G^{TOT} = \Delta G^{LW} + \Delta G^{AB} + \Delta G^{EL} \quad (10)$$

Dans le cas d'un système sphère (micro-organisme)-plan (substrat), la variation de l'énergie d'interaction acido-basique en fonction de la distance (d) est exprimé par la formule ci-dessous (Van Oss 1994):

$$\Delta G_{AB}(d) = 2\pi a \lambda \Delta G_{adh}^{AB}(d_0) e^{\left(\frac{d_0-d}{\lambda}\right)}$$

Avec : a est le rayon de la sphère, λ est la longueur de corrélation qui concerne la molécule d'eau, d_0 est la distance à l'équilibre et ΔG_{adh}^{AB} c'est l'énergie libre d'interaction à la distance d'équilibre.

L'énergie libre d'interaction ($\Delta G_{adh}^{AB}(d_0)$) entre les entités peut être calculée en utilisant leurs caractères donneur/accepteur d'électrons (Van Oss 1994).

Les interactions acido-basiques sont des interactions à courte distance et elles ont un effet significatif même à des petites distances de séparation (5 nm à 10 nm) (Bos *et al.* 1999).

L'énergie libre d'interaction Δ^{AB} entre les deux entités 1 et 2 immergées dans un milieu liquide 3 est donnée par la relation suivante :

$$\Delta_{132}^{AB} = 2[(\gamma_3^+)^{1/2}((\gamma_1^-)^{1/2} + (\gamma_2^-)^{1/2} - (\gamma_3^-)^{1/2}) + (\gamma_3^-)^{1/2} \times ((\gamma_1^+)^{1/2} + (\gamma_2^+)^{1/2} - (\gamma_3^+)^{1/2}) - (\gamma_1^- \gamma_2^+)^{1/2} - (\gamma_1^+ \gamma_2^-)^{1/2}] \quad (11)$$

4. Facteurs influençant l'adhésion microbienne

L'adhésion microbienne aux surfaces solides constitue l'étape initiale de la formation des biofilms. Comme nous l'avons précédemment décrit, ce processus complexe est dépendant de l'énergie d'interaction entre les corps en présence des microorganismes, substrat et fluide environnant. Par conséquent, tous les paramètres capables de modérer et de changer ces interactions peuvent potentiellement influencer l'adhésion des microorganismes sur un

support solide. Dans les deux paragraphes qui suivent, nous présentons une liste non exhaustive des différents facteurs pouvant influencer l'adhésion microbienne.

4.1. Facteurs liés au microorganisme

Chaque famille de microorganismes possède des propriétés physicochimiques (hydrophobicité, charge électrostatique, donneur d'électrons/accepteur d'électrons) et des propriétés structurales (fimbriae, flagelle...) qui lui sont propres. Ainsi, toute modification de ces caractéristiques peut induire une augmentation ou une diminution de l'adhésion microbienne. Par exemple, Seale *et al.* (2008) ont montré que l'adhésion des spores de quatre *Geobacillus* spp., isolées à partir de lait en poudre, dépend des propriétés physicochimiques de leurs surfaces. En effet, la spore la plus hydrophile et ayant une petite charge négative s'est trouvée plus attachée au thermanox et l'acier inoxydable et moins adhérente sur le verre. Alors que, les spores des autres souches sont adhérentes d'une même manière sur tous les substrats étudiés. Il a été également démontré que l'adhésion de quatre souches de *Streptococcus* sur des alliages dentaires est influencée par leurs caractéristiques énergétiques. Ainsi, les souches les plus hydrophiles ont présentées les plus faibles taux d'adhésion (Grivet *et al.* 2000).

Dans la littérature scientifique, l'hydrophobicité de la surface cellulaire est généralement acceptée comme facteur important dans le phénomène d'adhésion (Liu *et al.* 2004, EL Abed *et al.* 2010). Une corrélation entre l'hydrophobicité de plusieurs microorganismes et leur adhésion à une surface solide a été mise en évidence par Van Loosdrecht *et al.* (1987), qui ont montré que les cellules hydrophobes adhèrent mieux que les cellules hydrophiles sur les supports hydrophobes. D'autres auteurs ont montré que l'adhésion bactérienne (spores) augmente avec l'hydrophobicité de leur surface ((Husmark et Rønner 1993). En plus de l'hydrophobicité, le rôle de la charge de la surface dans le phénomène de l'adhésion microbienne est bien discuté dans plusieurs travaux (Van Der Mei *et al.* 1997, Hamadi *et al.* 2005, El Abed *et al.* 2011).

Van Loosdrecht *et al.* (1989) ont montré que l'effet de la charge est plus important pour l'adhésion des cellules hydrophiles que les cellules hydrophobes. Henriques *et al.* (2004), et Hamadi et Latrache (2008) ont également rapporté que l'énergie des interactions acido-basiques est beaucoup plus importante que celle due aux interactions de Van der Waals ou interactions électrostatiques.

Les caractéristiques physicochimiques de surfaces des micro-organismes peuvent être influencées aussi par le mode de préparation de leur culture (Bruinsma *et al.* 2001). Neu 1996,

Peterson *et al.* (2012) ont montré que la centrifugation des cultures permettant un "lavage" des microorganismes peut induire des dommages et la rupture de flagelles et de pili, en modifiant la composition de leurs surfaces, et par conséquent, les caractéristiques énergétiques de surface bactérienne. Ainsi, la perte de ces organites (flagelles et pili) ayant un rôle remarquable dans le déplacement des microorganismes vers le support peut perturber le phénomène d'adhésion (Vatanyoopaisarn *et al.* 2000). Il a été également prouvé que la température de croissance avait un effet important sur l'adhésion bactérienne en influençant la mobilité électro-phorétique cellulaire, la production de flagelles ainsi que le caractère hydrophobe de la surface bactérienne. De même, La composition du milieu de culture, la température (Mai et Conner 2007, Zeraik et Nitschke 2012), l'aération de milieu de culture (Aguilar-Uscanga et François 2003), la force ionique et le pH restent aussi des paramètres importants qui influencent l'adhésion de microorganismes aux surfaces solides, en modifiant les composantes électrostatiques de ces derniers (Kim *et al.* 2010, Djeribi *et al.* 2013) ou celles des supports (Hamadi *et al.* 2009). Néanmoins, certains travaux ont rapporté que le taux d'adhésion ne varie pas en fonction du milieu suspendant et qu'aucune influence de la force ionique n'a été trouvée lors de l'évaluation de l'adhésion de levures sur le verre à des concentrations de 33, 150 et 330 mM (Mercier-Bonin *et al.* 2004).

4.2. Facteurs liés à la surface solide

Le type de métal ou de matériau, les propriétés physicochimiques du support, la topographie de surface (rugosité), les procédures de nettoyage et le conditionnement ou non de la surface par un film organique sont des paramètres importants à prendre en compte dans l'étude de l'adhésion microbienne.

Selon les caractéristiques énergétiques des surfaces solides, l'adhésion des microorganismes peut être augmentée ou diminuée (Liu *et al.* 2004, El Abed *et al.* 2011, Desrousseaux *et al.* 2013).

De nombreuses études ont montré également que les propriétés physiques d'une surface incluant la rigidité, la stabilité mécaniques, l'élasticité et la topographie influencent l'adhésion microbienne. Guégan *et al.* (2014) ont montré une bonne corrélation entre l'élasticité de surface et l'adhésion bactérienne. En effet, la souche *Pseudoalteromonas* sp. (Gram négative) a été trouvée mieux adhérente en plus grand nombre sur des surfaces rigides

Concernant la rugosité, certains auteurs affirment que les surfaces présentant une surface active protègent les cellules microbiennes des forces de cisaillement dues à l'écoulement (Demilly 2006). Par contre, d'autres auteurs disent que ce paramètre physique permet la réduction de la

surface de contact entre le microorganisme et le matériau, conduisant ainsi à son détachement (Boulangé-Petermann *et al.* 1997).

Une autre étude sur l'effet de la rugosité des surfaces de titane sur la fixation des bactéries a montré que la rugosité à l'échelle nanomètre favorise l'adhésion (Truong *et al.* 2009). En plus, Machado *et al.* (2012) ont montré que la gravure du polymère (chlorure de vinyle) (PVC) afin de présenter une rugosité nanométrique a modifié l'énergie de surface de ce polymère et réduit ainsi l'adhésion initiale de souches bactériennes. De même, Bengourram *et al.* (2009) ont rapporté que la topographie du support et en particulier sa rugosité influencent l'adhésion microbienne. En effet, la simulation de l'adhésion d'*Escherichia coli* 382, comme modèle biologique, par l'approche XDLVO, a montré que cette adhésion est maximale à une rugosité de $Ra=0.79 \mu m$.

La prédiction d'adhésion de *Penicillium expansum*, sur la surface du bois avec différents degrés de rugosité selon l'approche de XDLVO a montré que l'adhérence maximale a été trouvée à une valeur de $Ra = 1.83 \mu m$ (El Abed *et al.* 2012a). Ainsi, l'effet de la rugosité des surfaces n'est pas bien élucidé et elle paraît influencer indirectement l'adhésion.

4.3. Film organique

L'absorption de composés organiques sur la surface solide entraîne la modification de ses propriétés physico-chimiques. Ce film organique masque en partie ou totalement les propriétés initiales de la surface et augmente l'adhésion ou au contraire la diminue. Le conditionnement par des molécules organiques ne semble cependant pas éliminer l'adhésion bactérienne.

L'adhésion bactérienne est régie principalement par les propriétés physicochimiques du support, qui peuvent être modifiées d'une manière significative par la formation de films de conditionnement. Hwang *et al.* (2012) ont étudié la capacité de trois souches de *Burkholderia cepacia* d'adhérer sur les lames de verre non traitées et celles revêtues par un film d'alginate, d'albumine de sérum bovin (ASB) ou par une matière organique naturelle de la rivière Suwannee (MON-RS). Ils ont montré que selon le type de film de conditionnement et les conditions de force ionique, l'adhésion peut être élevée ou réduite et qu'elle augmente avec l'augmentation de la force ionique dans le cas du verre non traité ou de revêtement par l'alginate ou MON-RS.

Dans une autre étude, Hwang *et al.* (2013) ont démontré que l'adhésion de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 aux lames revêtues avec un film de conditionnement formé de polymères extracellulaires d'alginate, des substances humiques et d'albumine de sérum bovin (ASB) a

été influencée avec le traitement. En effet, l'adhésion bactérienne dans le milieu de forte force ionique a été augmentée avec le traitement de surface avec les revêtues d'alginate et de substances humiques. Contrairement, le revêtement avec ASB a amélioré l'adhésion bactérienne à faible force ionique.

En outre, l'impact des films de conditionnement sur l'adhésion initiale des cellules bactériennes a été rapporté par Garrido *et al.* (2014), qui ont montré que l'adhésion d'*Escherichia coli* sur la membrane d'ultrafiltration en polysulfone a été beaucoup plus importante dans le cas de membrane propre que dans le cas de membrane conditionnée avec l'albumine de sérum bovin, l'alginate et la matière organique naturelle (MON). En plus, ils ont trouvé que l'addition de l'ion de calcium augmente l'adhésion de ce microorganisme et que l'effet a été très important sur la membrane revêtue par l'alginate par rapport à celles revêtues par ASB et MON.

4.4. Caractéristiques du milieu environnant

Comme nous l'avons décrit précédemment, la composition du milieu, la force ionique du fluide environnant et la nature des ions présents dans le milieu de suspension peuvent influencer l'adhésion microbienne aux surfaces inertes. Ainsi, une concentration importante d'électrolytes induira une diminution des interactions électrostatiques et donc le comportement adhésif des microorganismes sera influencé.

Le pH du milieu de suspension influence les propriétés électrostatiques et les propriétés acido-basiques par la réduction ou l'augmentation de la dissociation des groupements acido-basiques, les phosphates et les carboxyles. En fait, le pH représente un facteur très intéressant dans l'adhésion microbienne. Il a été noté ainsi, que le comportement adhésif de *Staphylococcus aureus* ATCC 25 923 sur le verre dépend du pH du milieu de suspension. En effet, à des pH très acides (pH 2, pH 3) et à un pH alcalin, les cellules sont déposées sous formes d'agrégats, alors qu'à pH 5 le phénomène d'agrégation était absent. En plus, l'étude a montré que les cellules s'adhèrent fortement à des pH 4 à 6 et très faiblement à des pH acides (pH 2 à pH 3) (Hamadi *et al.* 2005). En outre, Mafu *et al.* (2011) ont rapporté la modification de l'adhésion de *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* O157 : H7, *Salmonella enteritidis*, et *Staphylococcus aureus* sur des surfaces hydrophobes et hydrophiles à différentes valeurs de pH (6, 7, et 8). Une autre investigation a démontré que la surface du bois de cèdre occupée par les spores de *Penicillium expansum* est influencée fortement par le pH du milieu (El Abed *et al.* 2012b).

Les conditions de culture peuvent aussi influencer la capacité d'adhésion des micro-organismes aux surfaces. En effet, Skovager *et al.* (2013) ont constaté que la capacité de *Listeria monocytogenes* à adhérer à des surfaces solides dans des conditions d'écoulement dépend de la disponibilité des nutriments. L'addition de L-leucine et du glucose au milieu de croissance a modifié la composition des cellules de *L. monocytogenes* en acides gras permettant ainsi l'augmentation de l'adhésion. Par contre, en cas d'ajout de mannose la capacité d'adhésion a été diminuée.

L'influence de la température ainsi que du milieu de croissance sur l'adhésion de *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Listeria monocytogenes* sur des surfaces de polystyrène a été rapporté par Zeraik et Nitschke (2012). Il a été noté que la plupart des bactéries ont montré le taux d'adhésion le plus élevé lorsqu'elles ont été cultivées dans le milieu riche en nutriments. A l'exception de *S. marcescens*, qui a été influencée positivement par la production de pigments, favorisées dans les milieux pauvres en éléments nutritifs (lactose et gélose avec peptone). Ils ont également observé que l'adhésion de *P. aeruginosa* au polystyrène augmente à basse température.

4.5. Nettoyage des surfaces

Les traitements de nettoyage des matériaux affectent les caractéristiques physicochimiques et énergétiques de leurs surfaces (topographie, charge, énergie de surface) (Boulangé-Petermann *et al.* 2006, Pegueroles *et al.* 2008, Simon *et al.* 2013, Erkut *et al.* 2014). En effet, selon les techniques et les produits (produits acides, basiques...) utilisés pour le nettoyage, la charge et l'énergie de surface peuvent être faibles ou fortes, en influençant ainsi le phénomène d'adhésion microbienne. Par exemple, Park *et al.* (2012) ont rapporté que le nettoyage des échantillons de Titanium dans un bain d'ultrason avec de l'eau-acétone-éthanol-isopropanol, ainsi que leur stérilisation avec différentes méthodes (autoclave, irradiation gamma, un plasma d'oxygène, ou la lumière ultraviolette) influencent les composants chimiques de surfaces, l'hydrophilicité, la rugosité et leur morphologie.

II. BIODÉGRADATION DU BOIS DE CÈDRE PAR LES BIOFILMS

1. Bois de cèdre et son exploitation

Le bois de cèdre (*Cedrus atlantica*) est un matériau ancestral utilisé dans la construction et dans le mobilier depuis l'avènement de l'islam au 7^{ème} siècle, en passant par l'époque des différentes dynasties arabo-berbères ayant géré le Maroc et jusqu'à la fin de 19^{ème} siècle (M'hirit et Benzyane 2006). C'est un biomatériau végétal complexe que ce soit par sa composition chimique ou son comportement physique. Au Maroc, il occupe une large et importante superficie de l'ordre de 133.600 ha répartie en trois blocs dont le Moyen Atlas, le Grand Atlas oriental et le Rif occidental et central. Le cèdre a occupé une place centrale dans la vie et les activités humaines depuis des siècles au Proche-Orient. Au fil des années, son utilisation s'est ensuite étendue respectivement à la Grèce et dans la Méditerranée occidentale vers 6000 et 5500 à 4500 ans avant J-C.

Le bois de cèdre a accompagné les civilisations arabo-musulmanes les plus prestigieuses pour son bois caractérisé par sa beauté captivante, son imputrescibilité, sa durabilité naturelle et son odeur épicée. En fait, pendant toute l'histoire des dynasties Idrisside, Almoravide et Almohade, le cèdre fut le bois omniprésent et le plus employé dans la construction des maisons (plafonds et des arcades), la fabrication d'équipements divers, l'ornementation avec l'apparition de majestueux édifices: grandes mosquées et mausolées, somptueux palais, riads. En plus de son surexploitation dans les constructions monumentales des villes contemporaines et impériales du Maroc comme Fès, Marrakech, Rabat, Meknès et Tétouan, le cèdre a influencé également la politique et la force comme le témoigne l'exemple le plus significatif le minbar ou chaire à prêcher (M'hirit et Benzyane 2006).

L'usage intensif du bois de cèdre est un fait incontournable dans la construction et la décoration des monuments historiques de la ville de Fès, la cité des sciences, centre spirituel et culturel du Maroc, en particulier, son ancienne Médina. Cette dernière constitue un musée vivant présentant une grande diversité des formes architecturales (mosquées, maisons, monuments et édifices) (Figure 4) et des paysages urbains tout au long de ses ruelles, ses bâtiments, constituant un héritage millénaire et riche qui remonte à l'époque des Idrissides.

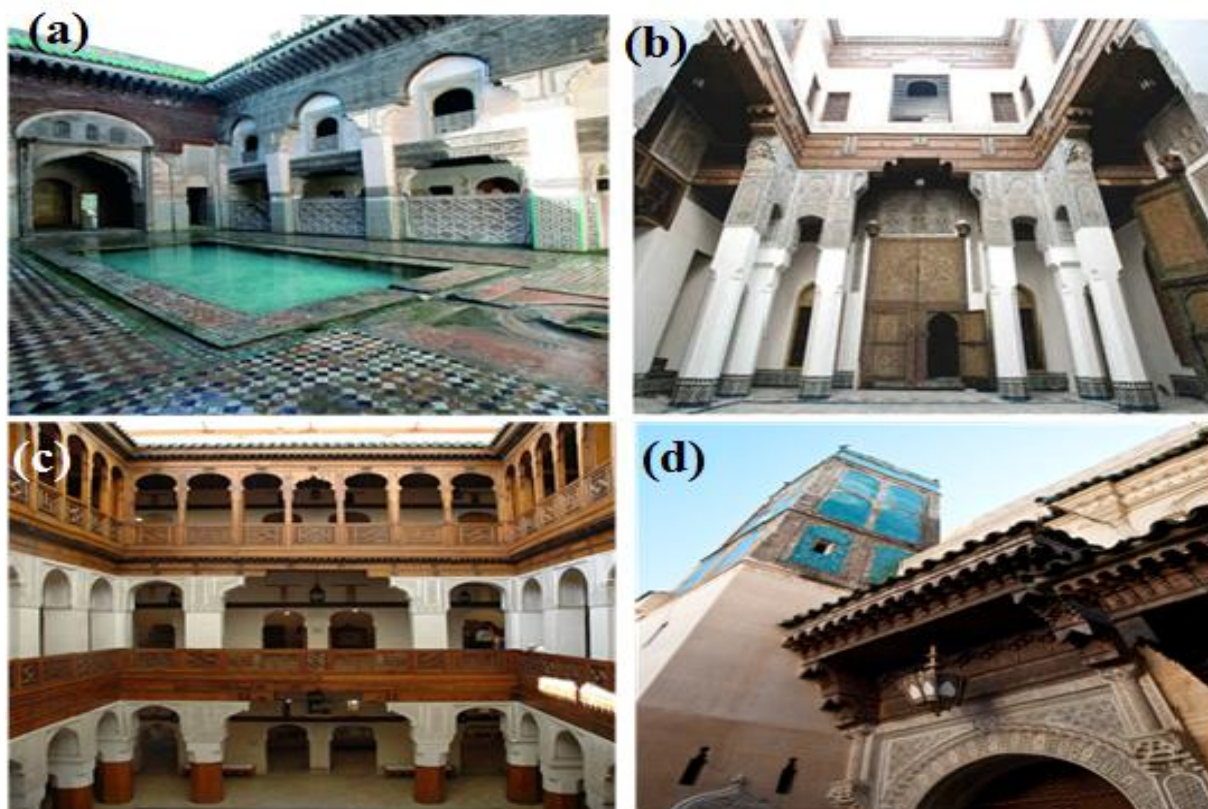


Figure 4 : Exemples d'utilisation du bois de cèdre dans les monuments et sites historiques de la médina de Fès (a) La médersa Sahrij (b) La médersa Saffarine (c) El Najjarine (d) Minaret de la mosquée Sidi Ahmed Tijani.

2. Dégradation microbienne du bois

Etant un matériau organique naturel, largement utilisé depuis très longtemps dans de nombreuses applications dans l'histoire de l'humanité, le bois présente un inconvénient majeur lié à sa durée de vie limitée dans certaines circonstances. En effet, il est menacé d'être attaqué par différents facteurs abiotiques (humidité et rayons ultra-violets) ou biotiques de détérioration. Ces agents biologiques, qu'ils soient des insectes xylophages qui creusent des galeries dans le bois pour y pondre leurs œufs, ou des microorganismes (champignons et bactéries), qui le dégradent en se nourrissant de ses ressources, vont conduire à la détérioration de l'aspect physique du bois, son caractère esthétique et de ses propriétés mécaniques conduisant ainsi à des pertes socioéconomiques importantes (Shanks *et al.* 2003, Ros-Barceló *et al.* 2006, Klaassen et Overeem 2012). Les paragraphes qui suivent sont destinés à présenter la composition chimique du bois, les agents biotiques responsables de sa dégradation et leur mode d'action.

2.1. Rappel sur la composition chimique du bois

Dans la nature, le bois se trouve généralement sous deux formes distinctes : les résineux (bois tendre) et les feuillus (bois dur). Sa composition complexe est constituée essentiellement de composants macromoléculaires (cellulose, hémicellulose et lignine) (Tableau 1), et les composants de faible poids moléculaire (substances minérales et extractibles) présents en quantités plus ou moins importantes. La cellulose se retrouve principalement à l'intérieur de la fibre, l'hémicellulose est concentrée dans les parois extérieures de la fibre tandis que la lignine constitue le composant principal des lamelles de jonction inter-fibres.

Tableau 1 : Composition chimique du bois de cèdre (Timell 1986)

	Cellulose	Hémicellulose	Lignine
Cèdre	36%	18%	33%

2.1.1. Cellulose

La cellulose constitue la structure de base des parois cellulaires des cellules végétales. Sa formule générale est $(C_6H_{10}O_5)_n$, c'est un polymère linéaire constitué d'unités de β -D-glucopyranose (Wang et Cooper 2005), liées entre elles par des liaisons β -1,4 glycosidique permettant de stabiliser sa structure et réduire sa flexibilité (Figure 5a).

A l'état naturel, la cellulose se présente en partie amorphe et en partie cristalline. Du fait de sa composition chimique, les liaisons d'hydrogène entre ses différentes chaînes peuvent être établies. Ces dernières sont responsables de la formation des microfibrilles dans lesquelles certaines régions sont hautement ordonnées (régions cristallines) et d'autres sont moins (régions amorphes) (Figure 5b).

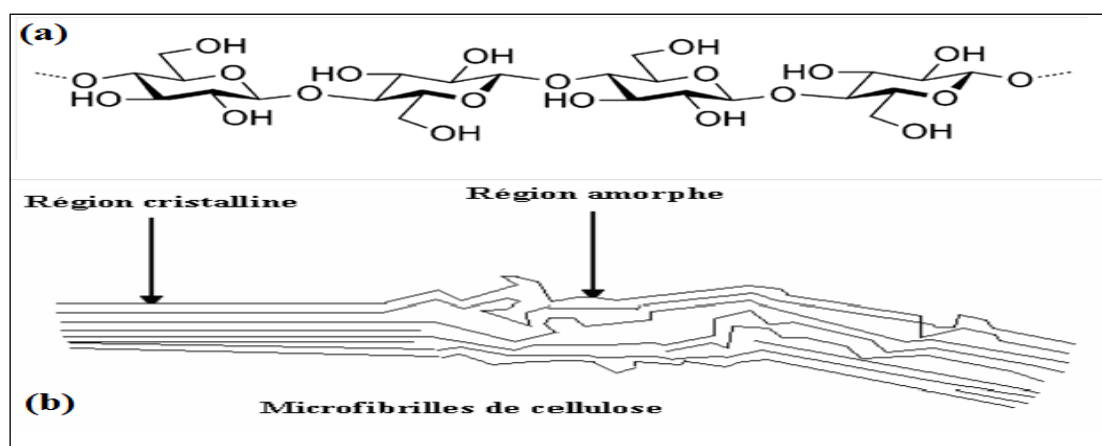


Figure 5 : a) Structure moléculaire de la cellulose. b) Représentation schématique des zones cristallines et amorphes de la cellulose (Zhao et al. 2007).

2.1.2. Hémicellulose

Les hémicelluloses sont définies comme étant des hétéropolysaccharides présents dans les parois cellulaires des végétaux. Ces macromolécules polyosidiques sont constituées principalement des hexoses (mannose, glucose et galactose), des pentoses (xylose, arabinose), des déoxyhexoses (rhamnose et fucose), ainsi que des acides uroniques (galacturonique et glucuronique) (Fengel 1984, Brodeur *et al.* 2011). Les hémicelluloses sont caractérisées par leur faible masse molaire, leur structure très amorphe et degré de polymérisation plus faible que celui de la cellulose. Les principaux composants de l'hémicellulose sont rapportés dans la figure 6.

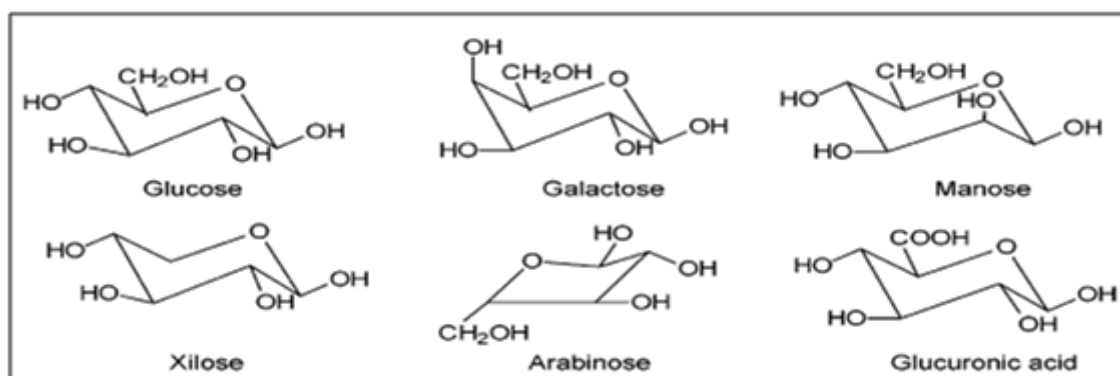


Figure 6 : Principaux composants de l'hémicellulose (Fengel 1984).

2.1.3. Lignine

La lignine constitue la macromolécule tridimensionnelle la plus importante des fibres végétales, Ce polymère polyphénolique de nature hydrophobe et aromatique est synthétisé à partir de monomères de nature phénylpropane (précurseurs) constitués des alcools dont le p-coumarylique, le coniférylique et le sinapylique (Brodeur *et al.* 2011, Sarvaramini *et al.* 2013) (Figure 7). Etant donné sa teneur élevée en carbone, par rapport à celle de la cellulose, la lignine donne au bois une nature rigide en le protégeant contre l'attaque des organismes pathogènes.

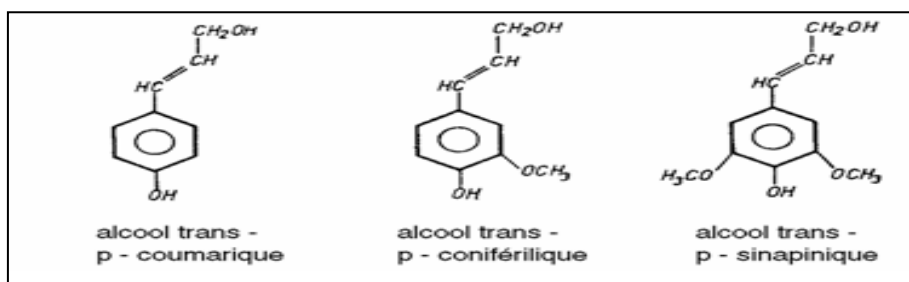


Figure 7 : Précurseurs de la biosynthèse de la lignine (Fengel 1984).

2.2. Agents biotiques responsables de la biodégradation du bois

Une biodétérioration est définie comme étant une dégradation indésirable causée par des organismes vivants principalement des microorganismes (Eggins et Oxley 2001). Du fait de sa composition chimique riche en cellulose, hémicelluloses et en lignine, le bois peut servir de source d'alimentation à toute une large gamme de microorganismes dont les champignons, les bactéries, les insectes et les xylophages (De Best *et al.* 2008, Pimchuai *et al.* 2010). Ce qui induit à différents types de détériorations, à des modifications des propriétés physico-chimiques et mécaniques et à la réduction de la résistance de ce matériau (Daniel 2014).

Seule la biodégradation du bois par les champignons et les bactéries sera abordée dans le cadre de cette étude bibliographique. En fait, les études réalisées dans cet axe de recherche ont montré que l'endommagement de ce matériau peut être dû essentiellement et majoritairement à ce type d'organismes vivants dotés du pouvoir enzymatique attaquant le bois et créent une érosion de sa surface.

2.2.1. Champignons du bois

Dans les professions liées à l'industrie du bois, les champignons se divisent en catégories selon le type de dégâts qu'ils occasionnent. En effet, la particularité des champignons est le pourrissement, le changement de couleur et l'affaiblissement des propriétés mécaniques et esthétiques du bois ainsi la dégradation de sa structure. On trouve ainsi les champignons de pourriture blanche, brune, molle et bleuissement (Figure 8).

Les champignons de pourriture blanche (pourritures fibreuses) appartenant aux Basidiomycètes sont seuls caractérisés par leur capacité de dégrader à la fois la cellulose, les hémicelluloses et les lignines. Dans les conditions aérobies, ces champignons peuvent complètement minéraliser les constituants du bois par l'utilisation d'un large éventail d'activités physiologiques et biocatalytiques, produites durant la colonisation et la dégradation de ce matériau par des hyphes fongiques, pénétrant non seulement par l'intermédiaire de la structure radial du bois mais aussi par la disponibilité et le stockage de nutriments facilement accessibles dans ses cellules de parenchyme (Hammel *et al.* 2002, Daniel 2003, Daniel *et al.* 2007, Hatakka et Hammel 2011).

Les vitesses relatives de décomposition de la lignine, de la cellulose et de l'hémicellulose varient largement avec les espèces fongiques, leur état physiologique et capacité de détérioration, ainsi avec le type du bois (tendre/dure) (Klaassen et Overeem 2012, Daniel

2014). Parmi les champignons de pourriture blanche on trouve : *Trametes versicolor*, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Phanerochate chrysosporium*, *Phlebia radiata*, *Pleurotus ostreatus*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Polyporus arcularius*, *Cyathus olla*, *Cyathus striatus*, *Gymnopus dryophilus*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium commune*, *Thielavia hyalocarpa* et *Mycena* sp. (Zyani *et al.* 2009, Barrasa *et al.* 2014, Pardo et Alfaro 2014).

Deux types de pourritures blanches sont généralement distingués selon l'ordre dans lequel le champignon agit :

- La délignification sélective ou type I

La lignine est dégradée avant la cellulose et les hémicelluloses. Le bois se décolore et perd de sa rigidité. Il acquiert une structure fibreuse et molle et conserve son élasticité tant que subsiste la cellulose (Daniel *et al.* 2004).

- La carie simultanée ou type II

La dégradation de la cellulose, des hémicelluloses et de la lignine se produisent à la même vitesse. Le bois dégradé perd de sa rigidité et de son élasticité (Daniel 2003).

La pourriture molle est un type de la pourriture qui se produit principalement dans les conditions d'humidité élevée, large gamme de température et par les ascomycètes et champignons imparfaits (Björdal 2012). Ces microorganismes sont peu adaptés à la dégradation du bois du fait de leur incapacité à attaquer les lignines mais sont en revanche cellulolytiques. Ils sont particulièrement actifs dans des conditions qui découragent l'activité des champignons de la pourriture blanche et brune. Cette forme de pourriture a été décrite dans différents échantillons du bois de divers sites historiques et culturels (Abdelkader et Hamed 2013).

La pourriture molle est provoquée par l'action conjointe de plusieurs champignons microscopiques qui détruisent la cellulose. Le bois devient noirâtre et mou provoquant ainsi une pourriture cubique superficielle. Les champignons de la pourriture molle causent deux différents types d'attaque. En effet, le premier se caractérise par la formation des cavités avec des extrémités coniques par les hyphes fongiques durant la détérioration de la paroi cellulaire secondaire. Le second est connu par l'érosion de la paroi cellulaire par les hyphes situés dans le lumen de la cellule en sécrétant les enzymes qui diffusent dans la paroi cellulaire et par la suite la lyse des fibres. Parmi les champignons de cette pourriture on peut citer : *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chaetomium cellulolyticum*, *Fusarium oxysporum*,

Penicillium jenthillenum, *Trichoderma reesei*, *Hypoxylon*, *Paecilomyces*, et *Trichoderma atrovirid* (Vasil *et al.* 2005, Schwarze *et al.* 2012, Abdelkader et Hamed 2013).

Les champignons de la pourriture brune/ cubique dégradent préférentiellement la cellulose et les hémicelluloses. D'un point de vue morphologique, il est souvent rapporté que les premiers signes de dégradation par des champignons de la pourriture brune en bois se produisent au niveau des interfaces des couches de la paroi cellulaire. Egalement Il est généralement admis que ces champignons colonisent et se développent tout au long de la structure du bois (cellules des fibres et autres). Comme ils peuvent produire des hyphes qui poussent dans les parois secondaires des deux types du bois qui perdent leur structure et sont réduites en substance amorphe (Kleist et Schmitt 2001).

Le bois altéré prend une teinte plus foncée que la normale, souvent brunâtre ou brun rougeâtre. Il perd son élasticité et devient de plus en plus cassant, se clivant selon trois directions sensiblement perpendiculaires. L'extraction de l'eau contenue dans le bois par les champignons fait apparaître sa forme cubique (Niemenmaa *et al.* 2008, Yelle *et al.* 2011). Parmi les champignons de pourriture brune les plus étudiées, on trouve notamment un grand nombre de basidiomycètes tels que *Laetoporeus sulphureus*, *Fomitopsis palustris*, *Coniophora puteana*, *Fomitopsis pinicola* et *Gloeophyllum trabeum* (Bami et Mohebbi 2011, Monroy *et al.* 2011, Daniel 2014).

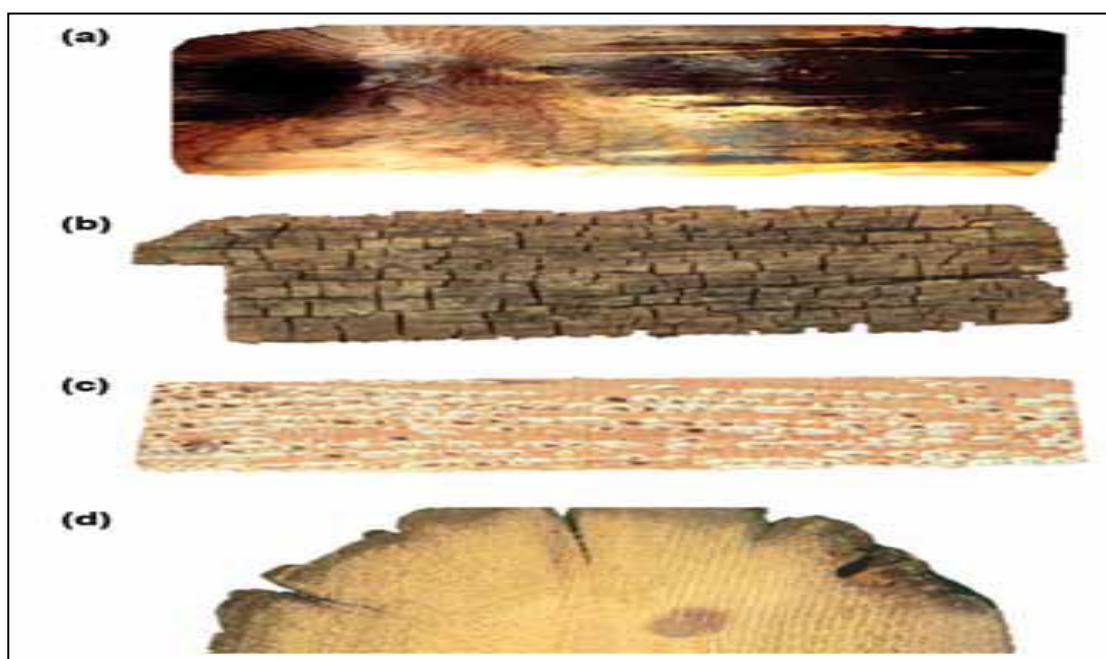


Figure 8 : Échantillons représentatifs des différents types de pourriture de bois : (a) décoloration par les moisissures ; (b) pourriture brune (notez la forme cubique et la couleur foncée du bois, (c) pourriture blanche (notez l'aspect blanchi) (d) pourriture molle (Clausen 2010).

Les champignons du bleuissement sont des espèces d'ascomycètes incapables de dégrader le xylème du bois ligno-cellulosique. Ils sont fréquemment diffusés sous forme de spores. Leurs hyphes s'étendent dans des troncs du bois aboutissant ainsi au rayon de parenchyme et les cellules de phloème (DiGuistini *et al.* 2011). Ces champignons de bleuissement se caractérisent par la sécrétion de mélanine de couleur foncée sur la paroi des cellules de leurs hyphes pour la protection contre la lumière. Parmi ces champignons on rencontre *Ophiostoma* sp., *O. piceae*, *Grosmannia*, *clavigera* G,P (Lundell *et al.* 2014).

2.2.2. Bactéries du bois

La dégradation bactérienne du bois a été connue depuis très longtemps. Principalement cela a été reconnu du fait que les bactéries aérobies, aérobies facultatif ou anaérobies existant dans un large éventail de milieux aquatiques et terrestres sont capables de provoquer les déchirures localisées ou des cavités dans la paroi cellulaire aboutissant ainsi à l'augmentation de la perméabilité du bois, et entraînant des pertes de masse, des propriétés mécaniques et esthétiques. Parmi les bactéries dégradant le bois on rencontre le plus souvent les deux sous embranchements de bactéries cellulolytiques aérobies : les eubactéries et les mycobactéries (Cauliez 2007).

Les bactéries dégradant le bois sont connues d'être unicellulaire, Gram négatif ou positive, mobiles, bactéries polymorphes possédant une considérable plasticité de la paroi cellulaire. Sur la base de leurs caractéristiques micro-morphologiques spécifiques, deux principaux types de bactéries dégradant de bois ont été décrits (Gelbrich *et al.* 2008) :

Les bactéries nommées « **tunnelling bacteria** » se sont des bactéries qui attaquent des tissus lignifiés et creusent de véritables tunnels. Elles peuvent pénétrer directement des parois cellulaires du bois soit à partir du lumen de la cellule ou de la surface du bois (figure 9). Ces bactéries sont très répandues dans les environnements similaires aux conditions de la pourriture molle. Elles sont connues par les sécrétions extracellulaires sous forme de vésicules morphologiquement similaires à celles rapportées chez certaines bactéries cellulolytiques telles que *Bacteroides succinogenes* ou aux multicellulase « cellulosomes » trouvées sur la paroi cellulaire externe des bactéries anaérobies comme *Clostridium thermocellum* (Daniel 2014).

Les bactéries dites **bactéries d'érosion** sont les principaux agents de dégradation du bois existant dans des conditions anaérobies (figure 10). En effet, contrairement aux autres types d'organismes (champignons et bactéries), ce type de bactéries est capable de dégrader les

constructions en bois massif sous de très faibles concentrations en oxygène. Ce sont des bâtonnets de 2-8 μm de longueur et de 0.5-0.9 de diamètre μm . Leur invasion commence à partir de la surface du bois à travers ses rayons et ses fosses aboutissant au lumen de cellules des trachéïdes. De là, les bactéries attaquent et dégradent la paroi cellulaire du bois. Ces microorganismes transforment la cellulose de la paroi cellulaire secondaire en matériaux visqueux et amorphes, alors que la lignine de la lamelle moyenne reste intacte. Dans les échantillons archéologiques présents dans un environnement humide, l'hémicellulose se trouve beaucoup plus dégradée que la cellulose (Gelbrich *et al.* 2008).

De plus, une autre forme de bactéries dites **filamenteuses**, dont *Streptomyces* sp ont également été trouvées présentes dans les tissus ligneux. Le rôle de ces bactéries filamenteuses en bio-minéralisation du bois reste obscur. Pourtant, elles sont connues par leur capacité à produire une grande variété d'enzymes dégradant les polysaccharides et les composés lignifiés d'une manière importante (Lu *et al.* 2013).

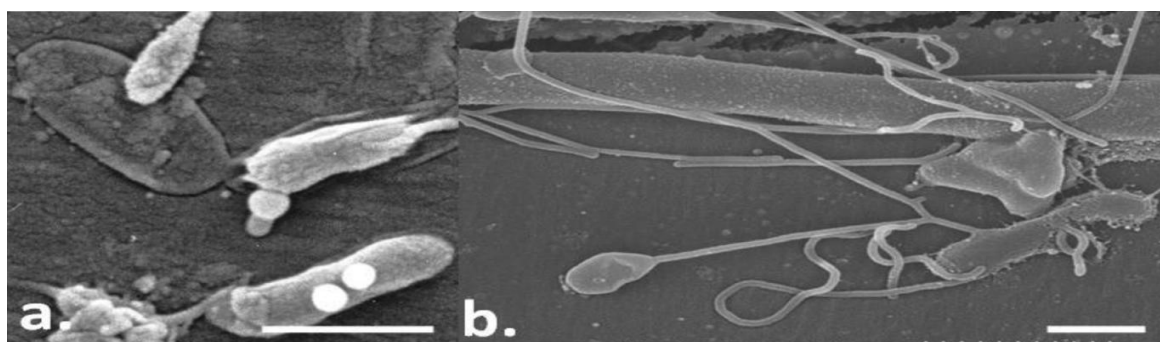


Figure 9 : Aspects de l'attaque du bois par les bactéries de tunnels comme visualisées en utilisant la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie électronique en transmission (MET). a) La sécrétion visqueuse typique qui permet l'entrée de ces bactéries dans les cellules du lumen du bois. b) bactéries renfermées dans les tubes extracellulaires formés et fixés sur les cellules du lumen du bois. 1.0 μm (Daniel 2003).

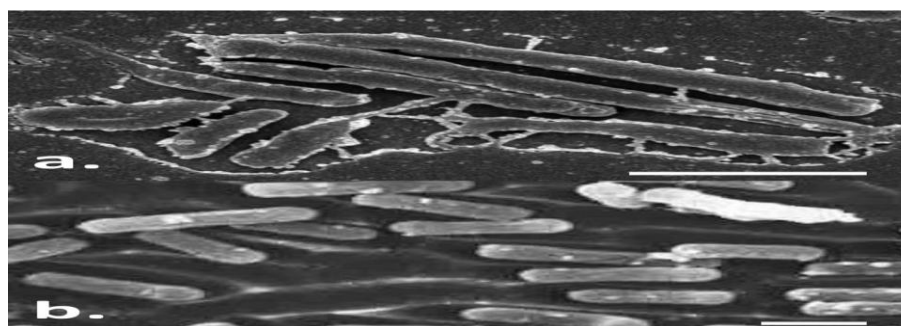


Figure 10 : MEB et MET micrographies montrant les bactéries d'érosion attaquant le bois. a) étape de décomposition précoce en forme de tige encapsulée au niveau de la paroi cellulaire de le lumen du bois ; b) l'attaque de la paroi des cellulaires secondaires en formant des canaux d'érosion. a, 0.4 μm b, 1.0 μm (Daniel 2003).

3. Systèmes enzymatiques impliqués dans la dégradation du bois

Dans la nature, la dégradation du bois par les microorganismes se fait selon un processus enzymatique en sécrétant une gamme d'enzymes d'endoglucanases, cellobiohydrolases et β glucosidases (Daniel 2014). Comme au cours de ces vingt dernières années, un certain nombre de systèmes non enzymatiques impliquant les oxydants/réducteurs ont été proposés, mais de nos jours aucun système n'est pleinement accepté (Hammel *et al.* 2002, Hunt *et al.* 2013).

3.1. Dégradation enzymatique de la cellulose et de l'hémicellulose

La dégradation enzymatique de la cellulose implique l'action de quatre types d'activités cellulolytiques. La première vise à dénaturer leurs structures cristallines en attaquant des régions amorphes de celluloses par les endoglucanases qui hydrolysent les liaisons β -1,4 des chaînes de glucane entraînant ainsi la dépolymérisation partielle et la création de nouvelles extrémités. Ensuite, les cellobiohydrolases hydrolysent les chaînes à partir de ces extrémités en produisant des cellodextrines qui seront hydrolysées à leur tour par des β -1,4 glucosidases en monomères de glucose (Kumar *et al.* 2008). Il est également noté que lors d'une phase d'ana-morphogenèse, les protéines non-hydrolytiques peuvent intervenir en écartant les fibrilles de cellulose et facilitant l'accès des enzymes principales de détérioration (figure 11).

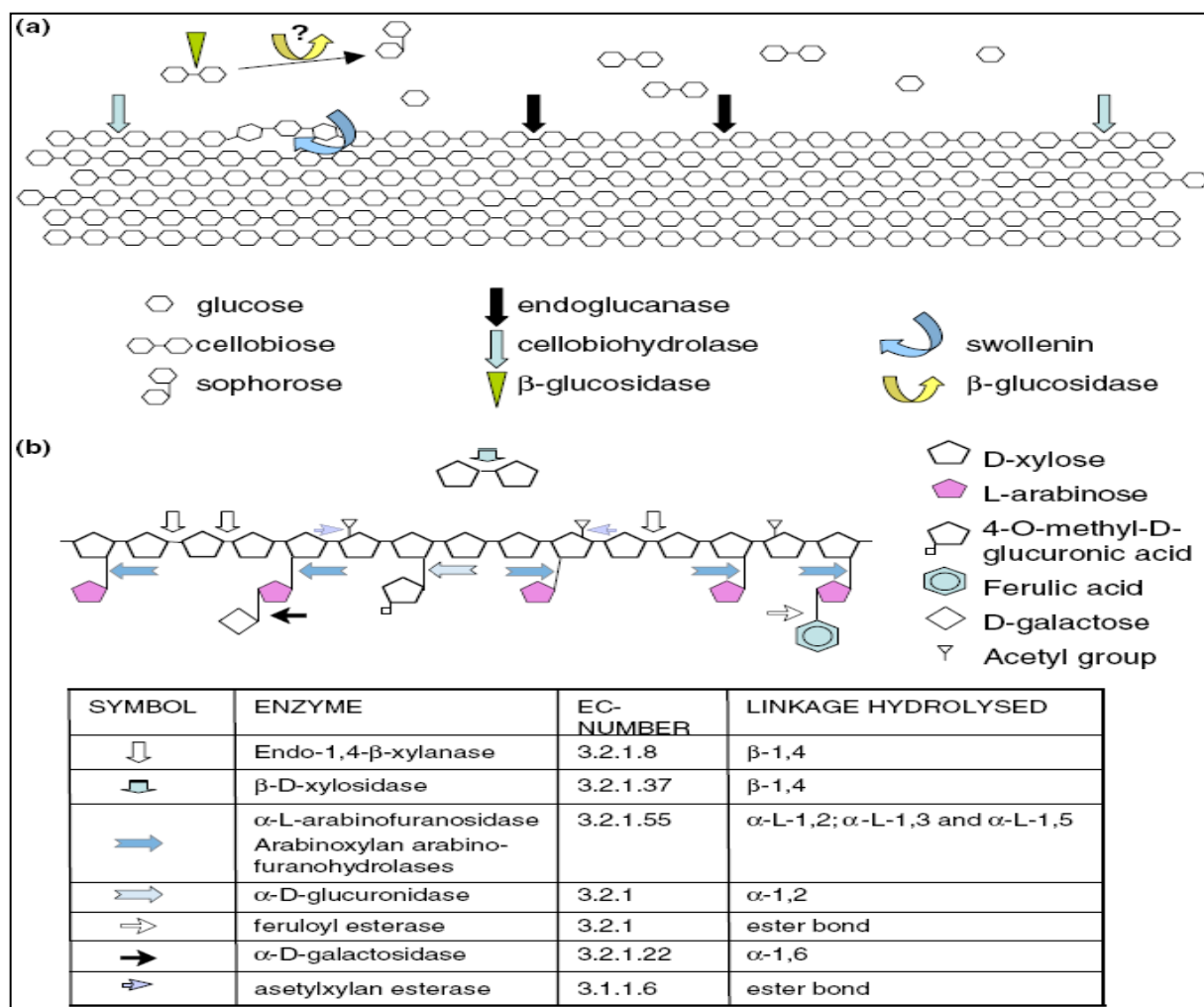


Figure 11 : Schéma général de la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose. a) Schéma d'un système cellulosique montrant les différentes enzymes impliquées dans la dégradation. Le schéma propose l'intervention des expansines, protéines pouvant perturber les liaisons hydrogènes entre les polysaccharides des parois cellulaires sans les hydrolyser. b) Schéma d'un système de dégradation des hémicelluloses (Aro *et al.* 2005).

3.2. Dégradation enzymatique de la lignine

Vu son insolubilité et sa structure complexe, la biodégradation de la lignine s'effectue par un processus d'oxydation de ses structures phénoliques sous l'action des enzymes oxydatives extracellulaires principalement les peroxydases, laccases, les tyrosinases ainsi que des cofacteurs associés (Hammel et Cullen 2008, Hunt *et al.* 2013).

En se basant sur leur mode d'action sur la lignine, les enzymes lignolytiques sont regroupées en deux catégories :

La catégorie dite « Lignin Oxidases » (ou LO) sont les enzymes qui agissent directement sur la lignine en catalysant les réactions d'oxydation. Parmi ces enzymes on trouve les laccases,

les manganèses peroxydases, les lignines peroxydases et les versatiles peroxydases. L'autre catégorie dite « Lignin Degrading Auxiliary enzymes » regroupe des enzymes intervenant en synergie avec les LO et qui produisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 nécessaire au cycle catalytique des peroxydases. Parmi ces enzymes on rencontre les vanillyl-alcool oxydases, les alcools oxydases, les estérases et les glycoxal oxydases (Levasseur *et al.* 2008).

4. Dégradation du bois des œuvres monumentales

Historiquement, le bois de cèdre a fait l'objet de progrès technologiques majeurs dans la construction, l'ameublement et la fabrication d'instruments divers. Toutefois, en tant qu'il est un matériau naturel et riche en composés qui peuvent servir comme nutriments à toute une variété d'organismes vivants, le bois est sensible aux agents biologiques de dégradation dont les champignons, les bactéries, les insectes et les xylophages. En effet, ces microorganismes dégradent le bois en utilisant ses constitutions comme source d'alimentation pour assurer leur croissance. Ce qui conduit ainsi à des impacts économiques importants et à une perte des propriétés esthétiques et/ou mécaniques ou à une destruction quasi-totale de ce patrimoine culturel (figure 12).



Figure 12 : Quelques exemples de la dégradation des œuvres monumentales de la Médina de Fès. a) Médersa Sahrij. b) Ancienne maison de la Médina de Fès. d) Médersa Sbaïyine.

L'UNESCO a désigné la totalité de la Médina de Fès monument mondiale. Dans cette Médina, le cèdre fut le bois omniprésent et le plus apprécié à l'usage monumental pour l'ameublement, l'art et l'artisanat. Comme dans les œuvres sculptées ou les amateurs de l'art n'ont pas manqué d'admirer certains toits ou les portes des anciennes Médinas. Néanmoins, une grande partie de ce patrimoine culturel précieux qui a été accumulée au fil du temps est aujourd'hui dans un état avancé de la biodégradation. D'où la nécessité de la mise en place de stratégies de conservation et de préservation de ces monuments architecturaux et historiques.

Ce qui a fait l'objet de plusieurs projets et/ou études auxquels participent l'UNESCO et d'autres organisations de la société civile et du privé. Cependant, l'application de ces stratégies n'est pas encore scientifique. De ce fait, la conception même de la protection du bois contre la dégradation ainsi la préservation du patrimoine exige la mise en œuvre des nouvelles politiques de développement durable et une nouvelle stratégie bien définie d'intervention afin d'assurer à la Médina de Fès sa continuité, sa vitalité et sa valeur patrimoniale qui l'avait toujours distinguée.

5. Biofilms sur le bois

L'étude des mécanismes impliqués dans l'adhésion et la formation des biofilms microbiens sur une grande variété de surfaces telles que les surfaces minérales (pierres, bétons), les tissus vivants, les plastiques et les métaux a fait l'objet d'une partie importante dans les travaux de recherche scientifique. Les biofilms ont également été étudiés dans de nombreux domaines tels que l'agroalimentaire, l'environnement et le domaine biomédical (Lellouche *et al.* 2012, Renata *et al.* 2012, Lafleur *et al.* 2013, Galinari *et al.* 2014) et sur de nombreux matériaux (l'acier inoxydable, le polystyrène, le verre) (Bonsaglia *et al.* 2014, Ciccio *et al.* 2014, Phuong *et al.* 2015). Cependant, les biofilms implantés sur le bois est un sujet très peu abordé dans la littérature scientifique (Didienne *et al.* 2012, El Abed *et al.* 2013, Guzzon *et al.* 2015). En effet, la complexité de l'étude de ce matériau (complexité de sa composition chimique, multiplicité des facteurs et des conditions d'utilisation) est à l'origine de la divergence des conclusions des études réalisées. À notre connaissance, un faible nombre d'études scientifiques a été publié sur le sujet. Le tableau 2 ci-après résume les différents travaux sur les biofilms du bois.

Tableau 2 : Revue des différents travaux concernant l'étude des biofilms à la surface du bois

Micro-organismes étudiés	Domaine de recherche	Références
<i>Penicillium expansum</i>	Monumental	(Barkai <i>et al.</i> 2015)
Plusieurs bactéries et levures	Agroalimentaire	(Guzzon <i>et al.</i> 2015)
<i>Escherichia coli</i> O157 :H7	Agroalimentaire	(Bang <i>et al.</i> 2014)
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , coliforms, <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Lactococcus</i> spp.	Agroalimentaire	(Galinari <i>et al.</i> 2014)
<i>Penicillium granulatum</i> , <i>Penicillium crustosum</i> , <i>Penicillium commune</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	Monumental	(El Abed <i>et al.</i> 2013)
<i>Lactobacillus</i>	Agroalimentaire	(Didienne <i>et al.</i> 2012)
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Agroalimentaire	(Settanni <i>et al.</i> 2012)
Plusieurs bactéries et champignons	Monumental et industriel	(El Abed <i>et al.</i> 2011)
<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria</i> spp. <i>E.coli</i> <i>E.coli</i> 0157 :H7	Agroalimentaire	(Adetunji et Isola 2011a, 2011b)
Levures et moisissures (<i>Aureobasidium pullulans</i>)	Ecologie et environnement	(Sailer <i>et al.</i> 2010)
<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium expansum</i>	Monumental	(EL Abed <i>et al.</i> 2010)
Biofilm entier	Agroalimentaire	(Oulahal <i>et al.</i> 2009)
Bactéries lactiques	Agroalimentaire	(Lortal <i>et al.</i> 2009)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Agroalimentaire	(Guillier <i>et al.</i> 2008)
Biofilm entier	Agroalimentaire	(Mariani <i>et al.</i> 2007)
Biofilm entier	Agroalimentaire	(Licitra <i>et al.</i> 2007)

III. PRÉSERVATION DU BOIS ET LUTTE CONTRE LES BIOFILMS

1. Préservation du bois

La préservation du bois contre les agents de biodétérioration se présente depuis des siècles comme un défi pour l'Homme. En effet, malgré les précautions prises dans le choix d'un bois précis, ce dernier peut perdre sa durabilité avec le temps.

La durabilité d'une espèce de bois est, en fait, sa résistance naturelle contre l'attaque par des champignons, bactéries et des insectes. Si le bois, qui n'est pas durable par nature, est utilisé en milieu humide ou en contact direct avec le sol ou l'eau, il nécessite un traitement de préservation artificiel préalable pour conserver toutes ses propriétés mécaniques et esthétiques, prolonger sa durabilité et améliorer sa qualité. Dans ce contexte, de nombreux produits et traitements ont été développés pour lutter contre cette biodégradation indésirable de ce matériau. Détailler chaque produit et traitement de préservation du bois nécessiterait le temps d'une thèse, de ce fait, les paragraphes qui suivent essaient de résumer les différentes techniques et produits courants et/ou innovants utilisés dans la littérature.

Parmi les produits très utilisés dans la préservation du bois, on trouve les produits organiques tels que les carbamates, les triazoles (propiconazole, azaconazole, tébuconazole), les sels d'ammonium quaternaire (chlorure de didécyldiméthyl ammonium) et des complexes organométalliques (oxine de cuivre, citrate de cuivre). Ces composés sont utilisés en solution dans les solvants organiques permettant leur fixation sur le bois. Dans le but de réduire les émissions de composés organiques volatiles (solvant), ces composés sont utilisés en phase aqueuse sous forme d'émulsion (Hyvönen *et al.* 2006, Stirling *et al.* 2014).

Les goudrons et les huiles composés d'un mélange extrêmement complexe d'hydrocarbures aromatiques, de composés phénoliques et d'hydrocarbures aromatiques azotés sont aussi employés dans la préservation du bois. Dans cette catégorie de produits on rencontre majoritairement les créosotes obtenues par distillation de goudron. Ils existent en deux formes, les créosotes légères correspondant à la fraction distillée en premier et les créosotes lourdes correspondant aux produits distillés à plus haute température. Malgré son utilisation intense depuis longtemps, la créosote est de nos jours peu utilisée du fait de sa toxicité et de l'aspect inesthétique de traitement (couleur, odeur...).

Les formulations multi sels à base de chrome (Cr), de cuivre (Cu) et d'arsenic (As) connues sous le nom de formulations CCA et qui sont toxiques pour les champignons lignivores, les insectes et les tébérants marins ont été aussi utilisées. Elles protègent efficacement le bois

contre les risques biologiques élevés (Nicholas *et al.* 2000, Cao et Jiang 2014). Or ces sels peuvent toutefois induire de nombreuses pathologies chez les êtres vivants, ce qui a conduit à leur abandon progressif dans la plupart des pays européens.

2. Méthodes de lutte contre les biofilms

En tant qu'un matériau d'origine naturel, le bois est sensible aux attaques de plusieurs agents de dégradation dont les biofilms causant ainsi un impact économique considérable. Il est donc absolument nécessaire d'intervenir pour conserver toutes ses propriétés mécaniques et esthétiques et d'éradiquer ces biofilms nuisibles en développant des moyens efficaces et pérennes. De manière croissante ces dix dernières années, les recherches concernant les moyens de lutte contre les biofilms se multiplient. Elles peuvent se définir selon deux axes principaux : empêcher la formation de biofilms, et lorsqu'ils sont déjà présents, les détruire.

Actuellement, plusieurs méthodes et stratégies physiques, chimiques et biologiques sont proposées.

2.1. Méthodes physiques

Le développement de surfaces antiadhésives par la modification de leurs propriétés physicochimiques est le moyen le plus simple et le plus important pour influencer et réduire l'interaction des microorganismes (cellules planctoniques) avec les supports et par conséquent la lutte contre l'adhésion et la formation des biofilms. En effet, les caractéristiques physicochimiques du support tels que la rugosité, la charge de surface et l'hydrophobicité peuvent jouer un rôle important dans l'adhésion microbienne (El Abed *et al.* 2012a, Merzougui *et al.* 2013). Plus la surface sera rugueuse, plus il y'aura d'irrégularités pouvant servir de niches écologiques pour la fixation des microorganismes, donc la surface doit être la plus lisse possible pour réduire la colonisation microbienne (Hutchinson *et al.* 2006).

La modification physicochimique de surface peut aussi être obtenue par un traitement plasma, il s'agit d'un gaz partiellement ou totalement ionisé composé d'électrons, de particules ioniques chargées, de radicaux, de photons et de molécules dont l'ensemble est électriquement neutre. Le processus d'ionisation peut se produire par exemple quand les molécules d'un gaz sont soumises à une radiation à haute énergie, à un champ électrique ou à une haute énergie thermique. Ce traitement permet d'activer ou de modifier la surface des matériaux de telle sorte qu'il réduit ou évite totalement l'adhésion microbienne sur le support traité (Valt 2009). Potočnáková *et al.* (2013) ont également montré que le traitement du bois par plasma d'oxygène a permis une amélioration significative de la mouillabilité du bois,

même après un temps de traitement de quelques secondes. De plus, Temiz *et al.* (2016) ont rapporté que le traitement du bois par plasma d'O₂/N₂ à 100 W pendant 10 min est capable de d'améliorer ses propriétés physiques et lui confère une résistance vis-à-vis de *Postia placenta* FPRL 280 champignon de la pourriture brune.

Une autre technique consiste à immobiliser en surface des matériaux des polymères comme l'oxyde de polyéthylène (PEO) ou le polyéthylène glycol (PEG). Ces derniers sont connus par leurs caractères hydrophiles et ils sont capables de former des brosses moléculaires flexibles empêchant ainsi l'adhésion des cellules (Banerjee *et al.* 2011). De même, Guzzon *et al.* (2015) ont rapporté que le revêtement du bois par l'alcoxydes de silicium pur (Methyltriethoxysilane) à phase gazeuse a montré une action efficace contre la contamination et la colonisation microbienne. En effet, cette membrane de silice a défavorisé l'adhésion des microorganismes testés. En outre, l'amélioration de la résistance du bois aux pourritures brune et blanche par un traitement de combinaison en utilisant l'anhydride maléique et de copolymérisation par greffage avec glycidyle et le méthacrylate de méthyle a été rapportée dans l'étude de Li *et al.* (2011).

Dans le but d'améliorer certaines propriétés telles que la stabilité, la durabilité et la résistance aux agents de pourritures, plusieurs études ont été menées sur le traitement thermique du bois. Ce traitement consiste à exposer le bois à des températures comprises entre 180 et 240°C sous atmosphère ce qui a conduit à la modification chimique du bois par dépolymérisation de la cellulose et les hémicelluloses en premier lieu, puis déformation de la lignine et par conséquent le bois devient un matériau plus hydrophobe et donc plus stable et plus durable (Gérardin *et al.* 2007, Cheng *et al.* 2016). Kasemsiri *et al.* (2012) ont également étudié le bois de type cèdre rouge (Eastern redcedar) qu'ils ont chauffé à des températures variant entre 120 et 190°C. Les résultats obtenus par ces auteurs ont montré une diminution de l'hygroscopicité (reprise d'humidité) et une amélioration de la stabilité dimensionnelle (gonflement) avec l'augmentation du temps et de la température du traitement. D'autres travaux sur le traitement thermique ont démontré que mise à part la baisse des propriétés mécaniques, le traitement thermique du bois améliore sa résistance aux agents de pourritures, sa stabilité dimensionnelle et sa durabilité (Nguila Inari *et al.* 2006, Severo *et al.* 2016).

2.2. Méthodes chimiques

En plus des méthodes physiques de traitement du bois, afin de le préserver et lui confère une bonne durabilité, on trouve des méthodes chimiques qui consistent à imprégner et immerger le bois dans des produits chimiques (Wikberg et Maunu 2004, Kamperidou *et al.* 2013).

Parmi les produits chimiques souvent utilisés, on cite notamment des chélateurs de métaux pouvant limiter l'accès des ions métalliques nécessaires à l'activité enzymatiques des champignons dégradant le bois (Diouf *et al.* 2002, Dumarçay *et al.* 2003). D'autres produits sont des sels métalliques dissous dans l'eau (sels hydrosolubles), tels que l'arséniate de cuivre chromé (CCA), l'arséniate de cuivre ammoniacal (ACA), le cuivre-chrome (CC), le cuivre-chrome-bore (CCB), le fluor-chrome-arsenic-phénol (FCAP), la créosote et le pentachlorophénol (Sivonen *et al.* 2002, Goodell *et al.* 2003).

Bien qu'ils permettent d'améliorer considérablement les propriétés du bois traité, l'utilisation des produits chimiques comporte des inconvénients. En effet, l'utilisation du CCA entraîne le craquement du bois. La créosote quant à elle augmente l'allumage du feu, ce qui est dangereux en cas d'incendie. L'inconvénient majeur du traitement chimique du bois est la non-dégradabilité naturelle des ces produits, les retombées négatives sur l'écosystème et leur toxicité excessive sur l'environnement (Wikberg et Maunu 2004). De ce fait, ils font l'objet de strictes réglementations par la directive des produits Biocides dans plusieurs pays en Europe et aux Etats –Unis.

2.3. Méthodes biologiques

L'utilisation des produits chimiques pour lutter contre la formation des biofilms du bois s'avère efficace mais souvent très nocif aussi bien pour l'Homme que l'environnement. C'est pour cela que les chercheurs ont orienté désormais leurs travaux vers le développement de produits et de formulations biologiques naturelles et moins toxiques ayant montrées leur capacité d'empêcher l'adhésion microbienne sur différents supports. Parmi ces produits, les chitosanes, les composés extractibles du bois (Tropolones), les revêtements antimicrobiens et les extraits de plantes ont été utilisés. Les chitosanes sont des dérivés de la chitine extraites à partir des carapaces des crustacées et des insectes. Ces composés naturels ont présenté des propriétés antimicrobiennes importantes, ils sont non toxiques et biodégradables. En fait, Eikenes *et al.* (2005) ont montré que le chitosane peut être utilisé comme agent de préservation du bois contre certains champignons de pourriture brune et cubique. Comme

d'autres travaux ont rapporté également l'activité antifongique et antibactérienne importantes des chitosanes vis-à-vis de plusieurs espèces de champignons (Torr *et al.* 2005).

Une autre méthode biologique de traitement du bois consiste à utiliser une famille de composés extractibles appelée tropolones, répertoriée dans l'ordre des Cupressales et considérée comme étant responsable de la durabilité naturelle des essences contenant ces métabolites secondaires. Des tropolones ont souvent été isolées à partir de Cupressacées (Cupressus, Chamaecyparis, Juniperus, Thuja). Ces substances ont illustré une activité antifongique intéressante contre les champignons de bleuissement et les champignons de la pourriture du bois (Haluk et Roussel 2000).

L'élaboration des surfaces à revêtement antimicrobienne, soit par immobilisation sur surface des molécules antimicrobienne ou par leur incorporation dans les polymères, dans le but de repousser les microorganismes d'adhérer ainsi que d'améliorer la durabilité et la stabilité du bois a été rapportée dans différent travaux (Li *et al.* 2010, Veigel *et al.* 2014, Yang *et al.* 2014).

Le développement et l'émergence de la résistance chez les microorganismes en mode biofilm aux antibiotiques, désinfectants, détergents et aux autres moyens de lutte. En plus, la toxicité des méthodes chimiques a donné le jour à une nouvelle approche de lutte contre la formation des biofilms sur le bois. Cette approche consiste à exploiter les agents antimicrobiens naturels contenus dans les plantes aromatiques et médicinales que ce soit dans leurs extraits bruts ou dans leurs huiles essentielles. Dans les paragraphes qui suivent, cette nouvelle approche de protection contre les microorganismes dégradant le bois sera développée en détail. Une revue des différentes méthodes de protection et de lutte contre l'adhésion microbienne et la formation du biofilm sur le bois est résumée dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Différentes méthodes de lutte contre les biofilms du bois

Traitements	Types de traitement	Références
Fongicides chimiques (tebuconazole, propiconazole, chlorothalonil, copper oxine, copper naphthenate (CuN))	Chimique	(Stirling <i>et al.</i> 2014)
Espèces inorganiques tels que des carbamates, des triazoles, le chlorure mercurique, le chlorure de zinc, Créosote et le pentachlorophénol	Chimique	(Mourant 2007, Stirling <i>et al.</i> 2014)
Sels hydrosolubles tels que l'arséniate de cuivre chromé (CCA), l'arséniate de cuivre ammoniacal (ACA), le cuivre-chrome (CC), le cuivre-chrome-bore (CCB) et le fluor-chrome-arsenic-phénol (FCAP)	Chimique	(Stirling <i>et al.</i> 2014)
Alkoxides de silicium pur à phase gazeuse Utilisation de différents alkoxysilanes à une barrière hydrophobique	Chimique	(Cappelletto <i>et al.</i> 2013, Guzzon <i>et al.</i> 2015)
Composites farine/polyéthylène de haute densité (PEHD)	Chimique	(Ashori <i>et al.</i> 2013)
Traitement thermique et enzymatique Traitement thermique avec imprégnation dans phenol-formaldehyde (PF)	Physique	(Nykter <i>et al.</i> 2008, Cao and Jiang 2014)
Greffage de méthacrylate de méthyle (MMA) sur la surface du bois	Physicochimique	(Fu <i>et al.</i> 2012)
Plasma micro-ondes	Physique	(Potočnáková <i>et al.</i> 2013)
Nanomatériaux oxyde de zinc et oxyde de cuivre	Physicochimique	(Clausen <i>et al.</i> 2011, Marzbani <i>et al.</i> 2015)
Matrices de nanopolymère (fluoropolymère-poly (éthylène glycol))	Physicochimique	(Clausen 2012, 2013)
Création de surfaces photoréactives, (revêtements antimicrobiens, composés phénoliques, laccase d'iodure)	Physique-biologique	(Ihssen <i>et al.</i> 2014)
Laccase catalysée-iodation avec l'utilisation des composés phénoliques (thymol)	Physique-biologique	(Schubert <i>et al.</i> 2012)

IV. SUBSTANCES BIOACTIVES DES PLANTES AROMATIQUES ET MÉDICINALES

Essences, senteurs, effluves, fragrances, parfums autant de mots délicats et convenables pour nommer les substances aromatiques qui nous sont offertes par les plantes aromatiques et médicinales (PAM). De tout temps, le règne végétal a offert à l'Homme des ressources essentielles à son alimentation, hygiène et sa santé. Il semblerait que l'Homme a connu et utilisé les PAM depuis la haute antiquité. Toutes les grandes civilisations anciennes (chinoise, grecque, romaine, musulmane...) ont eu recours aux PAM pour leurs propriétés médicinales, aromatiques ainsi que des utilisations rituelles.

Le Maroc, par sa situation géographique, constitue un cadre naturel tout à fait original offrant une gamme complète de bioclimats méditerranéens favorisant une flore riche et variée avec un endémisme très marqué. En effet, il recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité. Parmi ces ressources naturelles, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) qui occupent une large et importante place et jouent un grand rôle dans le domaine socioéconomique et scientifique national (Bellakhdar 1997). Elles sont de plus en plus utilisées dans différents domaines : l'industrie, l'agro-alimentaire, la conserverie, l'industrie pharmaceutique, le cosmétique, la parfumerie et la phytothérapie.

Au Maroc, près de 800 espèces végétales spontanées ont été qualifiées de plantes aromatiques et médicinales. Environ 349 espèces spontanées, sur un total de 532 espèces végétales, sont effectivement utilisées dans la pharmacopée traditionnelle marocaine (Bellakhdar 1997). C'est un secteur en plein développement, notre pays est un producteur traditionnel des huiles essentielles et d'extraits aromatiques. La majorité des plantes exploitées dans différentes recherches et applications viennent des régions économiquement défavorisées notamment le Rif, l'Atlas et l'Oriental. Cependant, ce domaine des substances végétales reste loin d'être entièrement connu et il est encore sous exploité, malgré le développement incessant des technologies et l'invention de nouvelles méthodes. Ceci est dû à l'extrême complexité de la composition chimique des extraits et des huiles essentielles des plantes médicinales et aromatiques.

1. Aperçu sur les plantes étudiées

Dans le cadre de la recherche des produits ou des substances biologiques ayant des propriétés antiadhésives ainsi que de rationaliser l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales, un certain nombre de critères ont été pris en compte pour le choix des plantes de ces travaux de thèse. En effet, la sélection a été basée sur leur utilisation intensive en médecine

traditionnelle en valorisant ainsi l'expérience accumulée par les autochtones d'une région ou d'une localité. La sélection est basée également sur leurs propriétés antimicrobiennes et antifongiques rapportées dans la littérature scientifique. Cependant, leur activité antiadhésive et/ou antibiofilm est peu ou pas étudiée. Le choix est basé aussi sur leur disponibilité dans le marché marocain riche d'une flore très diversifiée. Un autre critère de choix est dans le cadre de la valorisation des plantes cultivées (domestiquées) dans le jardin de l'Agence nationale des Plantes Aromatiques et Médicinales de Taounate.

1.1. *Myrtus communis* L.

a. Description botanique

Le myrte (*Myrtus communis* L.), en arabe RIHAN, Rayhane ou AL-AS, est la seule espèce de la famille des Myrtacées qui existe à l'état naturel au Maroc (Figure 13). C'est un arbuste de 2 à 5 mètres de hauteur, en buissons denses d'un vert brillant. Il se remarque par ses fleurs blanches très ouvertes et ses nombreuses étamines en touffe ébouriffée. Son odeur aromatique forte et particulière est l'un de ses traits de caractère. Les feuilles à nervation pennée, opposées, courtement pétiolées, ovales, aiguës, entières, fermes, d'un vert brillant, sont parsemées de petits poils transparents. Les fleurs apparaissent au début de l'été. Elles sont blanches, odorantes et sont portées par un long pédoncule dressé et solitaire à l'aisselle des feuilles. Le fruit sorte à l'automne est une baie ovoïde, noire à maturité, couronnée par le limbe du calice.

Les rameaux sont de taille fine de couleur verte qui se transforme rapidement en brun orangé pubescents dans leur jeunesse.



Figure 13 : Aspects morphologiques de *Myrtus communis* L. (Ghanmi *et al.* 2013).

La classification botanique de *Myrtus communis* est représentée dans le tableau 4 (Goetz et Ghedira 2012).

Tableau 4 : Classification botanique de *Myrtus communis* L.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Eucaryotae</i>
Embranchement	<i>Spermaphytæ</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermae</i>
Classe	<i>Dicotylédonae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus communis</i>

b. Localisation

Le myrte pousse spontanément et en abondance dans les régions méditerranéennes. Au Maroc, on le rencontre au bord de la mer jusqu'à 1100 m, dans les zones forestières et péri-forestières appartenant aux séries végétales à chêne-liège et chêne Kermès. Il se développe sur un substrat le plus souvent siliceux dans les climats subhumides, humides à variante chaude à tempérée. Il est rencontré dans le Rif centre –occidental, la zone comprise entre LARAACHE, TANGER et BAB TAZA, au foret MAMORA et ARBAA SEHOUL, elle est aussi présente dans la région d'AMEZMIZ (haut Atlas de Marrakech) et dans la vallée d'Erdouz (Ghanmi *et al.* 2013)

c. Utilisation médicinales et traditionnelles

Depuis la plus haute antiquité, le myrte a été utilisé en médecine traditionnelle comme, antiseptique, parasiticide, stomachique stimulant, astringent et désinfectant. Ses différentes parties ont assortis traditionnellement des applications septiques et ils sont considérés comme un remède à la santé pour l'asthme, l'eczéma, le psoriasis, la diarrhée, les infections urinaires et les troubles gastro-intestinaux (Aleksic et Knezevic 2014). Il était employé en Egypte ancienne pour soigner les troubles de la peau et les infections des sinus (Bird 2003). Les feuilles sont utilisées comme agent anti-inflammatoire antiseptique ainsi que dans le rinçage-bouche pour le traitement de la candidose (Gortzi *et al.* 2008).

L'infusion des feuilles a été utilisée partout au Maroc comme remède des affections respiratoires et des diarrhées, leur décoction a été servi à noircir les cheveux et aux soins de beauté. Elle a été utilisée aussi comme condiment pour fortifier l'estomac, la décoction des fruits ou fleurs du myrte a été utilisée contre les infections herpétiques érysipèles et les troubles de la circulation sanguine (Wahid 2013). Grâce à son pouvoir sécurisant et calmant,

l'essence du Myrte a été servi pour le traitement des blessures et des brûlures (Bellakhdar 1997). Son huile essentielle a été également exploitée industriellement pour la fabrication des parfums et employée pour diminuer les douleurs rhumatismales. Cette espèce a été aussi exploitée à un stade végétatif avancé (arbuste) pour être utilisée comme bois de feu et pour la fabrication du charbon de bois. Dans certaines régions méditerranéennes, les baies de Myrte ont été utilisées après leur macération dans alcool pour la préparation du vin et de liqueurs (Messaoud *et al.* 2012). Comme elles ont également servi pour l'agrément de certains plats de viandes comme les gibiers (lièvres, sangliers). Généralement, dans la médecine populaire, une décoction de feuilles et de fruits a été utilisée par voie orale pour le traitement de maux d'estomac, l'hypoglycémie, la toux, la constipation, manque d'appétit, ainsi que aussi à l'extérieur pour la cicatrisation (Serce *et al.* 2010).

Par ailleurs, les vertus médicinales de *Myrtus communis* L. ont été démontrées par l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des feuilles de *Myrtus communis* sur 12 souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* et les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été comprises entre 10-20 mg/ml (Bokaeian *et al.* 2014). Dans une autre étude, des extraits hydro-alcooliques des feuilles de Myrte ont montré une importante activité antibactérienne sur certaines bactéries pathogènes, en particulier *Staphylococcus aureus*, *E. coli* et *Vibrio cholerae* avec les CMI sont 0,2, 8 et 2 mg/ml respectivement (Taheri *et al.* 2013).

Une très forte activité antibactérienne des extraits (méthanol, éthanol, acétate d'éthyle) de feuilles et de baies de Myrte a été observée lors de l'évaluation de leur pouvoir antimicrobienne contre des microorganismes pathogènes d'origine alimentaire. L'extrait méthanolique de feuilles de *M. communis* a montré une activité antibactérienne remarquable contre *L. monocytogenes* et *P. aeruginosa*, mais aucun des extraits testés était actif vis-à-vis de *E. coli* K12 (Amensour *et al.* 2010). Belmimoun *et al.* (2016), Eslami *et al.* (2016) ont également rapporté la capacité des extraits méthanoliques et aqueux de *M. communis* d'inhiber la croissance de différentes bactéries de Gram positif et négatif responsables des maladies nosocomiales et ayant montrées la résistance vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés. Touaibia et Zohra (2014) ont montré un bon pouvoir antioxydant des extraits méthanolique de cette plante avec une $EC_{50}=0.69\text{mg/ml}$, et un très bon pouvoir inhibiteur de la peroxydation de l'acide linoléique estimé à 87.45%, qui s'est avéré largement supérieur à celui de l'acide ascorbique utilisé comme contrôle positif (50.57%). En outre, Kanoun *et al.* (2014) ont révélé que la fraction d'acétate d'éthyle des feuilles de Myrte exerce une plus grande

activité anti-oxydante suivie de la fraction butanolique et les anthocyanes de l'extrait des baies. Les concentrations efficaces (CE_{50}) de cette fraction étaient de 0.09 ± 0.002 mg/ml pour réduire la puissance et 0.26 ± 0.004 mg /ml pour la rupture du radical DPPH.

Aidi Wannes *et al.* (2010) ont également mesuré les activités anti-oxydantes des extraits méthanoliques et des huiles essentielles de feuilles, de tiges et de fleurs de cette plante. Ils ont constaté que, quelle que soit la partie du végétal étudiée, l'extrait au méthanol a manifesté une activité très supérieure à celle observée pour les huiles essentielles. Ces auteurs ont aussi démontré que les extraits méthanoliques peuvent s'avérer plus efficaces que les antioxydants synthétiques. Enfin, Tuberoso *et al.* (2010) ont signalé que le pouvoir antioxydant était plus important avec les extraits de baies à l'éthanol qu'avec ceux à l'acétate d'éthyle ou à l'eau.

Par ailleurs, un effet inhibiteur prometteur de l'huile essentielle de *Myrtus communis* contre les deux phytopathogènes et contaminants des fruits : *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. a été rapportée dans l'étude de Touaibia (2015). Également, Mahboubi et Bidgoli (2010) ont rapporté un effet antifongique synergique de l'huile essentielle de Myrte avec l'amphotericine B vis-à-vis des isolats cliniques de *Candida albicans*. En plus des ces activités biologiques de *M. communis* qui sont mentionnés ci-dessus, de nombreuses autres activités biologiques importantes, qui peuvent être classées comme activités biochimiques et pharmacologiques, à savoir antidiabétique, anti-inflammatoire et anticancéreuse ont été rapportées (Aleksic et Knezevic 2014). Cependant, des études sur l'activité antiadhésive et anti-biofilms de cette plante sont encore à leur début.

1. 2. *Thymus vulgaris* L.

a. Description botanique

Le Thym ou *Thymus vulgaris*, en arabe Zaatar, est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées connues pour leurs huiles essentielles aromatiques.

Le thym est un sous-arbrisseau touffu à tige dressée, ligneuse, rameuse et tortueuse à la base, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Les rameaux blanchâtres, courtement velus, portent des feuilles persistantes, de petites tailles (3 à 12 mm de long sur 0.5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaires, à limbe entier. Elles sont de couleur vert grisâtre, leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs, alors que leur face supérieure est marquée par une nervure centrale déprimée. Les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face

ventrale, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille (Figure 14). Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. Le fruit est un tétrakène qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm), brun clair à brun foncé. La floraison se fait durant le période du Juin à Octobre.

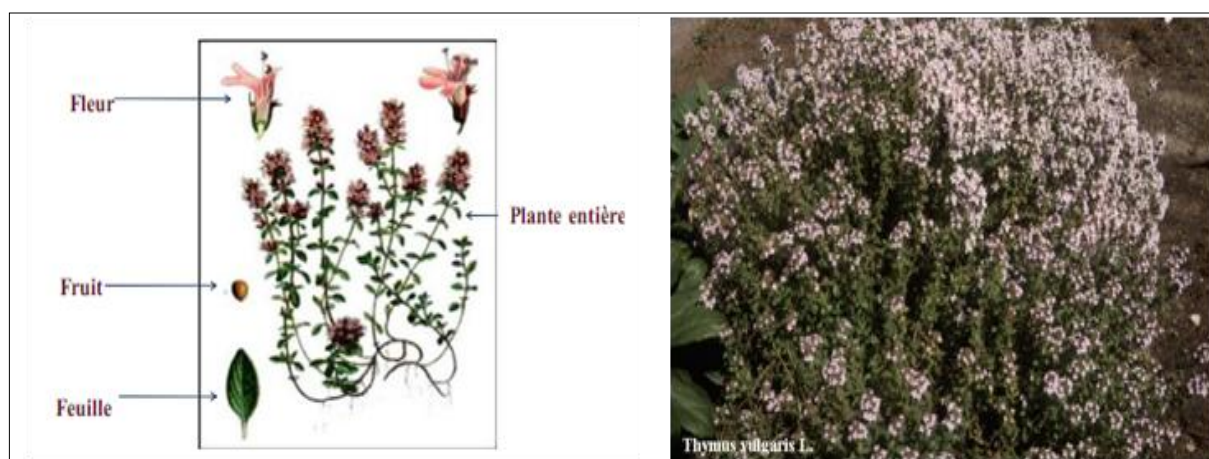


Figure 14 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin P 2001).

La classification botanique de *Thymus vulgaris* L. est donnée dans le tableau 5.

Tableau 5 : Classification botanique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghedira 2012)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

b. Localisation

Thymus vulgaris L. est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule Ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (Amiot 2005). Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plantes médicinales (Kitajima *et al.* 2004). Le *Thymus vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage sur les collines arides et rocailleuses des régions méditerranéennes comme la

lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages. Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Kaloustian *et al.* 2003). Au Maroc, le genre *Thymus* est représenté par 21 espèces dont 12 sont endémiques et sont riches en huiles essentielles et antioxydants (Benabid 2000, Amarti *et al.* 2011).

c. Utilisation médicinales et traditionnelles

Le thym a été utilisé en médecine populaire dans des bains aromatiques ou sous forme de compresses préparées après son infusion pour le traitement complémentaire des pathologies hivernales et en cas de prurit. Des extraits de thym ont été également utilisés par voie orale dans le cas de traitement des dyspepsies et autres troubles gastro-intestinaux (Goetz et Ghedira 2012). Des applications par voie externe d'extrait du thym ont été préconisées dans le traitement de plaies superficielles, du rhume et des affections de la cavité buccale. L'huile essentielle du thym et son composé majoritaire (le thymol) ont été exploités dans la préparation de pommades antiseptiques et cicatrisantes et de sirops antitussifs (WHO 1999, Teuscher *et al.* 2005).

Dans certaines régions au Maroc, le thym a été utilisé après macération dans l'huile d'olive pour traiter des blessures et dans le milieu rural il a été utilisé dans la préparation de «Smen», une explication de cet usage serait en plus de l'aromatisation une préservation du produit contre la détérioration par les microorganismes indésirables. Son huile essentielle a été utilisée dans les parfums, les cosmétiques, les détergents et les savons. Grace à ces propriétés aromatiques, le thym a été aussi utilisé dans l'aromatisation des produits alimentaires, viande, sauces et conserves (Guenther 1949).

Des vertus médicinales de *Thymus vulgaris* L. ont été démontrées dans différentes activités biologiques de ses extraits. En fait, une forte activité antifongique de l'huile essentielle (HE) de *Thymus* à des dilutions de 1, ½ et ¼ a été exercée vis-à-vis d'*Aspergillus Niger* et supérieur de celle donné par les antibiotiques le sulfate de streptomycine (72%) et gentamicine (8 mg/ml) (Moghtader 2012). Également, les travaux de De Lira Mota *et al.* (2012) ont rapporté que l'HE de cette plante et son constituant le thymol ont significativement inhibé le développement du mycélium et la germination des spores fongiques et qu'ils ont prouvé une forte activité antifongique contre *Rhizopus oryzae* responsable de mucormycose. Une autre étude a illustré le pouvoir antifongique important des huiles essentielles de *T. vulgaris*, *Mentha spicata* et *Citrus limonum* (plantes marocaines) contre trois souches de *dermatophytes*

responsables de la surinfection de l'eczéma de contact. Ce travail a rapporté que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a montré une activité la plus élevée contre les *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* et *Epidermophyton floccosum* par rapport à celles des deux autres huiles (Ismaili *et al.* 2014).

En plus de l'activité antifongique, des études (*in vitro*) ont prouvé que l'huile essentielle de *T. vulgaris* possède des propriétés antibactériennes contre un certain nombre de bactéries (Cheurfa *et al.* 2013). Dans leur étude, consacrée à l'évaluation de l'huile essentielle de thym vis-à-vis de cinq bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*) responsables de gastroentérites ont montré une forte activité antibactérienne avec des diamètres variant de 22.00 à 45.00 mm. Pesavento *et al.* (2015) ont montré également le pouvoir antibactérien intéressant de l'HE de *T. vulgaris* à des concentrations de 25, 50, 75 et 100% (v/v) contre les microorganismes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*) responsables de la production des entérotoxines en agroalimentaire.

L'activité antioxydante de *T. vulgaris* a été aussi étudiée par plusieurs auteurs (Rodriguez *et al.* 2013, Dogu-Baykut *et al.* 2014). Par exemple, l'extrait méthanolique de thym a montré une meilleure activité antioxydante que celles de *Salvia officinalis* L et *Origanum majorana* L (Roby *et al.* 2013).

2. Huiles essentielles et composés phénoliques

2.1. Définitions

Selon la 7^{ème} édition de la pharmacopée européenne, les huiles essentielles (HE) sont définies comme suit: «produit odorant, généralement d'une composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est généralement séparée de la phase aqueuse par un procédé physique qui ne conduit pas à des changements importants dans sa composition chimique (Asbahani *et al.* 2015).

Les HE sont des liquides huileux aromatiques extraits à partir de matériaux de plantes aromatiques. Elles pourraient être biosynthétisées sous forme des métabolites secondaires dans les différents organes sécréteurs de la plante tels que les fleurs (rose, lavande), les bourgeons (clou de girofle), les feuilles (Thym, Eucalyptus), les fruits (anis), écorce (cannelle), les graines (cardamome), le bois (santal), rhizome et les racines (gingembre). Elles

peuvent être extraites par des méthodes différentes. En raison de leur nature hydrophobe et souvent leur densité plus faible que celle de l'eau, elles sont généralement lipophiles, soluble dans les solvants organiques, non miscibles à l'eau. Leurs molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène) et où les réactions d'addition de ces unités conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes et leurs produits d'oxydation tels que les alcools, les aldéhydes, les cétones, les éthers et les esters terpéniques qui jouent un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques.

Les composés phénoliques constituent un des groupes les plus importants chez les végétaux, issus de la grande voie d'aromagenèse ; shikimates ou acide shikimique et de la voie acétate-malonate. Ils constituent une immense famille de plus de 8000 composés naturels pouvant être divisés en différentes classes sur la base de leur structure moléculaire. Les plus abondants sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les coumarines, les stilbènes et les lignanes (Dacosta 2003).

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycosides (Bruneton 1999)).

2. 2. Techniques d'extraction

Les huiles essentielles sont obtenues à partir de la matière première végétale par plusieurs méthodes d'extraction (Wang et Weller 2006). Ces méthodes peuvent être classées en deux catégories : les méthodes conventionnelles / classiques et des méthodes avancées/innovantes. Dans ces dernières décennies, la recherche dans les nouvelles technologies (ultrasons, micro-ondes) a conduit à l'émergence de nouveaux procédés d'extraction innovants et plus efficaces (réduction du temps de l'extraction et de la consommation d'énergie, l'augmentation de rendement d'extraction, l'amélioration de la qualité de l'HE).

Les méthodes classiques ce sont des méthodes conventionnelles basées sur la distillation avec l'eau portée à l'ébullition pour récupérer l'HE. Parmi ces méthodes on trouve l'hydro-distillation qui consiste à plonger le matériel végétal dans l'eau qu'on porte ensuite à ébullition. Dans les autres cas, le matériel végétal et l'eau sont séparés : soit l'eau est placée au fond de la cuve avant d'être portée à ébullition pour qu'un courant de vapeur d'eau traverse le matériel végétal, c'est la «vapo-hydro-distillation»; soit la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur de l'alambic, technique dite «vapodistillation». Dans ces

différents cas, la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle est dirigée vers un condenseur formé généralement d'un serpent, à tubes parallèles, dans lequel circule de l'eau fraîche. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont acheminées vers un essencier. Dans ce dernier, nous obtenons deux liquides, plus ou moins non miscibles : l'eau et l'huile essentielle. Aussi les méthodes comme hydro-diffusion, solvants organiques et pressage à froids ont été utilisées (Asbahani *et al.* 2015).

Un des inconvénients des techniques classiques est lié avec la thermolabilité des composés des huiles essentielles qui subissent des transformations chimiques (hydrolyse, isomérisation, oxydation) en raison des températures élevées appliquées. La qualité de l'HE extraite est donc extrêmement endommagée particulièrement si le temps d'extraction est long. Il est important que les méthodes d'extraction puissent maintenir la composition chimique et la proportion naturelle de l'HE à son état d'origine. De nouvelles techniques d'extraction doivent également réduire les temps d'extraction, la consommation d'énergie, l'utilisation de solvants et les émissions de CO₂. Parmi ces méthodes innovantes on trouve l'extraction par fluide subcritique (CO₂ et H₂) (Moura *et al.* 2005, Capuzzo *et al.* 2013), l'extraction assistée par micro-ondes (Vian *et al.* 2008), l'extraction par fluide sous pression (Allaf *et al.* 2013), l'extraction assistée par ultrason (Assami *et al.* 2012) et l'extraction par solvant assistée par micro-ondes libre (Filly *et al.* 2014).

2.3. Activités biologiques

Les huiles essentielles et les extraits bruts de plantes médicinales et aromatiques sont connus depuis des siècles par leurs utilisations pharmacologiques, pharmaceutique et activités biologiques, en particulier antifongiques, antibactériennes, anti-inflammatoire, antiparasitaire et antioxydantes (Goetz et Ghedira 2012). Ces propriétés dépendent de chémotype de la plante qui détermine la composition chimique de ses propres substances (Rauha *et al.* 2000). Le pouvoir antimicrobien de ces produits pourrait être également dû à la présence des phénols, des aldéhydes et des alcools (Holley et Patel 2005, Fisher et Phillips 2008).

Ces dernières années, un intérêt accru s'est porté sur des molécules d'origine naturelle notamment les extraits aromatiques et les huiles essentielles pour contrecarrer la résistance des microorganismes pathogènes vis-à-vis des agents antimicrobiens classiques. En effet, plusieurs études concernant les propriétés antibactériennes et antifongiques des extraits de plantes que ce soit la partie volatile ou fixe ont été rapportées dans la littérature scientifique (Bouhdid *et al.* 2012, Elkhalfi *et al.* 2013, Mishra *et al.* 2015, Onivogui *et al.* 2015, Reyes-

Jurado *et al.* 2015). Par exemple, Zhang *et al.* (2016) ont démontré que l'huile essentielle de Cannelle a présenté une efficace activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus*) responsables des détériorations alimentaires. Leurs résultats montrent que la concentration minimale d'inhibition (CMI) était similaire pour les deux bactéries (1.0 mg/ml). Tandis que, les concentrations minimales bactéricides (CMB) étaient 4.0 mg/ml et 2.0 mg/ml pour *E. coli* et *S. aureus* respectivement. En plus, ils ont prouvé que l'HE testé à la CMI a provoqué des changements et des dommages importants au niveau de la morphologie des cellules bactériennes. Alors qu'à la concentration de CMB, l'HE a détruit les cellules bactériennes à cause des petites fuites d'électrolytes, provoquant une augmentation rapide de la conductivité électrique d'échantillons.

L'analyse bibliographique a montré que les connaissances sur l'utilisation des extraits de plantes comme agents antiadhésifs et antibiofilms sont encore qu'à leur début. Elle a également indiqué que l'effet antibiofilm de ces extraits a été testé vis-à-vis des microorganismes colonisant les matériaux tels que le verre, la plaque dentaire et le polystyrène, cependant peu sont des travaux qui ont abordé ce sujet sur le bois.

2.4. Utilisation des plantes aromatiques et médicinales comme agents antiadhésifs et antibiofilms

Depuis quelques années, l'exploitation des agents antimicrobiens naturels contenus dans les plantes aromatiques et médicinales, que ce soit leurs extraits bruts ou bien leurs huiles essentielles a été reportée dans la littérature scientifique comme une nouvelle approche biologique de lutte contre la formation des biofilms sur différents matériaux notamment le verre, polyéthylène, polystyrène et l'acier inoxydable. À notre connaissance, un faible nombre d'études scientifiques a été publié sur le sujet. Le tableau 6 ci-après, résume une liste non exhaustive de différents travaux concernant l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales comme agents antibiofilms.

Tableau 6 : Revue des différents travaux concernant la lutte contre les biofilms par les PAMs

Souches	Plantes utilisées	Types d'extrait	Surfaces	Références
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 1408, <i>Salmonella typhimurium</i> LT2 DT104 et <i>Salmonella spp</i>	<i>Satureja montana</i> <i>Thymus vulgaris</i> <i>Rosmarinus officinalis</i>	Huile essentielle	Microplaque	(Miladi <i>et al.</i> 2016)
<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	<i>Mentha piperita</i> , <i>Coriandrum sativum</i> et <i>Pimpinella anisum</i>	Huile essentielles et extraits	Microplaque	(Bazargani et Rohloff 2016)
<i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)	<i>Patchouli</i>	Huile essentielle	Verre	(Nithyanand <i>et al.</i> 2015)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Streptococcus mutans</i> et <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i>	Extraits	Cellules épithéliales buccales humaines et plastique	(Limsuwan <i>et al.</i> 2014)
<i>Candida spp.</i>	<i>Alpinia galanga</i> , <i>Curcuma longa</i> , <i>Curcuma zedoaria</i> , <i>Mentha cordifolia</i> , <i>Ocimum africanum</i> , <i>Ocimum basilicum</i> , <i>Ocimum sanctum</i> , <i>Piper betle</i> , <i>Piper chaba</i> , <i>Piper nigrum</i> , <i>Piper sarmentosum</i> et <i>Zingiber officinale</i>	Extraits	Microplaque	(Kawsud <i>et al.</i> 2014)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Laurus nobilis</i>	Huile essentielle, polysaccharides, acides gras	Polystyrène	(Chmit <i>et al.</i> 2014)
<i>Sphingomonas spec</i> <i>Acinetobacter spec.</i> et <i>Stenotrophomonas Spec</i>	Thym, l'Origan et la Cannelle	Huile essentielle	Microplaque	(Szczepanski et Lipski 2014)
<i>Listeria monocytogenes</i> et <i>L. innocua</i>	<i>Achillea millefolium</i>	Huile essentielle	l'acier inoxydable et polyéthylène	(Jadhav <i>et al.</i> 2013)
<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Alteromonas sp.</i> et <i>Gallionella sp.</i>	<i>Cocos nucifera</i> Linn	Extrait	Verre	(Viju <i>et al.</i> 2013)

SUBSTANCES BIOACTIVES DES PLANTES AROMATIQUES ET MÉDICINALES

<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Coriandrum sativum</i> , <i>Mentha avensis</i> , <i>Pongamia pinnata</i> , <i>Azadiractha indica</i> , <i>Aloe vera</i> , <i>Eucalyptus globulus</i>	Extraits	Microplaque	(Kodali <i>et al.</i> 2013)
<i>Penicillium expansum</i>	-	Carvacrol	Bois	(El Abed 2012c)
<i>Candida dubliniensis</i>	<i>Cymbopogon citratus</i> (Citronelle)	Huile essentielle	Verre	(Taweechaisupa pong <i>et al.</i> 2012)
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Dodonaea viscosa</i> var. <i>angustifolia</i>	Extrait	Polyéthylène	(Naidoo <i>et al.</i> 2012)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Carvacrol et Thymol	Polystyrène	(El Abed <i>et al.</i> 2011)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Candida albicans</i>	<i>Mentha piperita</i>	Extraits bruts	Microplaque	(Sandasi <i>et al.</i> 2011)
<i>Listeria Monocytogenes</i>	<i>Syzygium aromaticum</i> (clou de girofle) <i>Mentha spicata</i> (menthe verte) <i>Lippia rehmannii</i> et <i>Cymbopogon citratus</i> (citronnelle)	Huile essentielle	--	(Leonard <i>et al.</i> 2010)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Lonicera alpigena</i> , <i>Castanea sativa</i> , <i>Juglans regia</i> , <i>Ballota nigra</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Leopoldia comosa</i> , <i>Malva sylvestris</i> , <i>Rosa canina</i> <i>Rubus ulmifolius</i>	Extraits bruts	--	(Quave <i>et al.</i> 2008)

PARTIE 2 :

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES MICROORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LA BIODÉTÉRIORATION DU BOIS DE CÈDRE

1. Prélèvement, préparation des échantillons et isolement des microorganismes attachés au bois

Dans le souci de lutter contre les microorganismes formant les biofilms à la surface du bois et responsables de sa biodétérioration, il est d'abord nécessaire d'isoler et d'identifier les champignons et les bactéries qui sont à l'origine de la dégradation microbienne de ce matériau, causant ainsi une perte inestimable de notre patrimoine architectural. De ce fait, les prélèvements d'échantillons ont été effectués à partir de deux sites, souffrant d'une véritable colonisation microbienne, à l'ancienne Médina de la ville de Fès.

- Site 1 : un portail d'une ancienne maison traditionnelle.
- Site 2 : une fenêtre d'une maison en ruine.

Il est connu que la prospection des échantillons à partir des sites patrimoniaux rencontre toujours des difficultés et des contraintes innombrables. En effet, l'échantillonnage doit être réalisé en employant des techniques non seulement non contaminantes, mais aussi non destructives. En outre, plusieurs méthodes respectant ces normes ont été proposées pour la mise en évidence directe ou indirecte de la colonisation microbienne du bois. Dans cette étude, les échantillons (morceaux de bois) ont été prélevés à l'aide d'un sécateur et d'une pince désinfectée et sont placés lors du transport dans des erlenmeyers stériles. L'isolement des microorganismes attachés au bois a été effectué le même jour que le prélèvement tel que décrit dans les travaux de Zyani *et al.* (2009) avec quelques modifications. En effet, le bois a été découpé dans les conditions aseptiques en morceaux d'environ 1cm². Par la suite, une quantité de 25g de bois a été mise en suspension dans 225 ml de milieu de culture Luria-Bertani (LB), puis portée sous agitation pendant 3h. Le surnageant a été ensuite récupéré après décantation en réalisant des dilutions décimales jusqu'à 10⁻⁶. Ensuite, 100 µl de chaque dilution ont été étalés sur des boîtes contenant les milieux de culture gélosés convenables pour analyser la microflore présente dans nos échantillons. Après l'incubation, les colonies ont été discriminées et sélectionnées sur la base de différences morphologiques (forme, pigments, taille, texture), puis ensemencées individuellement et cultivées plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

Le tableau ci-après montre les différents milieux de culture ainsi que les conditions d'incubation en fonction des microorganismes recherchés.

Tableau 7 : Milieux de culture et conditions d'incubation en fonction des microorganismes

Microorganismes	Milieux de culture	Conditions de culture
Bactéries	Milieu LB*	37°C pendant 24h
Champignons	Milieu Extrait de Malt*	30°C pendant 72h

* : composition des milieux de culture (**Annexe 1**).

2. Repiquage et conservation des souches

Le repiquage de toute colonie distincte sur le même milieu de culture où elle s'est développée a été réalisé. Les boîtes de Pétri contenant les isolats purifiés ont été ensuite conservées à 4°C. Pour une utilisation ultérieure, les isolats microbiens isolés dans ce travail ont été conservés sur gélose inclinée à 4°C (conservation pour des courtes périodes). Pour une préservation à long terme (plusieurs années), les cultures liquides de l'ensemble des isolats ont été conservées dans 20% (w/v) de glycérol à -20°C et dans 25% (w/v) de glycérol à -80°C.

3. Identification moléculaire des isolats par amplification et séquençage

Vu son universalité liée à son rôle clé dans la traduction de l'ARNm en protéines, sa structure mosaïque incluant des régions conservées, variables et hypervariables, et son abondance dans les cellules (Woese *et al* 1987), le gène qui code pour l'ARN ribosomique 16S et/ou 5,8S a été choisi comme marqueur phylogénétique. Ainsi, l'identification moléculaire des isolats purifiés a été effectuée par amplification de l'ADNr 16S et/ou 5,8S grâce à la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction). Cette technique consiste à réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'acide désoxyribonucléique (ADN). Elle permet par conséquent d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, des quantités importantes d'un fragment d'ADN spécifique. L'ensemble des étapes réalisées est présenté ci-dessous.

3.1. Extraction de l'ADN génomique

L'extraction de l'ADN génomique des bactéries et des champignons a été réalisée par un protocole de choc thermique à deux reprises (Mostakim *et al.* 2012).

• Protocole

A partir d'une culture fraîche, une colonie bactérienne ou un petit fragment de mycélium du champignon a été mis en suspension dans un volume de 50 µl d'eau distillée stérile. Par la suite, le tout a été incubé à -20°C pendant 20 min, suivie immédiatement d'une incubation au bain marie de 80°C pendant 5 minutes. Ce choc thermique a été réalisé deux fois. Après centrifugation à 70000 rpm pendant 10 min, 2 µl du surnageant (ADN) ont été récupérés pour la réaction d'amplification (PCR). Pour les champignons le surnageant a été dilué 2 fois avant son utilisation dans la PCR.

3.2. Amplification de l'ADNr 5,8S (champignons) et de l'ADNr 16S (bactéries) par PCR

- Protocole de PCR (Polymérase Chain Réaction)

La réaction d'amplification par PCR a été réalisée dans un appareil thermocycleur permettant de programmer les durées et les températures des trois étapes d'un cycle ainsi que le nombre de cycles désirés.

- Amorces utilisées

Les amorces (appelées également primers) utilisées sont des amorces universelles. Pour l'identification des bactéries, les amorces FD1 et RS16 ont été utilisées (Weisburg *et al.* 1991), et les amorces ITS1 et ITS4 pour identifier les champignons (White *et al.* 1990).

Tableau 8 : Séquences des amorces utilisées dans la réaction PCR

Gène cible	Amorces	Séquences nucléotidiques
ADNr 16S	FD1	5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3'
	RS16	5' TACGGCTACCTTGTTACGACTT 3'
ADNr 5,8S	IST1	5' CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA 3'
	ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

- Mélange réactionnel

Dans un tube Eppendorf adapté au thermocycleur, le mélange réactionnel de PCR a été préparé tel que présenté dans le tableau 9 :

Tableau 9 : Composition des mélanges réactionnels utilisés pour les PCR d'amplifications des ADNs génomiques

Réactifs	ADNr 16S		ADNr 5,8S	
	Volume (µl)	Concentration finale	Volume (µl)	Concentration finale
Tampon Taq (10X)	2	1x	2	1x
Mgcl ₂ (25 mM)	2	2.5 mM	2	2.5 Mm
dNTPs (1 mM)	4	0.2 mM	4	0.2 Mm
ITS1 (10 µM)	-	-	2	1 µM
ITS4 (10 µM)	-	-	2	1 µM
FD1 (10 µM)	2	1 µM	-	-
RS16 (10 µM)	2	1 µM	-	-
Taq polymérase (5U/µl)	0.2	0.05 U/µl	0.2	0.05 U/µl
H ₂ O pure	5.8	-	5.8	-
ADN	2	-	2	-
Volume final	20	-	20	-

Pour contrôler les réactions de PCR, un témoin positif contenant 2 µl d'ADN d'une souche de référence dont l'amplification est nécessaire pour la validation de la réaction de PCR, ainsi qu'un témoin négatif où l'ADN du mélange réactionnel a été remplacé par 2 µl d'eau pour confirmer l'absence de toute contamination, ont été utilisés.

- Amplification

Après avoir placé les tubes dans le thermocycleur, une pré-dénaturation à 94°C pendant 5 minutes a été entamée. Ensuite, le programme d'amplification a été exécuté selon trois étapes durant les 35 cycles (Tableau 10).

Tableau 10 : Programme de la PCR utilisé pour l'amplification des ADNs génomiques

Étapes		ADNr 16S		ADNr 5,8S	
		Température (°C)	Durée (sec)	Température (°C)	Durée (sec)
Dénaturation initiale		94	300	94	300
35 cycles	Dénaturation	94	30	94	30
	Hybridation	55	45	50	45
	Élongation	72	90	72	90
Élongation finale		72	300	72	300

Le dernier cycle a été suivi d'une phase d'élongation terminale à 72°C pendant 5 minutes. Les produits amplifiés ont ensuite été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.

3.3. Électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur le gel d'agarose des produits PCR a été effectuée pour confirmer la réussite de l'amplification.

- Préparation du gel

Une solution d'agarose à 1% a été préparée dans du TAE 1x (Tampon de migration ; TAE 50x : Tris base : 242g ; Acide acétique glacial : 57.1 ml ; EDTA 0.5M « pH 8 » : 100 ml), puis chauffée jusqu'à dissolution complète et après refroidissement à 60°C, 2 µl du Bromure d'Ethidium BET (10mg/ml) ont été ajoutés. Par la suite, le gel a été coulé dans un moule muni d'un peigne à 16 puits, placé dans une cuve d'électrophorèse et immergé dans une solution de TAE 1X.

- Dépôt des produits d'amplification

Afin de suivre la migration du produit d'amplification dans le gel d'agarose, 2 µl de ce produit ont été mélangés à 2 µl d'une solution de charge avant de le déposer dans les puits de gel. La solution de charge contient essentiellement :

- 700 µl/ml d'eau distillée stérile.
- 300 µl/ml de glycérol (un alourdisseur) pour entraîner l'ADN au fond des puits.
- 2.5 mg/ml de bleu de bromophénol (marqueur de mobilité) qui permet de suivre la migration.

- Migration

La migration a été réalisée sous l'effet du champ électrique produit par un générateur de courant sous un voltage de 70 Volts pendant 5 minutes pour permettre la sortie de l'ADN des puits, ensuite à 30 Voltes durant le reste de l'électrophorèse. Celle-ci a été arrêtée lorsque le témoin de migration (bleu de bromophénol) avait atteint les trois quarts de la longueur du gel.

- Visualisation

La visualisation de l'ADN sur le gel d'agarose a été réalisée grâce à un colorant fluorescent Bromure d'Ethidium (BET). Ce composé possède la propriété de s'insérer entre les paires de base des acides nucléiques. Le gel a été visualisé à l'aide d'un transilluminateur à UV.

3.4. Séquençage des ADN amplifiés

Le séquençage a été réalisé à la cité de l'innovation de Fès. Après avoir purifié les produits de PCR par les billes magnétiques, les réactions de séquençage ont été effectués par un séquenceur automatique adapté à la technique de Fred Sanger. Cette méthode consiste à une amplification spécifique (PCR) en utilisant un kit de séquençage contenant la polymérase AmpiTaq et des nucléotides terminateurs marqués par une fluorescence bien déterminée. Le séquenceur détecte, par son système optique (caméra CCD), la fluorescence de quatre marqueurs différents correspondant à chacun des quatre didésoxynuléotides qui terminent la réaction en étant dépourvu du groupement hydroxyle (OH) en position 3' nécessaire pour l'élongation de la chaîne d'ADN. Chaque marqueur émet une longueur d'onde différente lorsqu'il est excité par le faisceau laser, ce qui permet de détecter les quatre couleurs dans une même ligne. Ainsi, la séquence de l'ADN amplifiée est alors lue par un balayage automatique qui permet de distinguer grâce à des fluorochromes différentes les quaternaires bases A, T, C ou G. L'utilisation du logiciel informatique permet de fournir un tracé électrophorétique avec des couleurs différentes pour chaque base élémentaire. L'identification a été réalisée par comparaison de cette séquence avec les séquences contenues dans la base de données.

Ces réactions de PCR ont été réalisées dans le mélange réactionnel et selon le programme d'amplification (25 Cycles) illustrés dans les tableaux 11 et 12.

Tableau 11 : Mélange réactionnel du séquençage

Réactifs	Volume (µl)
Produit de PCR purifié	10
ITS1 (10µm) ou ITS4 (10µm) (champignons) FD1 (10µm) ou RS16 (10µm) (bactéries)	0.3
Kit de séquençage (BigDye Terminator v1.1)	1
H ₂ O ultra pure	8.7
Volume final	20

Tableau 12 : Programme d'amplification (séquençage)

Etapes	Température (°C)	Durée (Sec)
Pré-dénaturation	96	300
Dénaturation	96	10
Hybridation	50	5
Elongation	60	240
Elongation finale	60	300

3.5. Analyse informatique des séquences

Après séquençage, les séquences du gène de l'ARNr 16S (bactéries) ou 5.8S (champignons) obtenues ont été comparées aux séquences contenues dans la banque de données de différentes bactéries et champignons de références. Le degré de parenté est alors déterminé en fonction des homologues de séquences. Cette comparaison est réalisée par un logiciel BLASTn donné par le Centre National de l'Information pour la Biotechnologie (NCBI). (Basic Local Alignment Search Tool, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Dans l'objectif de chercher de nouveaux produits, écologiques et efficaces, de préservation du bois contre ces agents microbiens, les parties qui suivent sont consacrées à la préparation et l'étude phytochimique des extraits des deux plantes aromatiques et médicinales étudiées, et à l'évaluation de leurs activités antimicrobiennes et antiadhésives.

II. ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS DE *MYRTUS COMMUNIS* ET *THYMUS VULGARIS*

1. Matériel végétal

Au cours de cette étude, les parties aériennes (feuilles et tiges) de deux espèces de plantes aromatiques et médicinales marocaines : *Myrtus communis* L et *Thymus vulgaris* L ont été fraîchement récoltées au mois Mars des années 2011-2013 au sein de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques de Taounate. Les espèces ont été identifiées par le botaniste de l'agence Pr. ENNABILI Abdesalam et elles ont été désignées par un numéro d'herbier (ces numéros figurent dans la figure 15).



Figure 15 : Espèces de plantes étudiées.

2. Extraction des huiles essentielles

Les plantes récoltées et triées ont été soumises à l'extraction par hydro-distillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger 1928). Deux distillations de 300 g de matériel végétal frais (*M. communis* (feuilles), *T. vulgaris* (feuilles+tiges)) avec 1 litre d'eau porté à l'ébullition pendant 2 heures ont été réalisées dans un ballon de deux litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les huiles essentielles récupérées ont été stockées à 4°C à l'obscurité en présence du sulfate de sodium anhydre.

2.1. Détermination de l'humidité

La détermination du pourcentage d'humidité de plantes étudiées a été effectuée à partir de deux échantillons de 40 g séchés jusqu'au poids constant pendant 24 heures à l'étuve à 100°C. Après refroidissement, la moyenne des pertes en poids est calculée et le taux d'humidité est déterminé par la relation suivante :

$$H(\%) = \left[\frac{M_f - M_s}{M_f} \right] \times 100$$

Avec : M_f et M_s sont respectivement les masses de la plante à l'état frais et à l'état sec. Deux pesées par échantillon ont été effectuées (Bencheqroun *et al.* 2012).

2.2. Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche (Bencheqroun *et al.* 2012), il est exprimé en ml de distillat pour 100 g de la matière sèche par la relation suivante :

$$Rdt (\%) = \left[\frac{V}{M_s} \right] \times 100$$

Avec : V : Volume d'huile essentielle recueillie ;

M_s : Masse de la matière végétale sèche.

2.3. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

L'élaboration du profil chromatographique des huiles essentielles des plantes étudiées a été réalisée en se basant sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

Pour les analyses chromatographiques, les huiles essentielles ont été diluées dans le méthanol (1/20 v/v). Ces analyses ont été effectuées sur 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 70eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m x 0.25 mm) avec une épaisseur du film est de 0.25 μ m. La température de la colonne est programmée de 45 à 240°C à raison de 2°C/min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1.2 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est 1 μ l à une température de 250°C. Le mode d'injection est split (rapport de fuite : 1/20). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse (NIST 98).

L'identification des constituants est basée sur la comparaison de leurs spectres de masse (CG/SM) respectifs avec les spectres de la bibliothèque, et sur la comparaison de leurs indices de Kovats (IK) calculés avec ceux de la bibliographie (Adams 2007).

Ce système d'indice est basé sur une notion de rétention relative. Il compare la rétention d'un produit quelconque à celle d'un alcane linéaire. Ce système est applicable en chromatographie en phase gazeuse à tout composé obtenu à la sortie de la colonne. Par définition, il attribue un indice de 800 à l'alcane linéaire en C8 (n-octane), 1000 à l'alcane linéaire en C10 (n-décane), et ce, quel que soit la phase stationnaire, la longueur de la colonne, la température ou le débit.

Les indices de Kovàts (IK) sont déterminés en injectant un mélange d'alcane de C9 à C23 dans les mêmes conditions opératoires que celles des HEs. Ils sont calculés à partir de la

$$\text{relation suivante : } IK = \left[\left(\frac{TR_A - TR_n}{TR_{n+1} - TR_n} \right) + n \right] \times 100$$

Avec :

n : Nombre d'atomes de carbone de l'alcane qui sort juste avant le composé A ;

$(n+1)$: Nombre d'atome de carbone de l'alcane qui sort juste après le composé A ;

RT_A : Temps de rétention de composé A ;

RT_n : Temps de rétention de l'alcane à n atomes de carbone qui sort avant le composé A ;

RT_{n+1} : Temps de rétention de l'alcane à $(n+1)$ d'atomes de carbone qui sort juste après le composé A.

3. Préparation des extraits méthanoliques

Les plantes (*Myrtus communis* et *Thymus vulgaris* (feuilles+tiges)) triées, séchées à l'ombre dans un endroit bien aéré à température ambiante au laboratoire (25°C) et broyées ont été soumises à deux types d'extractions :

3.1. Extraction par macération

40 g de la matière végétale de chaque espèce étudiée ont été macérés dans 400 ml d'hexane (100 %) pendant 2h à température ambiante (25°C) et sous agitation magnétique pour éliminer la matière grasse et la chlorophylle. Ensuite, après la filtration du mélange, le solvant a été évaporé grâce à un évaporateur rotatif. Ainsi, les extraits hexaniques secs à odeur caractéristique de chaque plante ont été obtenus. Alors que le résidu de filtration est laissé sécher après avoir macéré avec 400 ml de méthanol (100%) pour obtenir des extraits méthanoliques. Deux répétitions ont été réalisées.

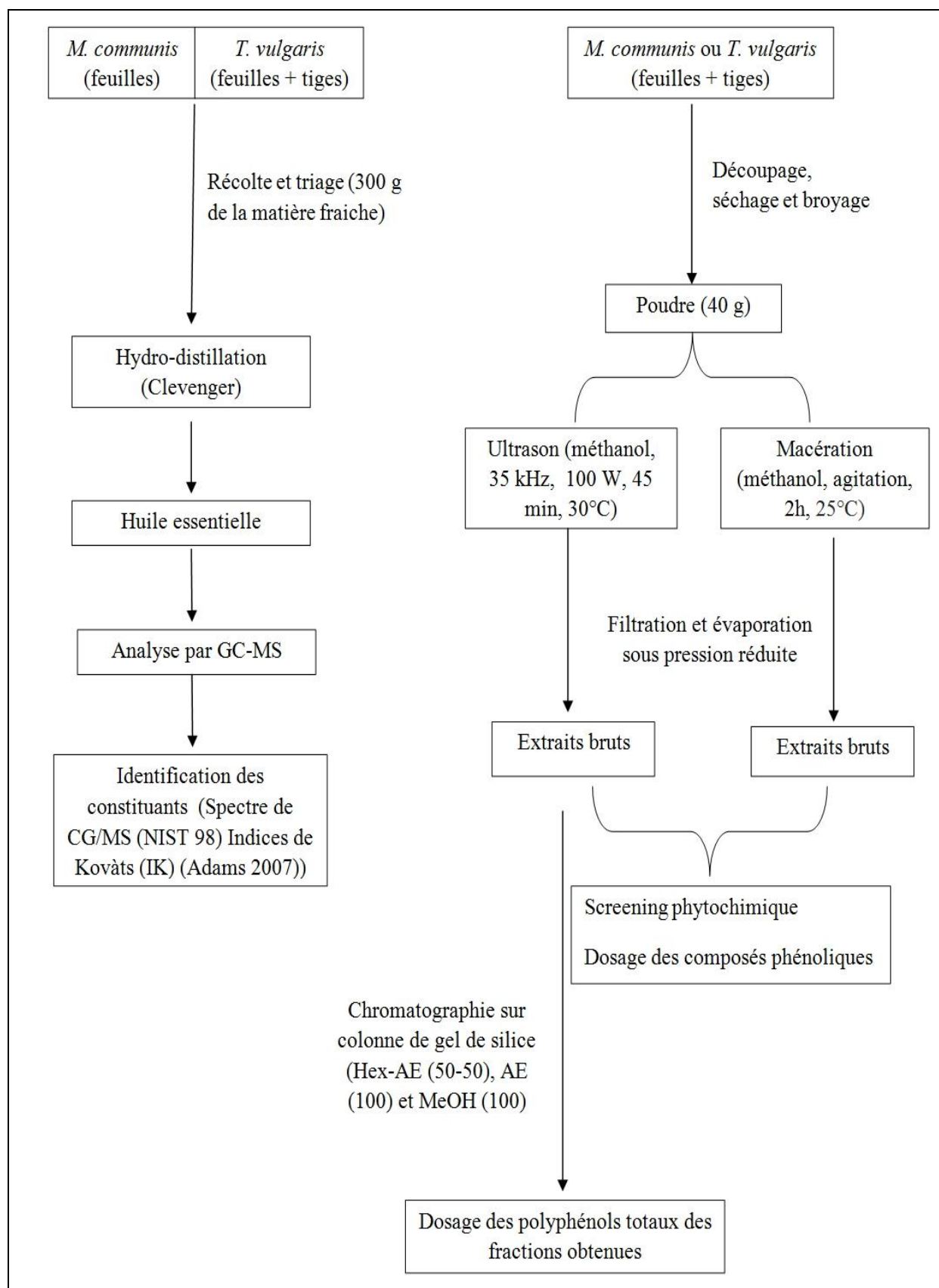


Figure 16 : Fiche descriptive des techniques d'extraction, de fractionnement et d'analyse phytochimique des extraits de *T. vulgaris* et *M. communis*.

3.2. Extraction par ultrason

40 g de la matière végétale de chaque espèce étudiée ont été déposés dans des erlenmeyers. Ensuite, 400 ml de méthanol (100 %) ont été ajoutés à chaque échantillon. Par la suite, le mélange a été soumis à l'action des ultrasons de fréquence 35 kHz et une puissance de 100 W pendant 45 min à 30°C dans un sonicateur. Ensuite, après filtration du mélange, le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif pour obtenir les extraits bruts à odeur caractéristique de chaque plante étudiée. Deux répétitions ont été réalisées.

3.3. Détermination du rendement en extraits bruts

Le poids de l'extrait secs est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein et le poids du ballon vide. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé selon la relation suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \left[\frac{M(\text{ext})}{M_s} \right] \times 100$$

Avec : M (ext) : Masse en g d'extrait obtenu ;

M_s : Masse de matière végétale sèche à partir de laquelle l'extraction a été réalisée.

4. Screening phytochimique des extraits

L'analyse qualitative des extraits méthanoliques préparés a été réalisée par divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les métabolites secondaires responsables de la plupart des activités biologiques de chaque espèce végétale. Ces essais ont été menés selon les techniques décrites par divers auteurs (Harborne 1985, Mogode 2005, N'Guessan *et al.* 2009).

- **Test de polyphénols**

La mise en évidence de polyphénols dans nos extraits a été faite avec la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). En effet, A 2 ml de chaque extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols (N'Guessan *et al.* 2009).

- **Test de flavonoïdes et de leucoanthocyanes**

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine appelé également «réaction de Shinoda». Le test consiste à ajouter à 1 ml de l'extrait, 1 ml d'alcool chlorhydrique (mélange de HCl+éthanol+ l'eau distillée à des parts égales) et environ 0.5g de magnésium métallique. Après 3 minutes de réaction, la présence de flavonoïdes est confirmée par la

coloration rouge (flavonols, flavononols), rose orangée (flavones), rouge violacée (flavonones) (Mogode 2005, N'Guessan *et al.* 2009).

➤ **Leucoanthocyanes**

La réaction à la cyanidine a été refaite sans l'ajout de copeaux de magnésium. Après le chauffage pendant 15 minutes au bain-marie. L'apparition d'une coloration rouge cerise ou violacée signe la présence de leucoanthocyanes (Harborne 1985, Mogode 2005).

• **Test de tanins**

Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'extrait, 1 ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl_3 à 1% a été ajouté. Le développement d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre indique la présence de tanins (Mogode 2005).

➤ **Tanins catéchiques et tanins galliques**

Dans un tube à essai, 5 ml de la solution de l'extrait ont été évaporés à sec. Par la suite, 15 ml du réactif de Stiasny ont été ajoutés au résidu, le mélange a été maintenu au bain-marie à 80°C pendant 30 min. L'observation d'un précipité rouge en gros flocons indique la présence des tanins catéchiques.

Pour les tanins galliques, la solution précédente est filtrée. Après la filtration, le filtrat a été saturé avec 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Ensuite, 1 ml d'une solution de FeCl_3 (1%) a été ajouté goutte à goutte. Le développement d'une teinte bleue noire indique la présence des tanins galliques non précipités (N'Guessan *et al.* 2009).

• **Test d'alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été caractérisés en utilisant des réactifs de Burchard (réactif iodo-ioduré) et de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium). Dans un tube à essai, 6 ml de l'extrait ont été évaporés à sec. Le résidu a été repris par 6 ml d'alcool à 60°. Par la suite, 2 gouttes du réactif de Dragendorff ont été ajoutées sur la solution alcoolique provoquerait l'apparition d'un précipité ou une coloration orangée. L'ajout de 2 gouttes du réactif de Burchard sur la solution alcoolique déclenche un précipité de coloration brun-rougeâtre ce qui indique une réaction positive (la présence des alcaloïdes) (N'Guessan *et al.* 2009).

- **Test de quinones**

Le résidu de 2 ml de chaque extrait évaporé a été repris dans 5 ml d'acide chlorhydrique. Le tout a été porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, le mélange est extrait par 20 ml de chloroforme. Par la suite, 0.5 ml d'ammoniaque (diluée 2 fois) a été ajouté à la solution chloroformique. La présence des substances quinoniques est révélée par le développement d'une coloration jaune, rouge ou violette (N'Guessan *et al.* 2009).

5. Dosage des composés phénoliques

5.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) (Hossain *et al.* 2013). Ainsi, 1 mg de chaque extrait a été dissous dans du méthanol (1ml). Des solutions de réactif de Folin-Ciocalteu 10% (v/v) et de Na_2CO_3 à 5% (p/v) ont été préparées. Par la suite, dans des tubes à essai 200 μl d'extrait ont été mélangés avec 1.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Ensuite, tous les tubes ont été incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant 5 min. Par la suite, 1.5 ml de Na_2CO_3 (5%) ont été ajoutés à la solution. Les tubes ont été agités et maintenus encore une fois à l'obscurité pendant 2h. L'absorbance est lue à 750 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible. Les blancs ont été préparés pour chaque échantillon en remplaçant le réactif de Folin par de l'eau distillée. L'acide gallique a été utilisé comme standard et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par g d'extrait en se référant à la courbe d'étalonnage (**Annexe 2**).

5.2. Dosage des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes totaux de différents extraits bruts a été mesurée par la méthode colorimétrique de chlorite d'aluminium (Hossain *et al.* 2013). Les solutions de nitrate de sodium à 5%, d'hydroxyde de sodium à 4% et de chlorure d'aluminium à 10% ont été préparées. Dans des tubes à essai, 1.25 ml de l'eau distillée et 0.75 μl de nitrate de sodium (5%) ont été ajoutés à 0.25 mg d'extrait. Les solutions ont été agitées et incubées à l'obscurité pendant 6 minutes. Par la suite, 150 μl de chlorure d'aluminium (10%) ont été ajoutés à chaque tube puis incubés à l'obscurité pendant 5 minutes. Finalement, 0.5 ml d'hydroxyde de sodium (5%) et 0.275 ml d'eau ont été ajoutés aux tubes. Le blanc est réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol (95%). L'absorbance est lue à une longueur d'onde fixe de 510 nm avec un spectrophotomètre UV-VIS. La quercétine a été utilisée comme

standard et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine par g d'extrait en se référant à la courbe d'étalonnage (**Annexe 2**).

6. Fractionnement des extraits bruts

Afin de séparer les extraits bruts méthanoliques obtenus par l'ultrason de deux plantes étudiées et pour localiser la fraction la plus importante et la plus active, le fractionnement a été mené en utilisant successivement trois solvants organiques : l'hexane, l'acétate d'éthyle et le méthanol pour en avoir trois fractions : la fraction hexane-acétate d'éthyle (FHA), fraction acétate d'éthyle (FA) et la fraction méthanolique (FM). De ce fait, la chromatographie sur colonne de gel de silice (Merck Silica gel 60 (0.063–0.200 mm), 5 → 60 cm) a été utilisée (Uddin *et al.* 2014). Pour cela, 4 g de l'extrait brut ont été premièrement dissous dans 40 ml de méthanol et mélangé avec la silice. Puis, le tout a été concentré par évaporation du solvant par le rotavapeur sous vide à une température inférieure 55°C. Ensuite, le gel de silice a été élué avec le mélange n-hexane-acétate d'éthyle (50:50) comme système de solvant, l'acétate d'éthyle (100) et du méthanol (100). Les fractions recueillies ont été évaporées et stockées à 4°C jusqu'à utilisation. Le dosage de la teneur en polyphénols totaux des fractions préparées a été effectué selon le protocole décrit précédemment.

III. ÉTUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DES EXTRAITS DE *MYRTUS COMMUNIS* ET *THYMUS VULGARIS*

Dans cette partie, l'effet antimicrobien des extraits, obtenus par macération et ultrason, et des huiles essentielles de *Myrtus communis* et de *Thymus vulgaris* a été évalué *in vitro* vis-à-vis des champignons (Zyani *et al.* 2009) et des bactéries isolées du bois altéré et qui sont responsables des pourritures du bois de cèdre : *Penicillium commune* (d'' et d10), *Thielavia hyalocarpa* (b3), *Bacillus safensis*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis*. Ces microorganismes ont été cultivés dans le milieu Luria-Bertan (LB) durant 24h à 37°C pour les bactéries et dans l'extrait de Malt pendant sept jours à 30°C pour les champignons.

1. Étude de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits méthanoliques

1.1. Méthode de diffusion sur disques

L'évaluation de l'activité antibactérienne de différents extraits préparés a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque (Gautam *et al.* 2007) (Figure 17). Les boîtes de Pétri contenant le milieu LB gélosé préalablement stérile ont étéensemencées par 100 µl de la suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0.5 de MacFarland (1×10^8

CFU/ml). Après un séchage de 10 minutes à température ambiante en conditions aseptiques, des disques de papier Whatman (6 mm de diamètre) ont été déposés à la surface de la gélose et imprégnés de 10 μ l de l'extrait testé (10 mg/ml). Les témoins contenaient des disques imbibés de diméthylsulfoxyde (DMSO à 2%). Les boîtes de Pétri ainsi préparées ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. L'absence de croissance microbienne autour des disques se traduit par un halo translucide ; le diamètre a été mesuré et exprimé en millimètre (mm). L'opération a été réalisée en trois répétitions.

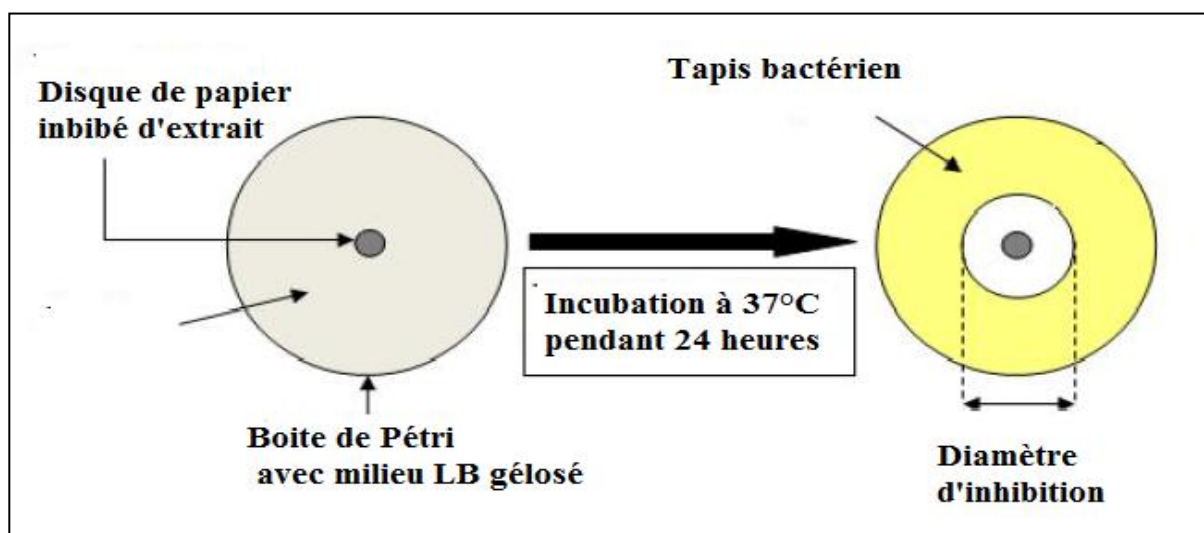


Figure 17 : Principe de la méthode de diffusion par disque.

1.2. Technique de diffusion sur des puits (agar-well diffusion method)

La technique de diffusion sur des puits a été utilisée pour évaluer l'activité antifongique des extraits méthanoliques des plantes étudiées (Magaldi *et al.* 2004) (Figure 18). Les boîtes de Pétri contenant le milieu Extrait de malt gélifié préalablement stérile ont étéensemencées par 100 μ l de la suspension fongique (1×10^6 spore/ml). Après un séchage de 10 minutes à température ambiante en conditions aseptiques, des puits de diamètre (6 mm) et de profondeur bien déterminée sur la gélose préalablement inoculée ont été creusés. Par la suite, ces puits ont été remplis par 50 μ l de l'extrait (10 mg/ml). Les témoins contenaient des disques imbibés de diméthylsulfoxyde (DMSO à 2%). Les boîtes ainsi préparées ont été incubées pendant 72h à 30°C. La diffusion se fait des puits vers la gélose, et l'activité antifongique est détectée par l'apparition de la zone d'inhibition de croissance exprimée en millimètre (mm).

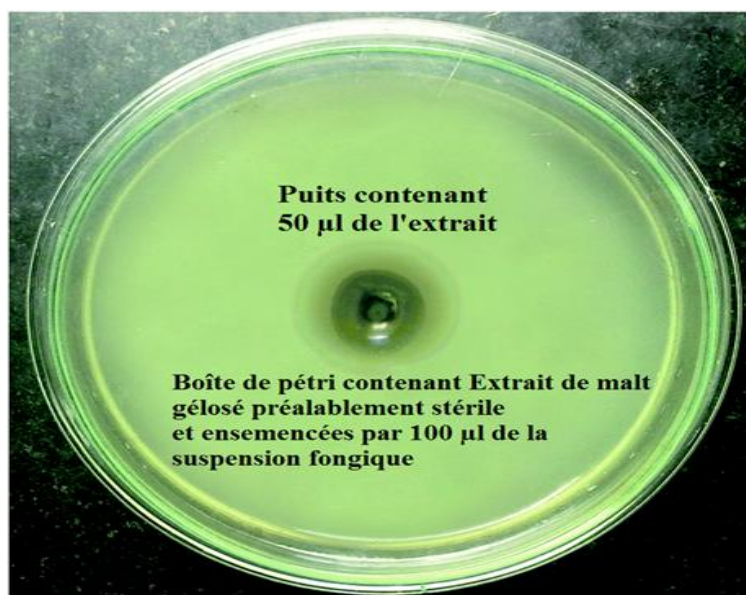


Figure 18 : Diffusion sur des puits (agar-well diffusion method), observation après l'incubation.

1.3. Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI), de la concentration minimale bactéricide (CMB) et de la concentration minimale fongicide (CMF)

La détermination de la CMI a été réalisée suivant la méthode de microdilution en milieu Mueller-Hinton (MH) liquide en utilisant les microplaques de 96 puits (Bouhdid *et al.* 2009) (Figure 19). La CMI correspond à la plus faible concentration de l'extrait qui produit une inhibition complète de la croissance appréciable à l'œil nu du germe testé après l'incubation. De ce fait, à partir d'une solution mère d'extrait (100 mg/ml solubilisé dans (DMSO à 2%) une dilution de 1/10 a été préparée dans le milieu de culture préalablement stérile. Par la suite, une série de dilutions de facteur de 2 ont été réalisées dans la ligne de la microplaque avec le milieu de culture liquide et le bouillon de suspension microbienne (2.10^6 UFC/ml et/ou 2.10^5 spore/ml). Les concentrations finales de l'extrait testé étant (10 à 0.0097 mg/ml), le puits 12 a été pris comme témoin contenant la suspension microbienne et le milieu de culture. Les microplaques ainsiensemencées, ont été recouvertes du parafilm et incubées à 37°C pendant 18 h (bactéries)/ ou 48h à 30°C (champignons).

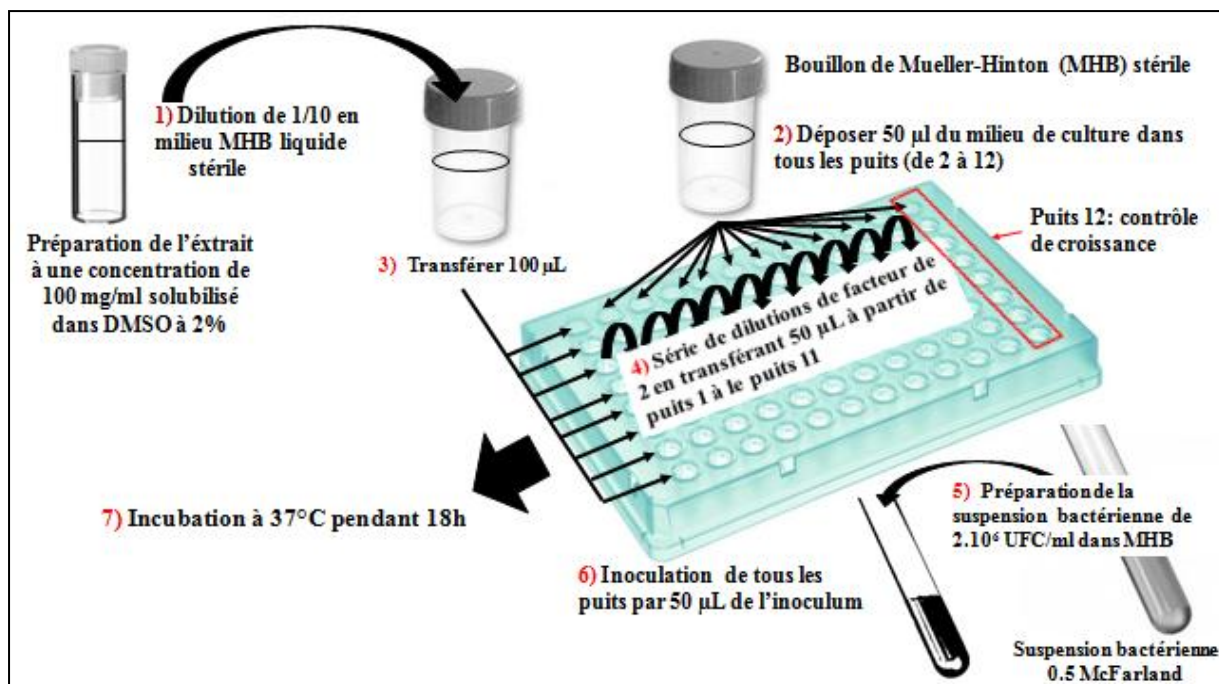


Figure 19 : Schéma de la technique de microdilution pour le test antibactérien.

Les CMI ont été déterminées dans le cas des bactéries par l'utilisation d'indicateur coloré la résazurine. En effet, la croissance bactérienne est détectée après une incubation à 37°C pendant 2 heures, par la réduction de la résazurine ayant une coloration bleue en résorufine ayant une coloration rose (Figure 20). Pour les champignons la détermination de ces concentrations a été réalisée à l'œil nu.

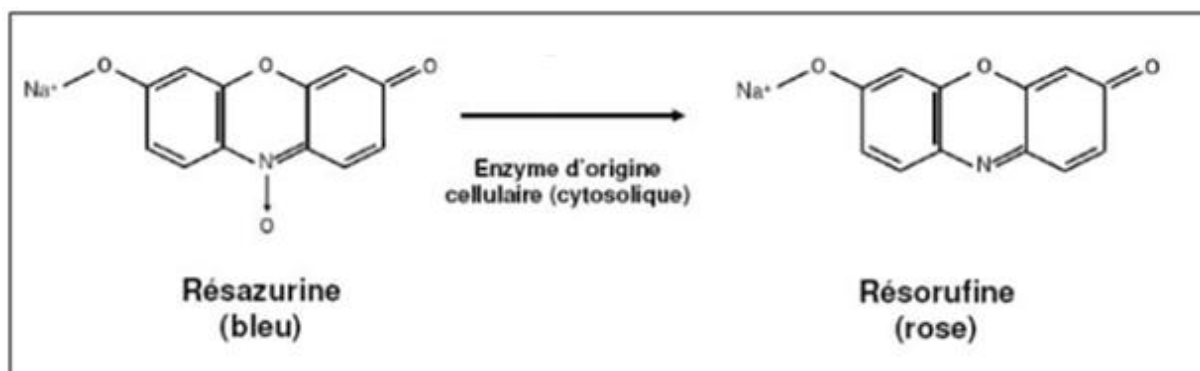


Figure 20 : Réduction de la résazurine en résorufine catalysée par des enzymes d'origine bactérienne.

A partir de la CMI, les puits n'ayant montré aucune croissance microbienne visible à l'œil nu ont été ré-isolés par spot (2 µl) sur les boîtes de Pétri contenant LB/ ou Extrait de Malt gélosé. Les boîtes ainsi préparées ont été incubées 24h à 37°C et/ou 48h à 30°C. La plus faible concentration pour laquelle on n'observe aucune colonie microbienne (destruction de 99.9%

de l'inoculum microbien) est la concentration minimale bactéricide (ou Fongicide) (CMB, CMF), de l'extrait sur la souche testée.

2. Effet antibactérien et antifongique des huiles essentielles

2.1. Méthode de diffusion sur disque

Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des plantes étudiées a été également évalué par la méthode des disques (Gautam *et al.* 2007). Les boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé de Mueller-Hinton (MH) ou Extrait de malt ont étéensemencées par étalement de 100 µl de la suspension bactérienne standardisée à 1.10^8 CFU/ml ou fongiques à 1.10^6 spore/ml. Après un séchage de 10 minutes à température ambiantes, des disques de papier Whatman (6 mm du diamètre) ont été déposés à la surface de la gélose et imprégnés de 10 µl de l'huile essentielle testée. Par la suite, les boites ont été pré-incubées dans des conditions réfrigérées pendant deux heures à 4°C afin de permettre la diffusion de l'agent inhibiteur, puis incubées pendant 24 heures à 37°C (bactéries) et pendant 72h à 30°C (champignons). La lecture a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions (exprimés en mm). Chaque diamètre a été représenté par la moyenne de trois mesures.

2.2. Détermination de la CMI, CMB et CMF

Les CMIs ont été déterminées en utilisant le test de microdilution en milieu liquide comme décrit précédemment par Bouhdid et al., (2009), avec de petites modifications. L'Agar à 0.15% (w/v) a été utilisé comme émulsifiant et la résazurine a été utilisée comme indicateur de la croissance microbienne. Un volume de 50 µl de bouillon de Mueller-Hinton (MHB) (ou Extrait de Malt) additionné d'agar bactériologique (0.15% p/v) a été déposé dans les puits (de 2 à 12) d'une microplaque de 96 puits. Les dilutions de l'huile essentielle testée ont été préparées avec le milieu MHB à 0.15% de l'agar bactériologique. Par la suite, 100 µl de ces dilutions ont été ensuite ajoutés au premier puits de chaque ligne de microplaque, une série de diluions a été réalisée en transférant en cascade, après avoir mélangé, 50 µl de la dilution du premier puits jusqu'au 11^{ème} puits. Le 12^{ème} puits a été considéré comme témoin. Ensuite, 50 µl de la suspension bactérienne (2.10^6 CFU/ml) ou fongique (2.10^5 spore/ml) ont été ajoutés à chaque puits (volume finale de tout les puits est 100 µl). Les concentrations finales de l'huile essentielle étaient entre 4 et 0.00390% (v/v) pour le myrte et entre 1 et 0.000975% (v/v) pour le thym. Après incubation à 37°C pendant 24h ou 48h à 30°C, 10 µl de la résazurine ont été ajoutés dans chaque puits pour évaluer la croissance des bactéries. Après une incubation à 37°C pendant 24h, la CMI a été déterminée comme étant la plus faible concentration d'huile essentielle qui a empêché un changement de couleur de la résazurine. La croissance

bactérienne a été détectée par la réduction résazurine (bleu) en résorufine de couleur rose. Expériences ont été réalisées en triple.

La concentration minimale bactéricide (MBC) ou la concentration minimale fongicide (CMF) correspond à la concentration la plus faible de l'huile essentielle qui donne des sous-cultures négatives après incubation à 37°C pendant 24 h/ ou à 30°C pendant 48h. Elle a été déterminée en repiquant 2 μ l de puits négatifs sur des boîtes gélosées de LB/ ou Extrait de Malt. Les expériences ont également été réalisées en triple.

IV. CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE DES SURFACES ET ÉTUDE DU POUVOIR ANTIADHÉSIF DES EXTRAITS DES PLANTES ÉTUDIÉES

1. Caractérisation physicochimique de la surface du bois de cèdre et des microorganismes par l'angle de contact

Toutes les expériences décrites dans cette partie de travail mettent en jeu les mesures des angles de contact des surfaces étudiées (bois de cèdre et microorganismes) par rapport aux liquides qui permettent de mettre en évidence leur caractère hydrophobe/hydrophile, d'évaluer leurs paramètres acide/base et de déterminer leurs énergies libre de surface. Pour cela, nous allons présenter un rappel très succinct des définitions liées aux phénomènes de mouillage, des modèles qui s'y appliquent, le principe de l'appareil utilisé pour effectuer ces mesures ainsi que la méthode de calcul utilisée pour déterminer les angles de contact.

1.1. Angle de contact

Quand une goutte de liquide est déposée sur une surface solide plane, l'angle (θ) entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé angle de contact. Cet angle rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité et dépend des interactions entre le liquide et le solide. Thomas Young 1805 propose une relation afin de rendre compte de ce phénomène. La forme de la goutte est déterminée par les tensions de surface et interfaciales des trois phases en présence (liquide/air/solide) (Figure 21).

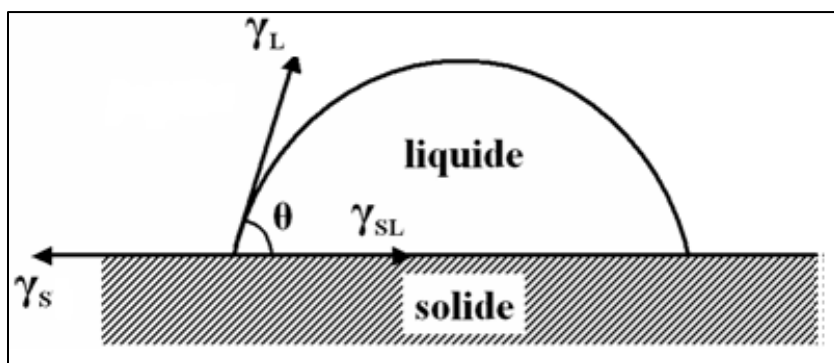


Figure 21 : Représentation du modèle de Young, mesure de l'angle de contact liquide/solide.

Pour le système solide/liquide/air, l'équation de Young s'écrit : $\cos \theta = \frac{\gamma_s - \gamma_{sl}}{\gamma_l}$

Où γ_s est la tension ou l'énergie libre interfacial solide/air, γ_{sl} la tension ou l'énergie libre interfacial solide/liquide et γ_l la tension ou l'énergie interfacial liquide/air.

La mesure de cet angle de contact par rapport à l'eau nous permet de déduire le caractère hydrophobe ($\theta_w > 65^\circ$, faible énergie de surface) ou hydrophile ($\theta_w < 65^\circ$, grande énergie de surface) de la surface (Figure 22).

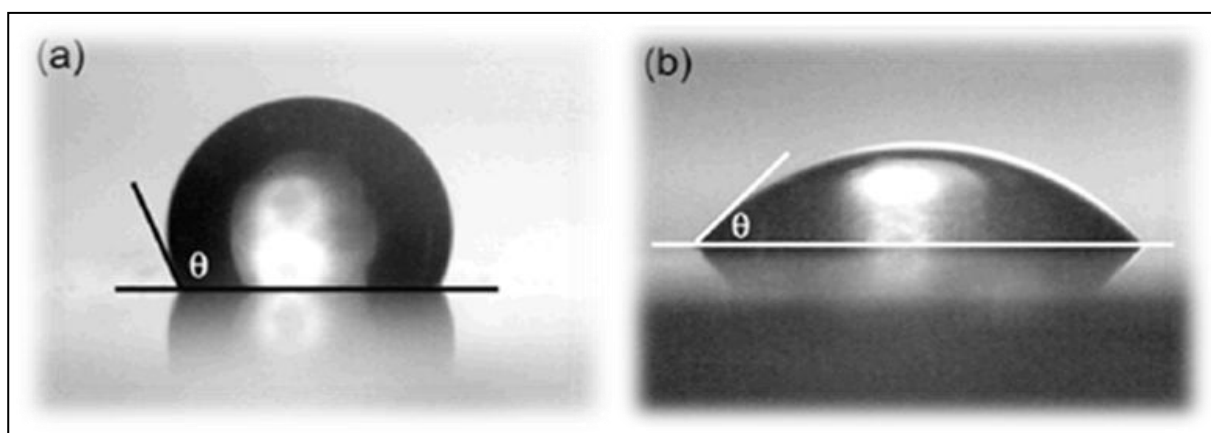


Figure 22 : Angle de contact θ formé par une goutte d'eau sur une surface hydrophobe (a) et hydrophile (b).

Par ailleurs, l'utilisation de plusieurs liquides permet d'accéder à l'énergie libre de la surface, tout en discriminant les composantes polaires ou apolaires de cette énergie en utilisant l'équation de Van Oss *et al.* (1988).

$$\gamma_L (\cos \theta + 1) = 2(\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW})^{1/2} + 2(\gamma_S^+ \gamma_L^-)^{1/2} + 2(\gamma_S^- \gamma_L^+)^{1/2}$$

Où :

γ_S^{LW} : Composantes de Lifshitz- Van der Waals de la surface.

γ_L^{LW} : Composantes de Lifshitz- Van der Waals du liquide.

γ_S^+ : Composante(s) accepteur d'électrons de la surface.

γ_L^+ : Composante(s) accepteur d'électrons du liquide.

γ_S^- : Composante(s) donneur d'électrons de la surface.

γ_L^- : Composante(s) donneur d'électrons du liquide.

Les angles de contact ont été mesurées à l'aide d'un goniomètre (GBX, France), en utilisant trois liquides purs de caractéristiques énergétiques connues (Tableau 13).

Tableau 13 : Caractéristiques énergétiques (en mJ/m^2) des liquides utilisés pour la mesure des angles de contact (Van Oss 1994)

Liquide	Formule	$\gamma^{LW}(\text{mJ/m}^2)$	$\gamma^+(\text{mJ/m}^2)$	$\gamma^-(\text{mJ/m}^2)$
Eau	H_2O	21.6	25.4	25.4
Formamide	CH_3NO	38.7	2.3	39.4
Diiodométhane	CH_2I_2	50.5	0.7	0.0

La composante acide-base de Lewis (γ_S^{AB}) a été déterminée par l'équation suivante :

$$\gamma_S^{AB} = 2(\gamma_S^- \gamma_S^+)^{1/2}$$

Selon l'approche de Van Oss *et al.* (1988), il est possible de déterminer le degré d'hydrophobicité d'un matériau donné (i) vis-à-vis de l'eau (w). Il est exprimé en unité internationale (mJ/m^2) comme l'énergie libre d'interaction (ΔG_{iwi}) entre les deux entités de cette surface lorsqu'elle est immergée dans l'eau (w). Si l'interaction entre les deux entités est plus forte que l'interaction de chaque entité à l'eau, la surface est considérée comme hydrophobe ($\Delta G_{iwi} < 0$) ; à l'inverse, pour un matériau hydrophile, $\Delta G_{iwi} > 0$.

Le ΔG_{iwi} est calculé au moyen des composantes de tension de surface des entités interagissant, selon l'équation suivante :

$$\Delta G_{iwi} = -2\gamma_{iw} = -2 \left[((\gamma_i^{LW})^{1/2} - (\gamma_w^{LW})^{1/2})^2 + 2 \left((\gamma_i^+ \gamma_i^-)^{1/2} + (\gamma_w^+ \gamma_w^-)^{1/2} - (\gamma_i^+ \gamma_w^-)^{1/2} - (\gamma_w^+ \gamma_i^-)^{1/2} \right) \right].$$

Avec (γ^{LW}) composante de Lifshitz-Van der waals de la surface (i), (γ^+) composante d'accepteur d'électrons et (γ^-) composante de donneur d'électrons.

1.2. Caractérisation physicochimique du bois de cèdre

1.2.1. Préparation du substrat

Le substrat utilisé dans cette étude est le bois de cèdre (*Cedrus atlantica*). Il a été découpé en morceaux ayant les dimensions suivantes : longueur = 3 cm, épaisseur = 1 cm et largeur = 1 cm. Par la suite, les échantillons ont été soumis à un polissage mécanique afin de fixer leur rugosité à l'aide du papier abrasif de différentes granulométrie (600, 1200, 1500 g/cm). La rugosité des morceaux de bois a été déterminée et fixée à une gamme de rugosité de 0.8-1 μ m par un rugosimètre «Mitutoya SJ 301» du Laboratoire Génie Mécanique de L'Ecole Supérieure de Technologie de Fès. Cette méthode de mesures consiste à effectuer un «palpage» mécanique le long d'un ou plusieurs profils en déplaçant un stylet. Les irrégularités de la surface analysée provoquent les déplacements verticaux du stylet, ces derniers permettent de remonter l'état géométrique de la surface réelle (Leban et Triboulot 1994). Parmi les nombreux critères de la rugosité de surface, l'écart moyen arithmétique (R_a) est probablement le paramètre le plus utilisé lors des études de la topographie des surfaces. Ce paramètre correspond à la moyenne arithmétique, calculée sur la longueur de base, de la valeur absolue de l'ordonnée Z entre chaque point du profil de l'axe OX (Figure 23).

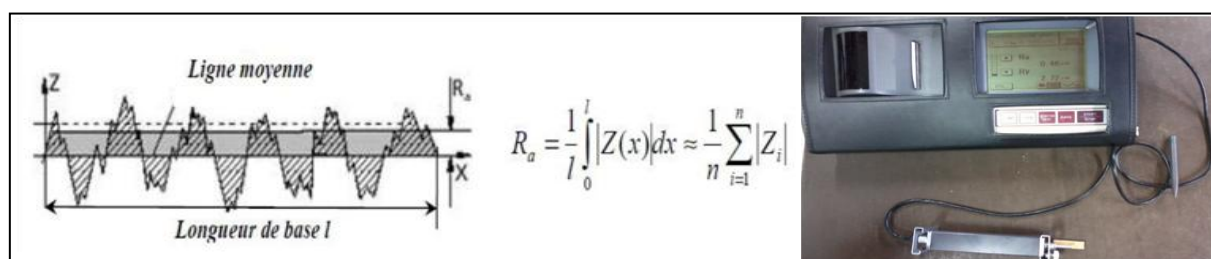


Figure 23 : Mesure de la rugosité avec le rugosimètre « Mitutoya SJ 301 ».

1.2.2. Mesure de l'angle de contact

Les morceaux de bois de cèdre de rugosité définie -comme indiqué précédemment- ont été lavés à 6 reprises avec de l'eau distillée, séchés et stérilisés par autoclavage pendant 20 minutes à 120°C. Les mesures de l'angle de contact ont été réalisées à l'aide d'un goniomètre (GBX, France) qui permet de déposer à l'aide d'une seringue une goutte de 2 μ l de chaque liquide pur (eau distillée, formamide, et le diiodomethane) sur la surface à analyser (Figure

24). Les angles de contact ont été mesurés après 15 secondes de dépôt de la goutte (à l'équilibre) et à une température ambiante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Chaque valeur de l'angle de contact rapportée est une moyenne de trois mesures effectuées.



Figure 24 : Appareil d'angle de contact GBX France.

1.3. Caractérisation physicochimique des microorganismes

1.3.1. Conditions de culture et préparation des souches bactériennes et fongiques

Les souches bactériennes : *Bacillus safensis*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis* ont été mises en culture dans le bouillon LB, puis incubées à 37°C sous agitation (125 rpm) pendant 24 heures. Ensuite, les cellules bactériennes ont été récoltées par centrifugation à 8400g pendant 15 min et lavées par une solution de KNO_3 (0.1 M) par une succession de deux centrifugations, puis remises en suspension dans du KNO_3 (0.1 M). Les souches fongiques : *Penicillium commune* (d'' et d10) et *Thielavia hyalocarpa* ont été préalablement isolées à partir d'une vieille maison construite il ya 450 ans et située à Derb lamté dans la Médina de Fès, (Maroc) (Zyani et al., 2009). Elles ont été mises en culture dans le milieu gélosé d'extrait de Malt, puis laissées incuber 7 jours à 30°C . Pendant cette période d'incubation, le mycélium s'est développé sur la surface gélosée, en produisant des spores. Les spores ont été décrochées de la surface de la culture solide par raclage avec un racleur stérile baignant en solution de KNO_3 (0.1M), transférées dans un tube stérile et lavées par une solution de KNO_3 (0.1 M) au

cours d'une succession de deux centrifugations à 10.000g pendant 15 min à 4°C puis remises en suspension dans du KNO₃ (0.1 M).

1.3.2. Mesures de l'angle de contact

La caractérisation physicochimique des microorganismes étudiés a été réalisée selon le protocole décrit par Hamadi et Latrache (2008). En effet, un volume de 10 ml d'une suspension microbienne (10⁸ UFC/ml) a été filtré, à travers une membrane filtrante stérile (0.45µm), au moyen de la pression négative jusqu'à l'obtention d'une couche mince de cellules bactériennes ou de spores. Ensuite, les filtres humides ont été placés soigneusement sur un support de verre et laissés sécher à température ambiante (25 ± 2°C) pendant 30 min. Neuf mesures d'angle de contact ont été réalisées sur chaque échantillon avec des gouttes de 2 µl des trois solvants : eau distillée, formamide et diiodométhane.

Chaque valeur de l'angle de contact rapportée est une moyenne de trois mesures indépendantes effectuées.

2. Effet des extraits bruts obtenus par macération et ultrason sur la physicochimie du bois de cèdre

L'effet des extraits de *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis* obtenus par les deux méthodes d'extraction (macération et sonication) sur les propriétés physicochimiques de la surface du bois de cèdre a été testé comme suit: un volume de 10 µl de l'extrait à une concentration de 20 mg/ml (solubilisé dans du diméthylsulfoxyde (DMSO à 2%) a été appliquée par dépôt pendant 20 min à température ambiante (25 ± 2°C) à la surface des morceaux du bois de cèdre préalablement préparés. Par la suite, après un bon séchage et adsorption de produit testé, les échantillons ont été prélevés directement pour effectuer les mesures de l'angle de contact comme déjà décrit précédemment. Les expériences ont été réalisées en double.

3. Étude de l'activité antiadhésive des extraits de *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis* vis-à-vis des spores de *Penicillium commune*

3.1. Préparation de la suspension fongique

Après incubation de la souche étudiée, cultivée sur la gélose d'extrait de Malt, à 30°C pendant 7 jours, les spores ont été décrochées de la surface de la culture solide par raclage avec un racleur stérile baignant en solution de KNO₃ (0.1 M) stérile et ont été lavées par une succession de deux centrifugations à 10.000 g pendant 15 min à 4°C. Ensuite, les cellules ont

été remises en suspension dans du KNO_3 et leur densité a été évaluée avec un hématimètre (Malassez) et un microscope optique (grossissement x 40) afin d'obtenir une densité de 10^8 spores /ml).

3.2. Test de l'adhésion

Les essais de l'adhésion, en conditions statiques, ont été réalisés par sédimentation à 25°C selon le protocole décrit par EL Abed et al. (2010). En effet, après traitement de la surface du bois avec un volume de $10\ \mu\text{l}$ de l'extrait, les échantillons du bois ont été immergés et mis en contact pendant 10h avec la suspension de spores préalablement préparée. Ensuite, les spores non adhérentes ont été éliminées en rinçant manuellement et délicatement les substrats trois fois avec de l'eau distillée stérile (Figure 25). Le contrôle négatif a été traité par $10\ \mu\text{l}$ de DMSO (2%).

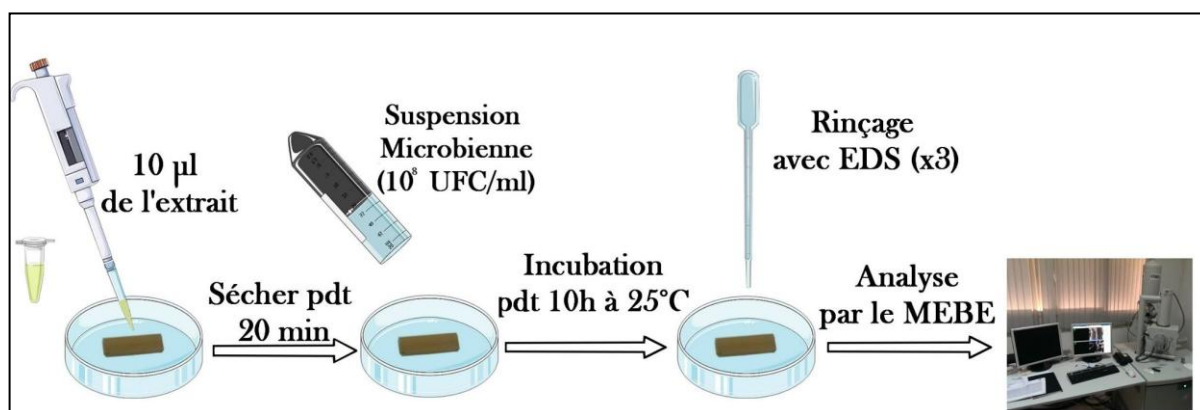


Figure 25 : Protocole de l'adhésion des micro-organismes au bois.

3.3. Analyse et observation du comportement adhésif des spores fongiques par le Microscope Électronique à Balayage Environnemental

Les observations ont été réalisées à la cité de l'innovation de Fès. L'acquisition des images a été réalisée à l'aide d'un microscope électronique à balayage environnemental (MEBE) de type Quanta 200 (FEI company) (Figure 26). Ce microscope est équipé d'un canon à électrons à filament de tungstène. Les analyses effectuées ont été menées sous une pression partielle de vapeur d'eau.

Le MEBE ou SEM (Scanning Electron Microscopy) est une technique de microscopie basée sur le principe des interactions électrons-matière. Un faisceau d'électrons balaie la surface

d'un échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certaines particules. Différents détecteurs permettent d'analyser ces particules et de reconstruire une image de la surface.

Une sonde électronique fine (faisceau d'électrons) est projetée sur l'échantillon à analyser. L'interaction entre la sonde électronique et l'échantillon génère des électrons secondaires, de basse énergie qui sont accélérés vers un détecteur d'électrons secondaires qui amplifie le signal. À chaque point d'impact correspond un signal électrique. L'intensité de ce signal électrique dépend à la fois de la nature de l'échantillon au point d'impact qui détermine le rendement en électrons secondaires et de la topographie de l'échantillon au point considéré. Il est ainsi possible, en balayant le faisceau sur l'échantillon, d'obtenir une cartographie de la zone balayée.



Figure 26 : Microscope électronique à balayage environnemental.

3.4. Quantification de l'adhésion des spores fongiques au bois de cèdre par le logiciel Matlab®

Les images microscopiques obtenues par le MEBE ont été ensuite analysées par un programme développé sur logiciel Matlab® afin de quantifier l'adhésion des spores fongiques étudiées (Hamadi *et al.* 2005). Le traitement par ce programme commence par convertir les images données par le MEBE en images de 256 niveaux de gris afin d'établir un histogramme représentant le nombre de pixels en fonction de leur intensité. En effet, dans un tel traitement, l'intensité 255 correspond à un pixel blanc, tandis que l'intensité 0 est attribuée aux pixels noirs. Ainsi, les zones occupées par les microorganismes sont facilement identifiées par rapport à l'image de départ. Le pourcentage d'adhésion ou d'occupation est déterminé en

effectuant le rapport des pixels correspondant aux micro-organismes sur le nombre total de pixels.

4. Effet des fractions des extraits obtenus par ultrason sur l'énergie de surface du bois de cèdre : Étude de l'adhésion théorique et expérimentale des microorganismes dégradant le bois

4.1. Effet de différentes fractions préparées sur la physicochimie du bois de cèdre

L'étude de l'impact des fractions (fraction hexane-acétate d'éthyle (FHA), fraction acétate d'éthyle (FA) et fraction méthanolique (FM)) des extraits de *T. vulgaris* et *M. communis*, obtenus par ultrason, sur la physicochimie du bois a été effectué comme suit : Après avoir traité la surface du bois par 10 µl de la fraction testée (10 mg/ml), et après un temps de contact de 20 minutes à (25±2°C), la caractérisation physicochimique du bois a été réalisée avec la méthode de l'angle de contact.

4.2. Calcul de l'énergie libre d'interaction totale entre les microorganismes et le bois après traitement par les différentes fractions testées : Théorie de DLVO étendue

La prédiction théorique de l'adhésion des microorganismes après traitement au bois de cèdre a été effectuée en appliquant la théorie de DLVO (Derjaguin et Landau 1941, Verwey et Overbeek 1948) développée par Van Oss *et al.* (1986). Ainsi, le calcul de l'énergie libre d'interaction totale ΔG_{MSL}^{Total} a été fait selon les équations ci-dessous une fois les mesures de l'angle de contact ont été effectuées.

L'énergie libre totale de l'interaction ΔG_{MSL}^{Total} entre cellule microbienne (M) et substrat (S) dans liquide (L) est calculée comme la somme composante de Van der Waals ΔG_{MSL}^{LW} , de la composante acide-base ΔG_{MSL}^{AB} et la composante électrostatique ΔG_{MSL}^{EL} tel que proposé par (Van Oss 1994).

$$\Delta G_{MSL}^{Total} = \Delta G_{MSL}^{LW} + \Delta G_{MSL}^{AB} + \Delta G_{MSL}^{EL}$$

$$\text{Avec } \Delta G_{MSL}^{LW} = \left((\Delta_M^{LW})^{1/2} \times (\Delta_S^{LW})^{1/2} \right)^2 - \left((\Delta_M^{LW})^{1/2} - (\Delta_L^{LW})^{1/2} \right)^2 - \left((\Delta_S^{LW})^{1/2} - (\Delta_L^{LW})^{1/2} \right)^2$$

$$\text{Et } \Delta G_{MSL}^{AB} = 2 \left[(\gamma_L^+)^{1/2} \left((\gamma_M^-)^{1/2} + (\gamma_S^-)^{1/2} - (\gamma_L^-)^{1/2} \right) + (\gamma_L^-)^{1/2} \times \left((\gamma_M^+)^{1/2} + (\gamma_S^+)^{1/2} - (\gamma_L^+)^{1/2} \right) - (\gamma_L^- \gamma_S^+)^{1/2} - (\gamma_L^+ \gamma_S^-)^{1/2} \right]$$

ΔG^{EL} est négligeable car les tests de l'adhésion ont été réalisés à une force ionique élevée (Gallardo-Moreno *et al.* 2004).

L'adhésion des spores fongiques est favorable si Δ_{MSL}^{Total} est négatif, alors qu'il est défavorable si Δ_{MSL}^{Total} est positif

4.3. Étude de l'adhésion expérimentale des microorganismes au bois de cèdre après traitement par les différentes fractions testées

Trois souches fongiques : *Penicillium commune* (d''), *Penicillium commune* (d10), *Thielavia hyalocarpa* et trois souches bactériennes : *Bacillus subtilis*, *Bacillus safensis* et *Bacillus licheniformis* ont été étudiées.

Après avoir traité les morceaux de bois, de la même manière que la caractérisation physicochimique, les échantillons ont été mis en contact durant 10h avec la suspension fongique (10^8 spores/ml). Ensuite, les spores non adhérentes ont été éliminées par rinçage des substrats trois fois avec de l'eau distillée stérile. Par la suite, les échantillons ont été analysés par le MEBE afin d'observer le pouvoir antiadhésif des fractions testées. Les images obtenues ont été ensuite traitées par le logiciel Matlab[®]. Pour les bactéries, seule l'adhésion théorique a été faite.

5. Étude de l'effet des huiles essentielles de plantes étudiées sur la physicochimie du bois de cèdre

L'effet de la vapeur des huiles essentielles sur les propriétés physicochimiques du bois a été étudié comme suit : les échantillons de bois ont été préparés comme décrit précédemment (préparation du substrat). Après avoir mis les morceaux de bois dans les boîtes de Pétri de 50 mm de diamètre, les disques de papier Whatman (30 mm de diamètre) ont été fixés sur les couvercles et imbibés avec 30 μ l de l'huile essentielle testée. Par la suite, les boîtes de Pétri ont été fermées immédiatement et scellées avec du parafilm.

L'évaluation de la modification de l'hydrophobicité et des caractères acido-basiques de la surface du bois de cèdre a été réalisée en fonction du temps (0h, 4h, 6h, 8h, 10h et 24h) à 25°C par la méthode de l'angle de contact.

6. Étude de l'activité antiadhésive de la vapeur des huiles essentielles testées vis-à-vis des microorganismes dégradant le cèdre

L'étude a été réalisée sur deux bactéries : *Bacillus subtilis* et *Bacillus safensis*, cultivées sur le milieu liquide (LB) et incubées à 37°C sous agitation pendant 24h, et un champignon *Penicillium commune* (d''), cultivé sur la gélose d'Extrait de Malt pendant 7 jours à 30°C.

Après avoir traité les morceaux du bois avec la vapeur des huiles essentielles pendant 4h et 24h, les échantillons ont été mis en contact avec la suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml ou fongique (10^8 spores /ml) durant 10h. Ensuite, les substrats ont été rincés trois fois avec de l'eau distillée stérile afin d'éliminer les cellules non adhérentes. Par la suite, les échantillons ont été analysés par le Microscope Electronique à Balayage. Enfin, les images obtenues ont été traitées par le logiciel Matlab[®].

V. ANALYSE STATISTIQUE

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS avec un niveau de signification de 5%. Toutes les données ont été soumises à l'analyse de la variance mono-factorielle (ANOVA), suivie par les tests post hoc de Tukey ou Dunnett. Les étoiles (*) exposantes sur les valeurs représentent les significations statistiques obtenues :

(*) : $0.01 \leq P < 0.05$; (**) : $0.001 \leq P < 0.01$; (***) : $P < 0.001$.

PARTIE 3 :

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. MICROORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LA BIODÉTÉRIORATION DU BOIS DE CÈDRE

1. Flore microbienne attachée à la surface du bois

La prospection des échantillons de bois a été réalisée au niveau d'un portail d'une ancienne maison et d'une fenêtre d'une maison en ruine à l'ancienne Médina de Fès. Ces deux constructions architecturales souffrent d'une réelle altération visible à l'œil nu. En effet, des signes de détérioration et de destruction par des champignons de pourritures ont été observés. De même, le bois prospecté a révélé une faible résistance mécanique qui pourrait être due à l'attaque bactérienne ou fongique de ses constituants.

Les prélèvements des échantillons de bois à partir de ces différents sites ont abouti à l'isolement d'un nombre total de 24 isolats microbiens. On a pu distinguer par l'analyse macroscopique (morphologie, taille, couleur...) dix isolats fongiques et quatorze isolats bactériens. Le détail des résultats est illustré dans le tableau 14.

Tableau 14 : Isolats obtenus à partir du bois des deux sites étudiés

Sites	Isolats	Milieu d'isolement
Porte (site 1)	MB1, MB2, MB3, MB4, MB5, MB6, MB7, MB8, MB9	LB
	MC1, MC2, MC3, MC4, MC5, MC6	EM
Fenêtre (site 2)	MB10, MB11, MB12, MB13, MB14	LB
	MC7, MC8, MC9, MC10	EM

D'après les résultats d'isolement et de purification obtenus, on remarque que la flore microbienne varie en fonction du site de prélèvement, et que la population bactérienne est relativement abondante par rapport à celle des champignons pour les deux sites étudiés. On note aussi que le bois de ces deux sites historiques est colonisé par une diversité de microorganismes pouvant jouer un rôle dans la détérioration et la biodégradation de notre patrimoine architectural, historique et universel constitué principalement du bois.

Les travaux d'El Bergadi (2014a) ont également montré une importante diversité microbienne obtenue à partir des échantillons de bois endommagés et prélevés à partir de différents points des médersas Sehrij et Sbaiyine de l'ancienne médina de Fès. En effet, sur un totale de

cinquante isolats microbiens isolés, 46 isolats bactériens ont été distingués contre seulement quatre isolats fongiques. Cette biodiversité microbienne attachée à la surface du bois a été aussi rapportée dans les travaux d'El Abed (2012c) qui ont montré contrairement l'abondance de la population fongique par rapport à la population bactérienne pour les 3 sites étudiés. D'autres auteurs ont étudié l'écologie microbienne à la surface de différents matériaux et ils ont rapporté que le bois et le papier étaient les matériaux où la présence des champignons et des bactéries était la plus marquée (Hyvärinen *et al.* 2002, Zyani *et al.* 2009, Aviat *et al.* 2016).

2. Souches microbiennes identifiées

L'identification de la population bactérienne et fongique, causant la biodégradation des monuments de notre patrimoine universel, par l'usage d'une méthode permettant leur identification précoce et rapide est indispensable. De ce fait, la PCR (Polymérase Chain Réaction) a été réalisée sur les 14 isolats isolés et purifiés. Les amorces RS16 et FD1 ont été utilisées pour les bactéries et IST1 et ITS4 pour les champignons dans le but d'amplifier la zone codant pour l'ARN16S et l'ARN5.8 respectivement.

La réaction d'amplification était positive seulement pour cinq champignons et quatorze bactéries isolées du bois. Sept isolats ont été séquencés et identifiés dont quatre bactéries et trois champignons.

Pour identifier un genre microbien par une approche moléculaire, il faut que les homologies des ARNr soient supérieures ou égales à 97%. Une homologie supérieure ou égale à 99% traduit l'appartenance à une même espèce. Alors qu'un score d'homologie inférieur à 97% ne permet pas l'identification. Les résultats sont sous forme d'un pourcentage d'identité entre les séquences d'ADN ribosomal obtenues et les séquences disponibles dans la banque de données Blast. Seuls les résultats avec un pourcentage d'identité supérieur ou égale à 99% sont retenus. Les résultats définitifs de l'identification des isolats obtenus à partir du bois sont présentés dans le tableau 15.

La comparaison des séquences obtenues des isolats, isolés à partir du bois endommagé, avec celles disponibles dans la base de données Blast a donné des alignements illustrés dans **l'annexe 2**. Ces derniers ont permis de définir quatre isolats bactériens MB1, MB2, MB4 et MB5 appartenant au genre *Bacillus* et trois isolats fongiques MC2 et MC4 qui sont de genre *Penicillium* et MC5 qui est de genre *Aspergillus*.

Les deux isolats bactériens MB1 et MB2 ont montré respectivement des similarités de 100% avec les espèces *Bacillus safensis* et *Bacillus subtilis*. Alors que les isolats MB4 et MB5, ils ont été identifiés comme *Bacillus licheniformis* et *Bacillus cereus* avec un pourcentage d'homologie de 99%. Concernant les isolats fongiques MC2 et MC4, les résultats d'alignement ont montré qu'ils appartiennent à *Penicillium* sp. et *Penicillium citrinum* avec des pourcentages de similitude de 99%. Tandis que l'isolat MC5 a été identifié comme *Aspergillus niger* avec une homologie de 99%.

Tableau 15 : Résultats d'identification moléculaire de la communauté bactérienne et fongique isolées du bois de cèdre

Isolats	Groupes	Identification	N° accession	Homologie (%)
MB1	Bactéries	<i>Bacillus safensis</i>	KT027733.1	100
MB2		<i>Bacillus subtilis</i>	JN700079.1	100
MB4		<i>Bacillus licheniformis</i>	KT074465.1	99
MB5		<i>Bacillus cereus</i>	JN626957.1	99
MC2	Champignons	<i>Penicillium</i> sp.	JQ965036.1	99
MC4		<i>Penicillium citrinum</i>	KT898759.1	99
MC5		<i>Aspergillus niger</i>	FJ87862702.1	99

Dans la littérature scientifique, plusieurs auteurs ont rapporté le pouvoir des microorganismes de s'attacher et de coloniser divers matériaux, utilisés dans la construction du patrimoine culturel, tels que le marbre, la pierre, la céramique et le gypse (Cataldo *et al.* 2005, Ljaljevic-Grbic et Vukojevic 2009, Scheerer *et al.* 2009, Sterflinger 2010). Ils ont également signalé que ces agents biologiques ont même la capacité de provoquer l'altération de ces matériaux malgré leurs natures inorganiques, leur pauvreté en nutriment et leurs résistances mécaniques. Ceux-ci montrent la facilité de colonisation et d'altération biologique d'un monument constitué principalement du bois. Dans ce contexte, plusieurs travaux ont été focalisés sur l'étude de l'écologie microbienne et la diversité des microorganismes attachés au bois de différents sites historique du monde. Mattsson *et al.* (2010) et Ortiz *et al.* (2014b) ont montré la prédominance de la population fongique au niveau des échantillons de bois de différentes étapes de détérioration, prélevés à partir des sites historiques situés au Svalbard (Norvège) et à Humberstone et de Santa Laura au Chili.

En outre, Blanchette (2000) et Daniel (2003) ont montré la diversité des champignons et des bactéries colonisant le bois archéologique de différents environnements, comme ils ont illustré l'impact de ces microorganismes sur les constituants structuraux du bois. De même, Mesquita *et al.* (2009) ont étudié la diversité fongique des anciens documents construits en bois et archivés à l'Université de Coimbra au Portugal. Lavin *et al.* (2016) et Rojas *et al.* (2012) ont également identifié plusieurs champignons impliqués dans la biodégradation des objets en bois et qui ont été isolés à partir des documents de sept bâtiments historiques à La Havane et au niveau du patrimoine documentaire (livres, photographies et cartes) de dix-neuvième siècle en Argentine respectivement. Au Maroc, l'étude de la dégradation microbienne du bois patrimonial a été récemment rapportée dans les travaux de recherches menés dans notre laboratoire (Zyani *et al.* 2009, El Abed *et al.* 2011, El Bergadi *et al.* 2011). Dans leurs études, portées sur la biodétérioration du bois de cèdre des monuments historiques (ancienne maison, médresa Sehrij et médresa Sbaaiyine) situés à l'ancienne Médina de Fès, ils ont démontré et confirmé l'attaque et la biodégradation de ce matériau précieux par une grande diversité microbienne appartenant notamment aux genres *Penicillium* et *Bacillus*. En effet, différentes espèces de champignons dont *Penicillium crustosum*, *Penicillium granulatum*, *Penicillium commune*, *Penicillium chrysogenum* et *Penicillium expansum* ont été isolées par Zyani *et al.* (2009). En plus, El Abed *et al.* (2011) ont isolé plusieurs espèces bactériennes telles que *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Klebsiella* sp. et *Acinetobacter lwoffii* et deux autres champignons *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum*. Par contre, *Penicillium italicum*, *Penicillium griseoroseum* et *Pseudomonas trivialis* ont été isolés dans les travaux d'El Bergadi *et al.* (2011). Ainsi, les résultats de notre étude corroborent en grande partie les résultats obtenus par ces derniers auteurs et confirment ainsi la dégradation microbienne de notre patrimoine architectural.

La présence en intensité des espèces microbiennes du genre *Penicillium* à la surface du bois a été rapportée et bien connue dans la littérature comme colonisateurs et destructeurs du bois des monuments historiques ou des constructions (Blanchette *et al.* 2004, Abdelkader et Hamed 2013, Aviat *et al.* 2016). En plus, même si l'espèce du genre *Bacillus* (*B. subtilis*) a été rarement évoquée dans les études de dégradation bactérienne du bois, elle a été isolée à partir du bois de cèdre dégradé (El Abed *et al.* 2011, El Bergadi 2014a). Cependant, aucun travail n'a rapporté la colonisation et/ou la détérioration du bois par *Bacillus Licheniformis* et *Bacillus safensis*. Ainsi, ces résultats vont également contribuer à l'enrichissement de la banque microbienne formée au sein du laboratoire de Biotechnologie microbienne.

Une vue d'ensemble sur la flore microbienne attachée à la surface du bois de cèdre et le récapitulatif de l'ensemble des microorganismes isolés à partir des différents sites historiques de l'ancienne Médina de Fès et identifiés au sein du laboratoire de Biotechnologie microbienne sont illustrés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Récapitulatif des microorganismes isolés à partir du bois de cèdre des monuments historiques et identifiés au sein du laboratoire de Biotechnologie Microbienne

Sites historiques	Population fongique	Population bactérienne	Auteurs
Ancienne maison (450 ans) située à Derb Lamti, Seffah Fès	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium granulatum</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus atrophaeus</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	((Zyani <i>et al.</i> 2009)
Médessa Sbaïyine Médessa Sahrij Ancienne maison (450 ans Fès)	<i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium granulatum</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i>	<i>Bacillus</i> sp. <i>Bacillus subtilis</i> <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> <i>Klebsiella</i> sp. <i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Oceanobacillus picturae</i>	(EL Abed <i>et al.</i> 2010, El Abed <i>et al.</i> 2011)
Médessa Sbaïyine Médessa Sahrij Quoran (1827) Livre d'interprétation coranique (19 ^{ème} siècle)	<i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium italicum</i> <i>Penicillium griseoroseum</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Lewia infectoria</i> <i>Aspergillus melleus</i> <i>Hypocrea lixii</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Mucor racemosus</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Schizophyllum commune</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas trivialis</i>	(El Bergadi <i>et al.</i> 2011, El Bergadi 2014b)
Ancienne maison (450 ans) située à Derb Lamti, Seffah Fès	-----	<i>Streptomyces</i> sp. <i>Nocardia</i> sp.	(Maataoui <i>et al.</i> 2014) (Mortabit <i>et al.</i> 2015)

L'isolement et l'identification des microorganismes colonisateurs du bois patrimonial n'est qu'un début d'une multitude d'étapes nécessaires pour la préservation de notre patrimoine architectural. En effet, il devra être suivie par la recherche de nouveaux produits plus

respectueux de l'environnement et capables de lutter contre les agents destructeurs de ce matériau précieux tout en substituant des produits chimiques nuisibles à l'environnement et la santé humaine. De ce fait, dans les parties qui suivent, nous nous sommes intéressés à préparer et caractériser les différents extraits de deux plantes aromatiques et médicinales et par la suite, à évaluer leurs activités antimicrobiennes et antiadhésives tout en valorisant nos ressources naturelles et en préservant le bois contre les agents biologiques (microorganismes) causant sa biodégradation.

II. CARACTÉRISTIQUES PHYTOCHIMIQUES DES EXTRAITS DE *THYMUS VULGARIS* ET *MYRTUS COMMUNIS*

1. Taux d'humidité et rendements en huiles essentielles

Les taux d'humidité et les rendements en huile essentielle de *Thymus vulgaris* et de *Myrtus communis* cultivés au sein de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques de Taounate sont présentés dans les figures 27 et 28.

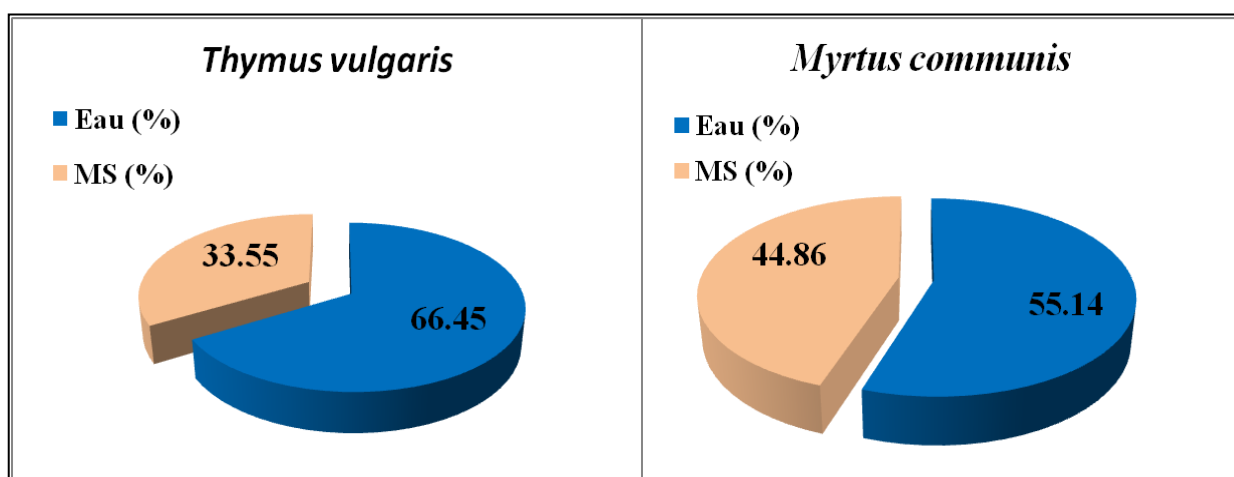


Figure 27 : Humidité des deux plantes étudiées.

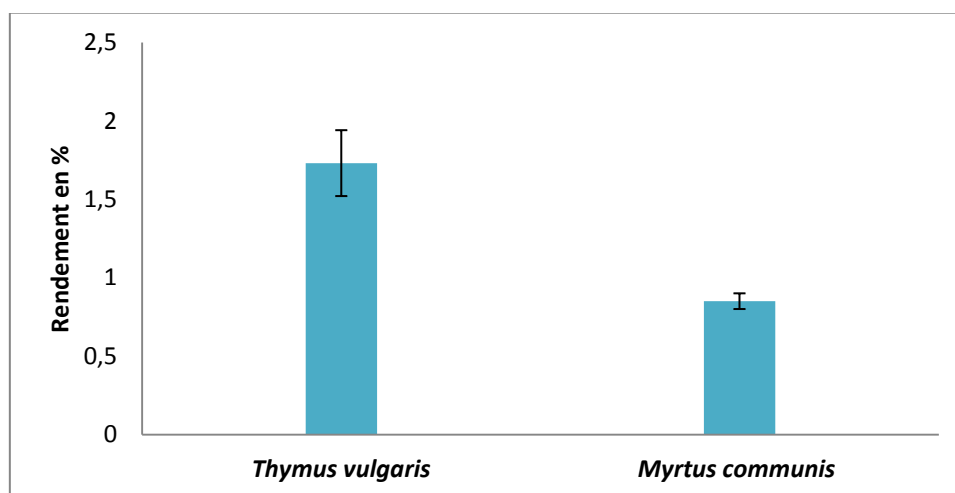


Figure 28 : Rendements en huile essentielle obtenue par hydrodistillation.

Les analyses de nos échantillons ont révélé un taux d'humidité important compris entre 55.14 et 66.45%. Ce qui signifie qu'approximativement la moitié ou plus du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau (Figure 27).

Les rendements en huile essentielle ont été calculés en fonction de la matière sèche de la plante (Figure 28). Le *T. vulgrais* a fourni un rendement en huile essentielle de $1.73 \pm 0.21\%$. Cette valeur est relativement proche de celle donnée par *T. vulgaris* de la région du centre du Maroc (1%) (El-Akhal *et al.* 2015), de l'Est du Maroc (Taforalt) (Imelouane *et al.* 2009), de la région de Chlef en Algérie (Cheurfa *et al.* 2013) et à des rendements rapportés par d'autres auteurs (Al-Bayati 2008, El Ajjouri *et al.* 2010). En revanche, il est élevé par rapport au *T. vulgaris* de la province de Tafilelt (0.65%) (Ismaili *et al.* 2014) et à celui d'Ifrane (0.5%) située en Moyen Atlas au centre du Maroc (El Ouali Lalami *et al.* 2013).

Concernant le *M. communis*, il a donné un rendement moyen en huile essentielle de l'ordre de $0.85 \pm 0.05\%$. Le même rendement a été donné par *M. communis* de la région de Bni Idder au Maroc (0.85%) (Ismaili *et al.* 2001). On outre, il est relativement élevé par rapport à celui de la région de Dardara (0.3 à 0.4%) dans la province de Chefchaouen, Nord-Est du Maroc (Satrani *et al.* 2006), de celui obtenu par *M. communis* de la région de Témara au Maroc qui est de l'ordre de 0.43% (Ismaili *et al.* 2001) et celui d'autres pays (Aidi Wannes *et al.* 2007, 2010, Brada *et al.* 2012). Cependant, la comparaison reste toujours difficile. En effet, la différence en terme du rendement en HE des plantes pourrait être attribuée à plusieurs facteurs comme la saison de récolte, la plante étudiée, le matériel employé pour l'extraction et l'origine de la plante (Ismaili *et al.* 2001).

2. Composition chimique des huiles essentielles

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ainsi que l'utilisation des bibliothèques Adams, NIST nous ont permis d'identifier 47 composés représentant 97.89% pour *Myrtus communis*, contre 29 composés (88.6%) pour *Thymus vulgaris* (Tableau 17).

Les résultats obtenus ont également montré que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivé au sein d'ANPAM est constituée majoritairement par le thymol (40.0%), le γ -terpinène (12.0%), le p-cymène (12.0%), le linalool (4.4%) et le carvacrol (3.1%), accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles tels que l'éther de thymolméthyl (2.1%), le myrcène (2.1%), l' α -thujène (2.1%), l' α -terpinène (2.0%) et l' α -pinène (1.7%). Cette composition chimique est largement similaire à celle trouvée chez la même espèce cultivée dans la région du centre du Maroc qui a donné une teneur élevée en thymol de l'ordre

41.4% suivie par γ -terpinène et p-cymène avec des valeurs de 22.25 et 15.59% respectivement (El-Akhal *et al.* 2015). Des résultats similaires ont été également trouvés pour le *T. vulgaris* cultivé dans la région d'Ifrane (El Ouali Lalami *et al.* 2013). D'autres échantillons de *T. vulgaris* de différents pays (Iran, Brazil et Espagne) ont donné une HE de composition chimique généralement similaire à celle de *T. vulgrais* d'ANPAM (Golmakani et Rezaei 2008, Porte et Godoy 2008, Rota *et al.* 2008). Cependant, des variations quantitatives au niveau du pourcentage de constituants ont été remarquées.

Concernant l'huile essentielle de *Myrtus communis*, les résultats d'analyses ont montré que le 1.8-cinéole (27.65%), l' α -pinène (24.26%), le limonène (14.32%) et l'acétate de myrtényle (13.05%) sont les composés majoritaires de cette essence représentant environ les trois quarts de la composition chimique totale. D'autres composés ont été détectés aussi avec un taux moyennement faible comme l' α -terpinéol (3.34%), le linalool (2.21%) et l'acétate de géranyle (1.79%). Des caractéristiques chimiques identiques ont été signalées pour les huiles de Myrte de la région de Dardara (province de Chefchaouen, nord-est du Maroc) (Satrani *et al.* 2006, Viuda-martos *et al.* 2011). Cette composition chimique est également similaire à celle obtenue à partir de différents échantillons de *M. communis* de la provenance de Témara au Maroc, dont les composés majoritaires sont l' α -pinène (42.6%) et le 1.8-cinéole (39.7%). Toutefois, des variations quantitatives au niveau des teneurs de ces composés ont été notées (Ismaili *et al.* 2001). Le profil chromatographique de l'huile essentielle de *M. communis* d'ANPAM a été trouvé relativement identique à celui du Myrte de la Tunisie et de l'Algérie (Brada *et al.* 2012, Ghnaya *et al.* 2013).

Les variations rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles, du point de vue qualitatif et quantitatif, peuvent être dues à plusieurs facteurs d'ordre naturel (génétique, localisation, maturité, conditions climatiques et édaphiques) ou technologiques (mode de culture ou d'extraction) (Karousou *et al.* 2005, Jordán *et al.* 2006, Aleksic et Knezevic 2014, Fadil *et al.* 2014).

Tableau 17 : Composition chimique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*

Composés*	IK	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>
		Pourcentage (%)**	Pourcentage (%)**
α -thujène	931	2.1	0.12
α-pinène	939	1.7	24.26
Camphène	953	-	0.04
Sabinène	976	-	0.23
β -pinène	980	0.7	0.22
octan-1-en-3-ol	988	0.1	-
Myrcène	991	2.1	0.21
α -phellandrène	1005	0.5	0.21
α-terpinène	1018	2.0	0.06
p- cymène	1026	12.0	-
Limonène	1031	1.0	14.32
1.8- cinéole	1033	0.8	27.65
(E) β -ocimène	1040	-	0.12
γ-terpinène	1062	12.0	1.98
α -terpinolène	1088	0.8	0.09
Linalool	1098	4.4	2.21
Fenchol	1112	-	0.04
allo- ocimène	1129	-	0.06
terpin-1-ol	1134	-	0.04
trans-pinocarveol	1139	-	0.14
verbenol	1140	-	0.21
terpinén -4-ol	1177	0.1	0.25
α-terpinéol	1189	-	3.34
myrtenol	1194	-	1.58
cis-carveol	1217	-	0.10
Néral	1228	-	0.12
Ether de thymol méthyl	1235	2.1	-
Géraniol	1255	-	0.08
Acétate de linalyle	1257	-	0.49
géraniol	1270	-	0.12
Acétate de verbényle	1282	-	1.05
Thymol	1290	40.0	-
Acétate de bornyle	1295	-	0.22
Carvacrol	1298	3.1	-
Acétate de myrtényle	1335	-	13.05
Acétate de carvyle	1337	-	0.25
δ élémène	1339	-	0.12
4-acétate de terpinyle	1340	-	0.18
Acétate de terpinyle	1352	0.4	0.57

α -copaene	1376	-	0.29
Acétate de géranyle	1383	-	1.79
β -elemene	1391	0.1	-
méthyl eugénol	1401	0.4	0.75
β -caryophyllène	1418	0.8	0.25
β -copaene	1430	0.1	-
γ patchoulène	1441	-	0.12
α -humulène	1454	0.3	0.35
germacrène D	1480	0.3	-
Isobutyrate de citronnellyle	1482	-	0.08
viriflorene	1493	-	0.07
β -bisabolène	1509	0.3	-
Isobutyrate de géranyle	1514	-	0.09
δ -cadinène	1520	0.1	-
Butyrate d'isobornyl-2-méthyl	1522	-	0.03
n-butyrate de citronnellyle	1529	-	0.08
n-butyrate de géranyle	1562	-	0.07
Acétate d'isoeugénole	1563	-	0.07
Oxide de caryophyllène	1581	0.3	0.12
Total		88.6	97.89

IK : Indice de Kovàts, * : Constituants identifiés par CPG-MS, ** : Pourcentages des composés fournis par CPG-MS.

3. Rendements en extraits bruts

Pour l'obtention des différents extraits méthanoliques de la partie aérienne (feuilles + tiges) des deux plantes étudiées, les extractions par macération et ultrason ont été réalisées. Les rendements en extraits bruts obtenus sont illustrés dans le tableau 18.

Les rendements enregistrés avec les extraits bruts obtenus par macération varient entre un minimum de $7.11 \pm 2.06\%$, épuisé de la poudre végétale de *T. vulgaris* et un maximum de $16.33 \pm 2.00\%$, fourni par *M. communis*. Pour l'extraction par ultrason, le *M. communis* a donné un rendement de $14.33 \pm 1.11\%$, contre seulement un taux de $6.51 \pm 1.28\%$ pour le *T. vulgaris*.

Tableau 18 : Rendements en extraits méthanoliques de *T. vulgaris* et *M. communis*

Plantes	Quantité utilisée (g)	Méthode d'extraction	Extraits	Solvant	Rendement (%)
<i>Thymus vulgaris</i>	40	Macération	T _m	Méthanol	7.11±2.06 ^a
		Ultrason	T ₃₅		6.51±1.28 ^a
<i>Myrtus communis</i>	40	Macération	M _m	Méthanol	16.33±2.00 ^b
		Ultrason	M ₃₅		14.33±1.11 ^b

Les moyennes de la même colonne qui ne partagent pas la même lettre sont significativement différentes

Le rendement de l'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, l'organe utilisé, les conditions d'extraction, le contenu de chaque espèce en métabolites et de la nature du solvant utilisé.

D'après les résultats illustrés dans le tableau 18 et du point de vue rentabilité en poids, une différence non significative ($P > 0.05$) entre les rendements obtenus par macération et ceux récupérés par sonication a été notée. Cela peut s'expliquer par le fait que la durée et la température auxquelles a été menée l'extraction (45 min, 30°C) ne sont pas des conditions optimales. En effet, une étude a montré que l'extraction par ultrason à 75°C et durant 180 min a donné un rendement élevé (7.5%) par rapport à la macération (2.5%) (Jacques *et al.* 2007). En outre, plusieurs études ont montré que l'extraction par sonication reste la méthode la plus économique du point de vue matériel, temps et quantité de solvant utilisée en comparaison avec d'autres techniques d'extraction classiques (Jacques *et al.* 2007, Romanik *et al.* 2007).

4. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits bruts, préparés à partir de la partie aérienne broyée de *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*, en utilisant des solvants de polarités différentes et des réactifs spécifiques pour la révélation. Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence ou l'absence d'une famille de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux des plantes étudiées. La détection de ces familles chimiques a été basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ou par changement de couleur spécifique.

Les résultats de ce criblage phytochimique illustrés dans le tableau 19, montrent la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins et des quinones dans tous les extraits étudiés. Cependant, on note l'absence des alcaloïdes. En revanche des leucoanthocyanes ont été révélés uniquement dans l'extrait de *M. communis* (M₃₅) obtenu par ultrason. Les résultats indiquent également que les tanins galliques ont été identifiés uniquement dans les extraits de *M. communis* alors que les tanins catéchiques ont été révélés dans tous les extraits sauf celui de *T. vulgaris* (T_m) obtenu par macération.

La mise en évidence des polyphénols dans nos extraits préparés a été confirmée par le développement d'une coloration verte ou bleu-noirâtre (Tableau 19). Concernant les flavonoïdes (flavonols, flavanonols et flavones), leur existence dans les extraits de Myrte a été confirmée par l'apparition d'une couleur rouge intense en contact avec du magnésium et dans les extraits de Thym par le développement d'une coloration rose orangée (flavones). Pour les tanins, leur présence a été confirmée par un test positif avec la solution de chlorure ferrique donnant lieu à une coloration bleu noirâtre pour les extraits de Myrte et une coloration verdâtre pour ceux du Thym. Le test positif des quinones révélé par l'apparition d'une coloration jaune (*M. communis* (M₃₅ et M_m)) ou rouge (*T. vulgaris* (T₃₅ et T_m)), justifie leur présence dans chacun des extraits de plantes étudiées.

Les travaux antérieurs de Hayder *et al.* (2004) sur les tests phytochimiques de *Myrtus communis* L. ont montré la présence des flavonoïdes et des tanins. Ces résultats sont en accord avec nos travaux, et qui corroborent aussi ceux rapportés dans d'autres études ayant montré la présence des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans les extraits méthanoliques de *Thymus vulgaris* (Yakhlef *et al.* 2011, Hossain *et al.* 2013).

Tableau 19 : Analyse phytochimique de différents extraits de *M. communis* et *T. vulgaris*

Groupes chimiques	Extraits	Mise en évidence des groupes chimiques recherchés
Polyphénols	T ₃₅	+ (Coloration verte)
	T _m	+ (Coloration verte)
	M ₃₅	+ (Coloration bleu-noirâtre)
	M _m	+ (Coloration bleu-noirâtre)
Flavonoïdes	T ₃₅	+ (Coloration rose orangée (flavones))
	T _m	+ (Coloration rose orangée (flavones))
	M ₃₅	+ (Coloration rouge (flavonols, flavanonols))
	M _m	+ (Coloration rose orangée (flavones))
Leucoanthocyanes	T ₃₅	-
	T _m	-
	M ₃₅	+ (Coloration rouge cerise)
	M _m	-
Tanins	T ₃₅	+ (Coloration verdâtre)
	T _m	+ (Coloration verdâtre)
	M ₃₅	+ (Coloration bleu noirâtre)
	M _m	+ (Coloration bleu noirâtre)
Tanins catéchiques	T ₃₅	+ (Précipité rouge)
	T _m	-
	M ₃₅	+ (Précipité rouge)
	M _m	+ (Précipité rouge)
Tanins galliques	T ₃₅	-
	T _m	-
	M ₃₅	+ (Coloration bleu noirâtre)
	M _m	+ (Coloration bleu noirâtre)
Alcaloïdes	T ₃₅	-
	T _m	-
	M ₃₅	-
	M _m	-
Quinones	T ₃₅	+ (Coloration rouge)
	T _m	+ (Coloration rouge)
	M ₃₅	+ (Coloration jaune)
	M _m	+ (Coloration jaune)

T₃₅ et T_m : extraits de *T. vulgaris* par ultrason et macération respectivement, M₃₅ et M_m : extraits de *M. communis* par ultrason et macération respectivement, + : réaction positive, - : réaction négative.

5. Teneurs des extraits en composés phénoliques

Afin de déterminer les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes, l'étude quantitative des extraits au moyen des dosages spectrophotométriques a été réalisée.

La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des activités biologiques leur sont attribuées.

Les teneurs phénoliques totaux et flavonoïdes des extraits bruts ont été déterminées en exploitant les courbes d'étalonnage établies ($r^2=0.9$) avec l'acide gallique comme référence pour les polyphénols et avec la quercitine pour les flavonoïdes (**Annexe 3**). Les données sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique ou quercitine par gramme d'extrait (mg EAG/g) (mg EQ/g).

D'après les résultats illustrés dans le tableau 20, on remarque que les teneurs en polyphénols enregistrées, allant de 161.4 ± 9.89 mg EAG/g pour l'extrait M_m de *M. communis* obtenu par macération à 201.4 ± 9.80 mg EAG/g pour l'extrait M_{35} de la même plante obtenu par ultrason. Des concentrations de 171.4 ± 6.84 à 191.4 ± 8.48 mg EAG/g sont obtenues pour les extraits de *T. vulgaris* (T_m et T_{35} respectivement). Concernant les flavonoïdes, les extraits bruts de *T. vulgaris* ont donné des teneurs comprises entre 60.82 ± 2.26 et 94.94 ± 0.67 mg EQ/g. Ces teneurs sont relativement similaires à celles enregistrées par les extraits de *M. communis*.

Tableau 20 : Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits de *T. vulgaris* et *M. communis*

Plantes	Extraits	Polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	Flavonoïdes (mg EQ /g d'extrait)
<i>Thymys vulgaris</i>	T_{35}	191.4 ± 1.97^a	94.94 ± 0.67^a
	T_m	171.4 ± 4.80^b	60.82 ± 2.26^b
<i>Myrtus communis</i>	M_{35}	201.4 ± 0.84^a	88.00 ± 3.82^c
	M_m	161.4 ± 3.67^b	64.07 ± 1.49^b

Les moyennes de la même colonne qui ne partagent pas la même lettre sont significativement différentes.

Aidi Wannes *et al.* (2010) ont montré que la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits méthanoliques de *Myrtus communis* var. *italica* (feuilles+tiges) sont de l'ordre de 44.78 mg EAG/g et 8.17 mg EQ/g. Un autre travail a été réalisé par Touaibia et Zohra (2014) qui ont trouvé une valeur de 48.7 mg GAE/g et de 12.52 mg EQ/g dans les extraits de Myrte d'Algérie. Ces teneurs se montrent inférieurs à nos résultats, par contre la teneur en

polyphénols totaux de la partie aérienne du myrte de la Grèce est nettement supérieure à celle de notre plante, elle est de l'ordre de 373 mg GAE/g (Gardeli *et al.* 2008). D'autres auteurs ont rapporté les teneurs importantes en composés phénoliques pour les extraits de *T. vulgaris*. Par exemple, Yakhlef *et al.* (2011) ont montré que l'extrait méthanolique de Thym d'Algérie a enregistré une concentration de 165.45 ± 32.14 mg EAG/g en polyphénols. En outre, le thym d'Oman a fourni des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de l'ordre de 49.43 mg EAG/g et 1.71 mg EQ/g respectivement, et qui sont faibles par rapport à celles données par le Thym d'ANPAM.

L'analyse de nos résultats a également montré que les extraits méthanoliques obtenus par ultrason ont fourni des concentrations en composés phénoliques (polyphénols ($P < 0.01$) et flavonoïdes ($P < 0.001$) relativement élevées par rapport à celles données par macération. Cela peut être expliqué par le fait que l'ultrason permet d'extraire le maximum de contenu cellulaire par le phénomène de cavitation acoustique qui facilite et accélère la pénétration du solvant dans la matière végétale (Besombes 2008). Ainsi, les polyphénols contenus dans les tissus superficiels de la cellule, au niveau du suc vacuolaire et ceux qui sont localisés dans les chloroplastes et les membranes ont été extraits. Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui ont porté sur l'extraction des composés phénoliques et qui ont montré que l'ultrason permet d'extraire des composés phénoliques en quantités élevées par rapport à d'autres méthodes classiques d'extraction tels que la macération et le Soxhlet (Kuli *et al.* 2006, Liazid *et al.* 2010, Da Porto *et al.* 2013). Cependant, il est important de souligner que l'utilisation de plantes d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les études.

6. Rendements et teneurs en polyphénols totaux des fractions préparées

Le fractionnement des extraits méthanoliques de *M. communis* et *T. vulgaris*, obtenus par ultrason, a été réalisé. Les solvants organiques permettant une première sélection, séparation des métabolites et une réduction de la charge en matière organique végétale contenu dans les extraits bruts ont été utilisés. Chaque fraction va comprendre un ou plusieurs types de molécules, qui sont soit solubles dans l'hexane-acétate d'éthyle, on parle de la fraction hexane-acétate d'éthyle (FHA), soit solubles dans l'acétate d'éthyle pour donner la fraction (FA). Les métabolites, qui ne sont entraînés ni par l'un ni par l'autre restent solubles dans le méthanol et constituent la fraction méthanolique (FM).

Quantitativement et d'après les résultats du tableau 21, une grande partie des constituants des extraits bruts restent dans la fraction méthanolique. Ces teneurs sont déterminées en mg/g extrait brut (EB) et fluctuent entre 375.35mg/g (*M. communis*) et 574.87 mg/g (*T. vulgaris*).

En revanche, les rendements des fractions hexane-acétate d'éthyle varient de 74.2 mg/g (*M. communis*) à 197.2 mg/g (*T. vulgaris*), alors que ceux enregistrés avec l'acétate d'éthyle vont de 7.10 ; un minimum enregistré avec l'extrait de *M. communis*, jusqu'à 38.67 mg/g; un maximum enregistré avec celui de *T. vulgaris*.

Tableau 21 : Rendements des fractions préparées (en mg/g) et leurs teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g)

Plantes	Extraits	Fractions	Rendements (mg/gEB)	Polyphénols totaux (mg EAG/g de fraction)
<i>M. communis</i>	M ₃₅	FM	375.35	170.23 ± 20.62 ^b
		FA	7.10	24.46 ± 2.43 ^a
		FHA	74.2	33.12 ± 4.67 ^a
<i>T. vulgaris</i>	T ₃₅	FM	574.87	170.62 ± 11.77 ^b
		FA	38.67	142.96 ± 8.97 ^b
		FHA	197.2	135.46 ± 21.00 ^b

Les moyennes de la même colonne qui ne partagent pas la même lettre sont significativement différentes.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les fractions préparées ont montré clairement que pour les fractions de *M. communis*, la teneur la plus élevée en composés phénoliques a été donnée par la fraction récupérée par le méthanol avec une valeur de 170.23 ± 20.62 mg EAG/g ($P < 0.05$). Alors que la fraction acétate d'éthyle a enregistré une concentration relativement semblable à celle fournie par la fraction hexane-acétate d'éthyle ($P > 0.05$). Concernant les fractions de *T. vulgaris*, les fractions FHA et FA ont donné des concentrations de l'ordre de 142.96 ± 8.97 et 135.46 ± 21.00 relativement proches de celle donnée par la fraction méthanolique FM ($P > 0.05$). En outre, les fractions FA et FHA de *T. vulgaris* ont enregistrées les concentrations en polyphénols totaux plus élevées par rapport à celles données par les mêmes fractions de *M. communis* ($P > 0.05$).

III. POUVOIR ANTIMICROBIEN DES EXTRAITS DES PLANTES ÉTUDIÉES CONTRE LES AGENTS DESTRUCTEURS DU BOIS

Dans le but d'évaluer l'effet antimicrobien des extraits et des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Myrtus communis*, contre les bactéries et les champignons responsables de la biodégradation du bois, les méthodes de diffusion sur disque, diffusion sur des puits d'agar et de microdilution en milieu liquide ont été utilisées. L'activité antibactérienne et antifongique

de ces extraits a été calculée en moyenne de trois répétitions, pour chaque extrait, chaque huile essentielle et pour chaque microorganisme.

1. Activité antibactérienne et antifongique des extraits bruts

1.1. Méthodes de diffusion sur disque

Les diamètres des zones d'inhibition (mesurés en mm) obtenus par la moyenne de trois répétitions sont illustrés dans le tableau 22. Cette mesure nous a permis de noter les différentes efficacités entre les différents extraits testés sur la croissance de l'espèce bactérienne ou fongique.

Tableau 22 : Activité antibactérienne et antifongique des extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis* vis-à-vis des microorganismes étudiés

Extraits/microorganismes	Diamètre des zones d'inhibition des extraits méthanoliques des deux plantes (mm)			
	<i>Myrtus communis</i>		<i>Thymus vulgaris</i>	
	Ultrason	Macération	Ultrason	Macération
<i>Bacillus safensis</i>	16.33±0.57***	13.33±1.15***	8.00±0.00*	6.00±0.00
<i>Bacillus subtilis</i>	15.00±1.00***	12.00±0.00***	8.33±0.57**	6.00±0.00
<i>Bacillus licheniformis</i>	18.00±0.00***	14.33±0.57***	9.00±0.00***	6.00±0.00
<i>Penicillium commune</i> (d'')	8.00±0.00*	6.00±0.00	8.00±0.00*	6.00±0.00
<i>Penicillium commune</i> (d10)	8.66±0.57**	6.00±0.00	8.00±0.00*	6.00±0.00
<i>Thielavia hyalocarpa</i> (b3)	8.00±0.00*	6.00±0.00	8.00±0.00*	6.00±0.00

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett par rapport au témoin.

D'après ces résultats, les extraits de *M. communis* se sont montrés plus actifs sur les bactéries du bois que ceux de *T. vulgaris*. En effet, les zones d'inhibitions (ZI) données par *M. communis* (12.00-18.00 mm) sont importantes et significativement plus élevées ($P < 0.001$) par rapport à celles obtenues par le *T. vulgaris*. Les extraits de *M. communis* et de *T. vulgaris* obtenus par ultrason ont exercé un effet inhibiteur important vis-à-vis des bactéries et significativement plus élevé que celui des extraits récupérés par macération. Concernant l'activité antifongique, les extraits de deux plantes étudiées se sont trouvés non efficaces sur

les champignons de pourriture du bois. Cependant, les extraits obtenus par ultrason ont donné une activité inhibitrice significativement considérable.

L'effet inhibiteur important démontré par les extraits de *M. communis* contre *B. subtilis*, *B. safensis* et *B. licheniformis* serait en relation avec leur richesse en composés phénoliques et particulièrement les flavonoïdes (flavones, flavonols et flavononols) et les tanins (Tableau 19,20) réputées avoir une très grande action antimicrobienne (Shan *et al.* 2007, Aleksic et Knezevic 2014). Ces résultats concordent avec plusieurs travaux qui ont signalé les propriétés antimicrobiennes des extraits de myrte contre des bactéries pathogènes. Par exemple, Amensour *et al.* (2010) ont démontré une forte activité antibactérienne des extraits (méthanol, éthanol et acétate d'éthyle) des feuilles et des fruits de *M. communis* vis-à-vis des bactéries pathogènes d'origine alimentaire (*Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* et *Pseudomonas aeruginosa*). Cependant, aucun des extraits n'était actif contre *Escherichia coli* K12. Taheri *et al.* (2013) ont également démontré l'effet antibactérien important du myrte sur certaines bactéries pathogènes, en particulier *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholerae*.

L'effet faible antimicrobien donné par les extraits de *T. vulgaris* est également en accord avec l'étude de Yakhlef *et al.* (2011) qui ont montré qu'aucune activité antifongique n'a été observée avec les extraits polaires (méthanolique et aqueux) de *T. vulgaris* vis-à-vis de *Candida albicans*. En outre, les travaux d'El Bergadi (2014a), ont montré l'absence de l'activité antifongique des extraits aqueux de la même plante contre cinq champignons du bois. Cependant, les extraits éthanoliques ont pu inhiber la croissance de ces champignons à des niveaux variables.

Dans la littérature scientifique, il est connu que l'effet antimicrobien des extraits de plantes est dû aux différents agents chimiques présents dans ces extraits (Aleksic et Knezevic 2014, Mishra *et al.* 2015). De ce fait, les variations observées dans l'activité antimicrobienne des extraits d'une même plante ou de plantes différentes peuvent être expliquées par la variation de leur composition chimique et la nature des substances naturelles à caractère antimicrobien qui les caractérisent. En outre, l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait. Pour cela, la comparaison cas par cas de l'activité antimicrobienne de plusieurs extraits, en se basant sur le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes reste plus au moins difficile.

Pour l'ensemble des extraits, les extraits de *M. communis* ayant montré une forte activité antibactérienne et plus intéressante que leur activité antifongique, ont été sélectionnés pour

déterminer leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) et leurs concentrations minimales bactéricides (CMB) contre les bactéries étudiées

1.2. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits de *M. communis*

La détermination des paramètres de CMI et de CMB des deux extraits de *M. communis* obtenus par ultrason (M_{35}) et macération (M_m) a été effectuée grâce à la méthode de microdilution en milieu liquide de Mueller Hinton (MH) contre les trois bactéries étudiées.

Le tableau 23 illustre les résultats obtenus.

Tableau 23 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB) des extraits méthanoliques de *Myrtus communis* vis-à-vis des bactéries étudiées

Concentrations mg/ml	CMI						CMB					
	<i>M. communis</i>											
	<i>B. safensis</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>B. licheniformis</i>		<i>B. safensis</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>B. licheniformis</i>	
	M ₃₅	M _m	M ₃₅	M _m	M ₃₅	M _m	M ₃₅	M _m	M ₃₅	M _m	M ₃₅	M _m
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1.25	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
0.625	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
0.3125	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	*
0.1562	-	+	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*
0.0781	+	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*
0.0390	+	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*
0.0195	+	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*
0.0097	+	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*
Témoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Présence de la croissance; -: Absence de croissance; *: Non déterminé; Témoin positif: suspensions bactériennes et bouillon de Mueller-Hinton.

D'après les résultats consignés dans le Tableau 23, on constate que tous les extraits testés ont montré un effet antibactérien très intéressant. En effet, les extraits M_{35} et M_m ont exercé des effets similaires sur *B. subtilis* et *B. licheniformis* avec une valeur de CMI de 0.3125 mg/ml. Par ailleurs, l'extrait de *M. communis* (M_{35}) a enregistré la CMI la plus faible sur *B. safensis* avec une valeur de 0.1562 mg/ml.

Les concentrations minimales bactéricides (CMB) des deux extraits ont été en général nettement plus élevées que les valeurs de CMI correspondantes. L'extrait M_{35} a donné la valeur de CMB la plus intéressante avec 2.5 mg/ml, qui représente 8 à 16 fois la valeur de CMI contre *B. subtilis*, *B. licheniformis* et *B. safensis*. Alors que dans le cas de l'extrait M_m , la CMB a été trouvée supérieur 16 fois de la CMI contre *B. subtilis* et 8 fois pour les deux autres bactéries.

Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide des agents antimicrobiens. En fait, lorsque ce rapport est inférieur ou égal à 4 on parle de l'effet bactéricide et on parlera de l'action bactériostatique quand le rapport CMB/CMI est supérieur à 4. Ainsi, d'après les résultats obtenus (Tableau 23), les extraits de *M. communis* ont un effet bactériostatique contre les bactéries étudiées.

En somme, les extraits méthanoliques de *M. communis* ont donné des effets antibactériens importants contre les bactéries testées que ce soit par la méthode de diffusion sur disque ou par la méthode de microdilution. Ces résultats corroborent ceux de plusieurs travaux de recherche qui ont également mis en évidence l'activité antibactérienne, de différents extraits de cette plante, sur une grande diversité de bactéries de sources différentes. Cependant, leur activité antifongique est rarement rapportée (Aleksic et Knezevic 2014, Eslami *et al.* 2016).

2 Activité antibactérienne et antifongiques des huiles essentielles

2.1. Méthode de diffusion sur disque

Les résultats de l'effet antibactérien et antifongique des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. communis*, illustrés sous formes des diamètres des zones d'inhibitions (mm) obtenus par la moyenne de trois répétitions sont présentés dans le tableau 24.

Tableau 24 : Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* vis-à-vis des microorganismes étudiés

Plantes/ microorganismes	Diamètre des zones d'inhibition des huiles essentielles des deux plantes (mm)	
	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>
<i>B. safensis</i>	14.00±0.00***	19.00±1.00***
<i>B. subtilis</i>	22.33±0.57***	26.66±1.15***
<i>B. licheniformis</i>	20.66±1.15***	28.00±0.00***
<i>P. commune</i> (d'')	22.00±0.00***	28.33±1.52***
<i>P. commune</i> (d10)	19.33±0.57***	38.66±1.15***
<i>Thielavia hyalocarpa</i> (b3)	18.33±0.57***	32.00±2.00***

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett par rapport au témoin.

Il ressort de ces résultats que toutes les huiles essentielles testées témoignent d'une activité inhibitrice contre les trois souches bactériennes étudiées

L'HE de *T. vulgaris* a exercé un effet antibactérien significativement plus élevé ($P < 0.001$) que celui de *M. communis* avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 19 à 28 mm et de 14 à 22 mm respectivement. Pour l'HE de *T. vulgaris*, la plus grande surface d'inhibition a été observée dans le cas de *B. licheniformis* avec un diamètre de l'ordre de 28 mm. Alors que l'HE de *M. communis* a montré le meilleur effet contre *B. subtilis*.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de ces plantes a été démontrée dans de nombreuses études. En effet, le pouvoir antibactérien important de l'huile essentielle de *T. vulgaris* contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* a été rapporté par Cheurfa *et al.* (2013). Des résultats similaires ont été trouvés dans d'autres travaux qui ont évalué l'activité antibactérienne de thym vis-à-vis d'une grande variété de microorganismes dont les bactéries du genre *Bacillus* (Çetİn *et al.* 2011, Boskovic *et al.* 2015).

Par ailleurs, les résultats obtenus avec l'huile essentielle de *M. communis* qui sont considérables sont comparables avec ceux de Ghnaya *et al.* (2013) et d'Akin *et al.* (2010) qui ont rapporté que cette huile essentielle est pourvue d'une activité inhibitrice considérable envers *B. subtilis* et d'autres bactéries à Gram négative.

Les résultats de l'activité antifongique représentés dans le tableau 24 montrent que les huiles essentielles des deux plantes étudiées sont pourvues d'un effet antifongique contre les souches fongiques du bois étudiées.

L'HE de *T. vulgaris* a montré une activité inhibitrice significativement importante ($P < 0.001$) vis-à-vis de tous les champignons utilisés dans ce biotest par rapport à celle de *M. communis*. Ainsi, *P. commune* (d0) et *T. hyalocarpa* se sont montrés les plus sensibles à l'HE de *T. vulgaris* avec les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de 38.66 ± 1.15 et 32.00 ± 2.00 mm, contre les diamètres générés par *M. communis* de l'ordre de 19.33 ± 0.57 et 18.33 ± 0.57 mm respectivement.

Dans le cas d'HE de *M. communis*, *P. commune* (d10) et *T. hyalocarpa* ont manifesté le même degré de résistance, tandis que *P. commune* (d'') était le plus sensible des souches fongiques étudiées avec un diamètre de zone d'inhibition de 22.00 ± 0.00 mm.

Le pouvoir antifongique important prouvé par l'HE de *T. vulgaris* dans cette étude confirme celui de plusieurs autres travaux qui ont déjà souligné l'efficacité antifongique de cette huile essentielle sur les champignons pathogènes (Moghtader 2012, El Bergadi 2014a). De même, l'activité antifongique remarquable et prometteuse de l'HE de *M. communis* a été également démontrée sur plusieurs espèces : *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. (Touaibia 2015), *Candida albicans* et autres espèces (Cannas *et al.* 2013).

2. 2. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des huiles essentielles

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* a été effectuée grâce à la méthode de microdilution en milieu liquide de Mueller Hinton (MH) contre les bactéries étudiées. Les résultats de cette étude sont résumés dans les tableaux 25 et 26.

Tableau 25 : Concentrations minimales d'inhibition (CMI) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. communis* vis-à-vis des bactéries étudiées

Concentrations % (v/v)	CMI					
	<i>B. safensis</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>B. licheniformis</i>	
	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>
4	*	-	*	-	*	-
2	*	-	*	-	*	-
1	-	-	-	-	-	+
0.5	-	+	-	+	-	+
0.25	-	+	-	+	-	+
0.125	-	+	-	+	-	+
0.0625	-	+	-	+	+	+
0.03125	+	+	-	+	+	+
0.01562	+	+	+	+	+	+
0.00781	+	+	+	+	+	+
0.00390	+	+	+	+	+	+
0.00195	+	*	+	*	+	*
0.000975	+	*	+	*	+	*
Témoin	+	+	+	+	+	+

+: Présence de la croissance; -: Absence de croissance; *: Non déterminé; Témoin positif: suspensions bactériennes et bouillon de Mueller-Hinton additionné d'agar (0.15% p/v).

En analysant les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* (Tableau 25), nous constatons que ces deux huiles sont dotées d'une activité antibactérienne importante et ont inhibé les trois souches testées, mais à des CMI différentes (Tableau 26). En effet, les valeurs de CMI de l'huile essentielle de *M. communis* varient de 2 à 1% (v/v) et celles de l'huile essentielle de *T. vulgaris* sont de l'ordre de 0.125 à 0.03125% (v/v) contre les souches étudiées. Ainsi, l'huile essentielle de *T. vulgaris* a montré le meilleur effet inhibiteur avec des valeurs de CMI qui sont inférieures 8, 16 et 32 fois à celles enregistrées par l'huile essentielle de *M. communis* contre *B. licheniformis*, *B. safensis* et *B. subtilis* respectivement. En outre, les valeurs des CMI ont démontré que la bactérie *B.*

licheniformis a manifesté une certaine résistance vis-à-vis des deux huiles essentielles par rapport aux deux autres souches.

Les résultats de la détermination des concentrations minimales bactéricides (CMB) (Tableau 26) montrent que les deux huiles essentielles testées possèdent une activité bactéricide contre les bactéries étudiées. En effet, les valeurs de CMB données par *M. communis* et *T. vulgaris* sont semblables à leurs CMI contre *B. licheniformis*, *B. safensis* et *B. subtilis*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Cheurfa *et al.* (2013) qui ont rapporté qu'une concentration de l'huile essentielle de *T. vulgaris* de 0.03% (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Kazemi *et al.* (2012) et Pesavento *et al.* (2015) ont montré également le pouvoir antibactérien intéressant de l'HE de *T. vulgaris* contre plusieurs bactéries pathogènes à Gram positif et négatif. De même, nos résultats de l'effet antibactérien de l'HE de *M. communis* consistent avec ceux démontrés dans d'autres études (Aleksic et Knezevic 2014, Belmimoun *et al.* 2016).

Tableau 26 : Concentrations minimales bactéricides (CMB) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. communis* vis-à-vis des bactéries étudiées

Concentrations % (v/v)	CMB					
	<i>B. safensis</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>B. licheniformis</i>	
	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>
4	*	-	*	-	*	-
2	*	-	*	-	*	-
1	-	-	-	-	-	*
0.5	-	*	-	+	-	*
0.25	-	*	-	*	-	*
0.125	-	*	-	*	-	*
0.0625	-	*	-	*	*	*
0.03125	*	*	+	*	*	*
0.01562	*	*	*	*	*	*
0.00781	*	*	*	*	*	*
Témoin	+	+	+	+	+	+

+: Présence de la croissance; -: Absence de croissance; *: Non déterminé; Témoin positif: suspensions bactériennes et bouillon de Mueller-Hinton additionné d'agar (0.15% p/v).

Compte tenu de la grande variété de composés chimiques présents dans les huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne n'est pas attribuable à un mécanisme d'action spécifique, mais à l'action combinée de plusieurs d'entre eux sur différentes parties de la cellule microbienne. Plusieurs chercheurs ont mentionné que l'activité antimicrobienne de l'HE dépend principalement de ces trois caractéristiques: le caractère hydrophile ou hydrophobe, ses composants chimiques et le type de microorganisme en question (Reyes-Jurado *et al.* 2015). En plus, plusieurs auteurs ont rapporté que la richesse en dérivés phénoliques confère aux huiles essentielles une forte activité antimicrobienne (Cheurfa *et al.* 2013, Aleksic et Knezevic 2014). Ainsi, l'activité antibactérienne importante démontrée par les huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. communis* dans cette étude pourrait être attribuée à leurs compositions chimiques (riches en hydrocarbures oxygénés et monoterpènes) et principalement à leurs composés majeurs thymol, γ -terpinène, p-cymène, linalool et carvacrol dans le cas du *T. vulgaris* et 1.8-cinéol, α -pinène, limonène et acétate de myrtenyl pour l'HE de *M. communis* (Tableau 15). En effet, Dorman et Deans (2000) ont évalué l'effet de grand nombre de constituants purs des huiles essentielles contre 25 bactéries et ils ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne, suivi du carvacrol et de l' α -terpinéol. Ces mêmes auteurs ont également montré le rôle fondamental du groupement hydroxyle dans l'action des phénols et que sa position relative sur le noyau benzénique influence peu le degré d'activité. Ainsi, le thymol et le carvacrol, qui ne diffèrent que par la position ortho/méta du substituant hydroxyle ont présenté une différence de l'efficacité antimicrobienne. D'autres auteurs ont également rapporté que les composés chimiques qui ont une grande efficacité et de large spectre d'action antibactérienne sont des phénols (thymol, carvacrol), des alcools (α -terpinène et linalol), des aldéhydes, des cétones et plus rarement des terpènes (Cheurfa *et al.* 2013, Saad *et al.* 2013). Ces constatations sont en accord avec nos résultats donnés par l'HE de *T. vulgaris* qui est dominée par le thymol et qui a montré un effet antibactérien important par rapport à celui de *M. communis* vis-à-vis des trois souches du genre *Bacillus*.

Les faibles propriétés antibactériennes des composées tels que l' α -pinène, le limonène, le γ -terpinène et le p-cymène ont déjà été rapportés dans les travaux de Dorman et Deans (2000). Ainsi, l'effet antibactérien considérable de l'HE de *M. communis* obtenu dans cette étude pourrait être dû à sa forte teneur en α -pinène et limonène (Tableau 14). En outre, Carson et Riley (1995) ont démontré que le 1.8 cinéole (composé majeure de l'huile essentielle de myrte étudiée) a montré une activité antimicrobienne modérée par rapport à linalol et α -terpinéol

contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Cependant, il est trouvé plus efficace en comparaison avec le p-cymène, le γ -terpinène, et l' α -terpinène.

Différents modes d'action sont impliqués dans l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de plantes. Du fait de la variabilité de composition et de profils chimiques de l'huile essentielle et de l'extrait, il est probable que leur activité antimicrobienne ne pourrait pas être due à un seul mécanisme. En effet, Il est considéré que ces composés ont plusieurs sites d'action au niveau de la cellule microbienne. Généralement, six mécanismes d'action sont possibles et sont rapportés dans la littérature scientifique : la désintégration de la membrane cytoplasmique, l'interaction avec les protéines membranaires (GTPases et autres), la perturbation de la membrane externe des bactéries à Gram négatif avec la sortie des lipopolysaccharides, la déstabilisation de la force motrice des protons, la coagulation du contenu cellulaire et l'inhibition de la synthèse d'enzymes (Bakkali *et al.* 2008, Amensour *et al.* 2010, Aleksic et Knezevic 2014).

2.3. Concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* contre les champignons étudiés sont résumées dans les tableaux 27 et 28 ci-dessous.

Les résultats du pouvoir antifongique des huiles essentielles testées (Tableau 27) montrent que les CMI de *T. vulgaris* sont 8 fois faibles que ceux de *M. communis*. En effet, la concentration de 0.125% (v/v) d'HE de cette plante était suffisante pour inhiber la croissance de *P. commune* (d10), *P. commune* (d'') et *T. hyalocarpa*, alors qu'ils ont manifesté une certaine résistance à cette concentration de l'HE de *M. communis* et une sensibilité à une concentration minimale de 1% (v/v).

D'après les résultats illustrés dans le tableau 28, on constate bien que les CMF sont plus élevées que les CMI correspondantes. En fait, les CMF (1% (v/v)) données par l'HE de *T. vulgaris* représentent 8 fois la valeur de CMI vis-à-vis de l'ensemble des espèces fongiques. En plus, la concentration minimale fongicide de l'HE de *M. communis* a été trouvée supérieure à la première concentration testée (4% (v/v)). Ainsi, ces huiles essentielles ont un effet fongistatique contre les champignons étudiés.

Tableau 27 : Concentrations minimales d'inhibition (CMI) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. communis* vis-à-vis des champignons étudiés

Concentrations % (v/v)	CMI					
	<i>P. commune</i> (d'')		<i>P. commune</i> (d10)		<i>T. hyalocarpa</i>	
	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>
4	*	-	*	-	*	-
2	*	-	*	-	*	-
1	-	-	-	-	-	-
0.5	-	+	-	+	-	+
0.25	-	+	-	+	-	+
0.125	-	+	-	+	-	+
0.0625	+	+	+	+	+	+
0.03125	+	+	+	+	+	+
0.01562	+	+	+	+	+	+
0.00781	+	+	+	+	+	+
0.00390	+	+	+	+	+	+
0.00195	+	*	+	*	+	*
0.000975	+	*	+	*	+	*
Témoin	+	+	+	+	+	+

+ : Présence de la croissance ; - : Absence de croissance ; *: Non déterminé ; Témoin positif : suspensions bactériennes et bouillon d'extrait de Malt additionné d'agar (0.15% p/v).

Les résultats obtenus dans cette étude permettent de conclure que les huiles essentielles testées ont une activité antifongique intéressante sur les champignons responsables de la biodégradation du bois de cèdre. Ces constatations sont similaires à ceux rapportés dans les investigations de plusieurs auteurs. Ainsi, Ismaili *et al.* (2014) ont démontré que l'HE de *T. vulgaris* a inhibé significativement, à une concentration de 0.1%, la croissance de différents dermatophytes. Moghtader (2012) a confirmé la forte activité antifongique de l'HE de la même plante à des dilutions de 1, 0.5 et 0.25% (v/v) contre *Aspergillus niger*. Il a également constaté qu'elle était supérieure à celle donnée par les antibiotiques tels que le sulfate de Streptomycine (72%) et le Gentamicine (8 mg/ml). Les travaux de De Lira Mota *et al.* (2012) ont également rapporté que l'HE de cette plante et son constituant majeur le thymol ont significativement inhibé le développement du mycélium et la germination des spores de

Rhizopus oryzae responsables de la mucormycose. De même, L'effet inhibiteur remarquable prouvé par l'HE de *M. communis* contre les champignons du bois concorde avec celui exercé vis-à-vis d'*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus nigricans* et *Alternaria alternate* dans les travaux de Ben Hsouna *et al.* (2014). Cependant, peu sont les études qui ont rapporté le pouvoir antifongique des huiles essentielles ou leurs composés sur les champignons cellulolytiques responsables de la destruction du bois. En effet, Hussain *et al.* (2013) ont démontré la capacité de l'HE du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et d'ail (*Allium sativum*) à inhiber la croissance des champignons du bois comme *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., et *Trichoderma viride*. El Ajjouri *et al.* (2008) ont également prouvé une grande sensibilité des champignons de pourritures du bois d'œuvre à l'HE de deux autre espèces de Thym (*Thymus bleicherianus* et *Thymus capitatus*). Des travaux de Zyani *et al.* (2011) et El Bergadi (2014a) ont également confirmé l'activité antifongique de différentes huiles essentielles dont celle du *T. vulgaris*, ils ont trouvé que l'HE de cette plante inhibe la croissance de diverses espèces fongiques (*Penicillium expansum*, *P. chrysogenum*, *P. italicum*, *A. niger*) isolées du bois de cèdre de l'ancienne Médina de Fès.

Tableau 28 : Concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. communis* vis-à-vis des champignons étudiés

Concentrations % (v/v)	CMF					
	<i>P. commune</i> (d'')		<i>P. commune</i> (d10)		<i>T. hyalocarpa</i>	
	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>M. communis</i>
4	*	+	*	+	*	+
2	*	+	*	+	*	+
1	-	*	-	+	-	+
0.5	+	*	+	+	+	*
0.25	+	*	+	*	+	*
0.125	+	*	+	*	*	*
0.0625	*	*	+	*	*	*
0.03125	*	*	*	*	*	*
0.01562	*	*	*	*	*	*
0.00781	*	*	*	*	*	*
Témoin	+	+	+	+	+	+

+: Présence de la croissance; -: Absence de croissance; *: Non déterminé; Témoin positif: suspensions bactériennes et bouillon d'extrait de Malt additionné d'agar (0.15% p/v).

L'évaluation de l'activité antifongique des HE a montré que les variations d'inhibition sont en fonction de nombreux facteurs, notamment la nature, la concentration de l'huile essentielle et la souche fongique étudiée. Ainsi, les différences observées entre les activités antifongiques de ces deux HE étudiées peuvent être attribuées à des différences dans leurs fractions actives et leurs teneurs en monoterpènes oxygéné et en composés phénoliques qui sont connus par leur capacité d'endommager les membranes cellulaires, ce qui provoque ainsi des fuites des contenus intracellulaire et finalement la mort des micro-organismes. Les modes d'action des substances antifongiques sont assez semblables à celles décrites pour les bactéries. Cependant, des phénomènes supplémentaires qui sont également importants lorsque les levures sont considérées ont été rapportés. Le premier est la création d'un gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique, et le second est le blocage de la production d'énergie. Ainsi, ces deux derniers donnent lieu à la rupture de la membrane cellulaire (Aleksic et Knezevic 2014).

IV. CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE DES SURFACES ET ÉTUDE DU POUVOIR ANTIADHÉSIF DES EXTRAITS DES PLANTES ÉTUDIÉES

Dans l'objectif de déchiffrer les mécanismes d'adhésion des microorganismes et de la formation des biofilms à la surface du bois, principalement dans le contexte culturel et patrimonial, la méthode de l'angle de contact a été utilisée pour déterminer les propriétés physicochimiques de la surface du bois ainsi que celle des microorganismes qui lui sont attachés. En plus, le microscope électronique à balayage environnemental (MEBE) a été exploité pour s'informer du comportement adhésif des microorganismes et du pouvoir antiadhésif des extraits des plantes étudiées.

1. Caractérisation physicochimique du bois de cèdre et des microorganismes étudiés par la méthode de l'angle de contact

Depuis plusieurs décennies, les recherches sur les propriétés physicochimiques du bois font l'objet de nombreuses publications en exploitant toute une gamme de techniques analytiques à savoir la microscopie, la résonance magnétique nucléaire, l'infrarouge, la spectroscopie de photoélectrons X (XPS) et l'angle de contact. En plus, il est rapporté que les propriétés physiques, chimiques et mécaniques du bois sont directement liées à l'hétérogénéité et à la composition chimique de sa surface (Mohammed-Ziegler *et al.* 2004, El Abed *et al.* 2011).

Les résultats de mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals (γ^{LW}), des composantes donneurs d'électrons (γ^-) et accepteurs d'électrons (γ^+) et des énergies libres d'interaction (ΔG_{iwi}) du bois et des microorganismes étudiés sont résumés dans les tableaux 29 et 30.

Tableau 29 : Angle de contact par rapport aux différents solvants et énergie libre d'interaction (ΔG_{iwi}) du bois de cèdre et des microorganismes étudiés

Substrat/Souches	Angles de contact (°)			ΔG_{iwi} (mJ/m ²)
	θ_w	θ_F	θ_D	
Bois de cèdre	86.06±0.21	36.53±0.30	14.86±0.15	-81.98±0.67
<i>Penicillium commune</i> (d'')	36.10±0.65	43.60±0.75	51.30±0.18	37.12±0.63
<i>Penicillium commune</i> (d10)	39.33±1.10	31.73±0.90	77.66±0.40	8.28±0.60
<i>Thielavia hyalocarpa</i>	41.90±0.63	45.10±0.19	55.00±0.55	26.86±0.80
<i>Bacillus safensis</i>	18.60±0.72	30.30±1.06	53.80±0.63	39.32±0.65
<i>Bacillus subtilis</i>	25.90±0.44	27.70±0.38	46.10±0.69	29.90±0.23
<i>Bacillus licheniformis</i>	27.90±0.53	38.90±1.93	51.60±0.38	42.60±4.31

L'angle de contact vis-à-vis de l'eau (θ_w) peut être utilisé comme une méthode qualitative pour évaluer l'hydrophobicité de la surface (Oliveira 1997). D'après Vogler (1998), la surface est considérée hydrophobe si θ_w est supérieur à 65° et hydrophile si θ_w est inférieur à 65°. En plus, selon l'approche de Van Oss *et al.* (1988), Van Oss et Giese (1995), le degré d'hydrophobicité d'une surface vis-à-vis de l'eau peut également être déterminé. Il est exprimé en unité internationale (mJ/m²) ainsi, la surface peut être dite hydrophile quand l'énergie libre de surface (ΔG_{iwi}) est positive et hydrophobe quand elle est négative.

D'après les résultats présentés dans le tableau 29, le bois de cèdre présente un caractère hydrophobe qualitativement et quantitativement avec des valeurs de $\theta_w = 86.06 \pm 0.21^\circ$ et $\Delta G_{iwi} = -81 \text{ mJ/m}^2$. Ces résultats corroborent ceux obtenus par El Abed *et al.* (2011) et Barkai, *et al.* (2015a) qui ont rapporté le caractère hydrophobe du même matériau avec des valeurs d'angle de contact de l'ordre de 89° et 82.5° respectivement. Meijer *et al.* (2000) ont également montré l'hydrophobicité du bois de cèdre avec $\theta_w = 69 \pm 2^\circ$ et $\Delta G_{iwi} < 0$. Concernant le caractère donneur/accepteur d'électrons (Tableau 30), les résultats montrent que la surface du bois présente des caractères donneur d'électrons et accepteur d'électrons relativement faibles avec des valeurs de $\gamma^- = 0.02 \pm 0.01 \text{ mJ/m}^2$ et $\gamma^+ = 2.03 \pm 0.04 \text{ mJ/m}^2$. Ces

constatations sont en accord avec ceux rapportées dans une autre étude qui a montré que le bois de cèdre avait des valeurs de $\gamma^- = 0.28 \text{ mJ/m}^2$ et $\gamma^+ = 3.03 \text{ mJ/m}^2$ (Barkai *et al.* 2015a). En conclusion, le bois de cèdre étudié dans ce présent travail présente un caractère hydrophobe et un caractère relativement plus accepteur d'électrons que donneur-électrons.

La détermination de l'hydrophobicité des microorganismes peut être réalisée par différentes méthodes comme l'adhésion microbienne aux hydrocarbures (MATH) (Matsuura *et al.* 2015), l'agrégation par les sels, la chromatographie d'interactions hydrophobes (Doyle 2000) et le partage entre phases aqueuses non miscibles polyéthylène glycol et dextran (PEG/DEX) (Van Loodsdrecht *et al.* 1987)...etc. En revanche, les propriétés acido-basiques peuvent être déterminées seulement par l'angle de contact ou l'adhésion microbienne aux solvants (MATS) (Bellon-Fontaine *et al.* 1996, Hamadi et Latrache 2008). Cependant, la méthode de l'angle de contact reste une méthode simple, rapide et plus exacte que la méthode du MATS.

Les résultats de la caractérisation physicochimique des bactéries et des champignons étudiés (Tableau 29 et 30) montrent que l'ensemble des souches présentent un caractère hydrophile avec des valeurs de l'angle de contact allant de $18.6 \pm 0.72^\circ$ à $41.9 \pm 0.63^\circ$. En outre, les résultats montrent que toutes les souches ont un caractère accepteur d'électrons (γ^+) faible avec des valeurs allant de 0.27 ± 0.25 à $7.97 \pm 0.25 \text{ mJ/m}^2$, et un caractère donneur d'électrons (γ^-) élevé avec des valeurs comprises entre 36.06 ± 0.81 et $59.29 \pm 1.43 \text{ mJ/m}^2$. Ces résultats corroborent ceux rapportés par d'autres auteurs qui ont montré que toutes les cellules microbiennes étudiées sont hydrophiles et donneuses d'électrons (Van der Mei *et al.* 1998, Hamadi et Latrache 2008, El Abed *et al.* 2013, Ksontini *et al.* 2013). Cependant, les cellules microbiennes présentant un caractère accepteur d'électrons important ont aussi été rapportées (Van der Mei *et al.* 1998, Feng *et al.* 2013).

Tableau 30 : Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) du bois de cèdre et des microorganismes étudiés

Substrat/ Souches	Énergie de surface et ses composantes (mJ/m ²)			
	γ^{LW}	γ^+	γ^-	ΔG_{wi}
Bois de cèdre	49.01±0.03	2.03±0.04	0.02±0.01	-81.98±0.67
<i>Penicillium commune</i> (d'')	33.50±0.08	0.20±0.25	51.90±0.41	37.12±0.63
<i>Penicillium commune</i> (d10)	18.66±0.21	7.97±0.25	36.06±0.81	8.28±0.60
<i>Thielavia hyalocarpa</i>	31.50±0.31	0.50±0.03	44.90±0.67	26.86±0.80
<i>Bacillus safensis</i>	32.08±0.34	1.32±0.20	59.29±1.43	39.32±0.65
<i>Bacillus subtilis</i>	36.19±0.54	1.08±0.09	51.02±0.18	29.90±0.23
<i>Bacillus licheniformis</i>	33.27±0.21	0.46±0.16	58.08±2.59	42.60±4.31

Dans la littérature scientifique, il est admis que les propriétés physicochimiques des cellules microbiennes dépendent fondamentalement de la composition chimique de leurs surfaces. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté que l'hydrophobicité déterminée par l'angle de contact est directement corrélée avec le ratio élevé de N/C et inversement corrélée avec celui des concentrations de O/C (Pelletier *et al.* 1997, Boonaert et Rouxhet 2000, Latrache *et al.* 2002, Djeribi *et al.* 2013). Ceci indique que l'origine de l'hydrophobicité de la cellule bactérienne est les groupements contenant l'azote. Alors que l'hydrophilicité est liée à la présence des groupements contenant l'oxygène. En effet, Hamadi *et al.* (2008) ont montré que l'hydrophobicité de la surface d'*Escherichia coli* est associée à la présence des groupements fonctionnels (C-(C,H)), alors que son hydrophilicité est liée à des niveaux élevés de groupements fonctionnels de (C-(O.N)) et (OH-(C-O-C)) contenant l'oxygène et l'azote favorisant ainsi les interactions avec les molécules d'eau via des liaisons hydrogènes. Latrache *et al.* (2002) ont également démontré que l'hydrophilicité d'*E.coli* est due à la présence des polysaccharides, alors que son hydrophobicité est liée à la présence des protéines. Les résultats similaires ont été trouvés dans l'étude de Boonaert et Rouxhet (2000) qui ont rapporté que les surfaces de bactéries lactiques (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* et *Lactobacillus helveticus helveticus*) sont essentiellement constituées de protéines (ou polypeptides) et de polysaccharides. De plus, ces travaux ont aussi mis en évidence que le caractère hydrophile des deux souches, comme en témoigne l'angle de contact par rapport à l'eau, est en accord avec une forte concentration de polysaccharide et avec une faible concentration en composés hydro-carboniques.

Pour les cellules fongiques (spores), l'étude de Jeffs *et al.* (1999) sur une collection de 24 souches de champignons pathogènes, a montré que le caractère hydrophobe ou hydrophile dépend du rapport d'hydrate de carbone/protéine. En effet, les spores plus hydrophobes ont tendance à avoir un rapport d'hydrates de carbone/protéines plus élevé que celui des spores hydrophiles (Jeffs *et al.* 1999). Ils ont également démontré que les spores qui avaient une surface rugueuse étaient hydrophobes tandis que celles qui avaient une surface lisse étaient hydrophiles. Par ailleurs, plusieurs études ont été menées sur les éléments chimiques qui sont à l'origine des propriétés acido-basiques des microorganismes. En effet, le caractère donneur d'électrons a été attribué à la présence des groupements basiques exposés sur la surface cellulaire, tels que les groupements carboxyliques (COO^-), les phosphates (PO_4), les phospholipides, les lipopolysaccharides, les lipoprotéines, les amines (NH_2) ou des groupements sulfate (SO_3) (Pelletier *et al.* 1997, Briandet *et al.* 1999). Tandis que le caractère accepteur d'électrons est lié à la présence des groupements acides tels que les groupes R ou R-NH-OH et NH_3 sur la surface cellulaire (Hamadi *et al.* 2012, Djeribi *et al.* 2013).

Selon l'analyse bibliographique, peu sont les études qui sont consacrées à l'étude de l'adhésion et la formation des biofilms à la surface du bois (EL Abed *et al.* 2010, Adetunji et Isola 2011b, El Abed *et al.* 2013, Barkai, *et al.* 2015b). En outre, il est admis que les caractéristiques énergétiques et physicochimiques des supports jouent un rôle très important dans le processus de l'adhésion microbienne. En effet, les propriétés physicochimiques de la surface du substrat (l'hydrophobicité, le caractère donneur d'électrons et le caractère accepteur d'électrons) sont des facteurs déterminants de l'adhésion initiale, et qui peuvent influencer la vitesse et le taux d'adhésion des microorganismes aux surfaces solides (Bellon-Fontaine *et al.* 1996, Santos *et al.* 2004, Milling *et al.* 2005, Hamadi *et al.* 2009, El Abed *et al.* 2011). Ainsi, la modification de ces caractéristiques peut augmenter ou diminuer ce phénomène.

Dans l'objectif d'améliorer la stabilité, la durabilité et les propriétés physicochimiques du bois ainsi que d'éliminer des contaminants de sa surface, plusieurs méthodes de préservation ont été utilisées. Parmi ces méthodes on trouve l'utilisation des colorants acides (Wei *et al.*, (2012), l'utilisation des traitements physiques (traitement thermique ou par plasma) (Bakar *et al.* 2013, Cademartori *et al.* 2013, Potočnáková *et al.* 2013, Severo *et al.* 2016) et l'utilisation des agents chimiques (Güleç *et al.* 2006, Hill 2006, Trey *et al.* 2010, 2012, Maggini *et al.* 2012).

En outre, plusieurs investigations ont rapporté l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de plantes (Shan *et al.* 2007, Mehrabani *et al.* 2013, Taheri *et al.* 2013, Aleksic et Knezevic 2014, El Bergadi *et al.* 2015). En plus, l'activité antiadhésive et antibiofilm de ces extraits a été démontrée sur différents supports par plusieurs auteurs (Viju *et al.* 2013, Barbieri *et al.* 2014, Limsuwan *et al.* 2014, Miladi *et al.* 2016). Cependant, aucune étude n'a été réalisée sur l'effet de ces produits naturels, d'origine de plantes aromatiques et médicinales, sur les propriétés physicochimiques du bois. De ce fait, la partie qui suit de ce présent travail s'intéresse à l'étude de l'effet des extraits bruts et des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* sur la physicochimie du bois de cèdre, et leur pouvoir antiadhésif vis-à-vis des microorganismes causant la dégradation biologique de ce matériau.

2. Effet des extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis* sur les propriétés physicochimiques du bois de cèdre et sur le comportement adhésif des microorganismes

2.1. Caractéristiques physicochimiques du bois après traitement par les extraits obtenus par macération et ultrason

Les valeurs de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals (γ^{LW}), des composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) et les énergies libres d'interaction du bois après traitement par les extraits de plantes étudiées sont résumées dans les tableaux 31 et 32.

Tableau 31 : Angle de contact par rapport aux différents solvants et énergie libre d'interaction (ΔG_{wi}) du bois de cèdre avant et après traitement par les extraits de *T. vulgaris* et *M. communis*

Types de traitement	Angles de contact (°)			ΔG_{wi} (mJ/m ²)
	θ_w	θ_F	θ_D	
Bois non traité	86.06±0.21	36.53±0.30	14.86±0.15	-81.98±0.67
T _m	29.76±0.32***	20.20±0.26	11.86±0.15	17.78±0.48***
T ₃₅	18.26±0.25***	21.80±0.26	51.46±0.45	30.62±0.31***
M _m	31.66±0.41***	23.36±0.37	14.20±0.10	17.70±0.58***
M ₃₅	21.10±0.88***	19.63±0.47	32.00±0.20	29.19±1.29***

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett (comparaisons multiples) par rapport au témoin.

A la lumière des résultats obtenus, on remarque que tous les extraits testés ont changé significativement les propriétés physicochimiques du bois. En effet, le traitement de la surface du bois par les extraits de *T. vulgaris* obtenus par macération (T_m) et ultrason (T_{35}) ont diminué significativement l'hydrophobicité du bois aussi bien du point de vue qualitative que quantitative ($P < 0.001$) par rapport au bois non traité. Ainsi, le bois qui était hydrophobe à l'état non traité ($\theta_w = 86.06 \pm 0.21^\circ$ et $\Delta Giwi = -81 \text{ mJ/m}^2$) est devenu hydrophile avec des valeurs de $\theta_w = 29.76 \pm 0.32^\circ$ et $\theta_w = 18.26 \pm 0.25$ respectivement. Des constatations similaires ont été données dans le cas du traitement avec les extraits de *M. communis* ($P < 0.001$).

En plus de l'hydrophobicité, les résultats montrent que le traitement a également un effet important sur le caractère donneur d'électrons (γ^-) du bois. En effet, les extraits de plantes étudiées ont augmenté significativement ($P < 0.001$) ce paramètre à des valeurs allant de 43.24 ± 0.38 à $53.80 \pm 0.3 \text{ mJ/m}^2$ par rapport au témoin qui présente une faible valeur de l'ordre de $\gamma^- = 0.02 \pm 0.01 \text{ mJ/m}^2$. Cependant, le caractère accepteur d'électrons (γ^+) et la composante de Lifshitz Van der Waals (γ^{LW}) ne sont pas ou faiblement influencés par le traitement.

Tableau 32 : Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) du bois de cèdre après traitement par les extraits de *T. vulgaris* et *M. communis*

Types de traitement	Energie de surface et ses composantes (mJ/m^2)			
	γ^{LW}	γ^+	γ^-	$\Delta Giwi$
Bois non traité	49.01 ± 0.03	2.03 ± 0.04	0.02 ± 0.01	-81.98 ± 0.67
T_m	49.61 ± 0.03	$0.15 \pm 0.01^{***}$	$44.76 \pm 0.30^{***}$	$17.78 \pm 0.48^{***}$
T_{35}	$33.38 \pm 0.25^{***}$	2.03 ± 0.02	$53.80 \pm 0.30^{***}$	$30.62 \pm 0.31^{***}$
M_m	49.15 ± 0.02	$0.11 \pm 0.00^{***}$	$43.24 \pm 0.38^{***}$	$17.70 \pm 0.58^{***}$
M_{35}	$43.28 \pm 0.08^{***}$	$0.54 \pm 0.04^{***}$	$51.37 \pm 0.90^{***}$	$29.19 \pm 1.29^{***}$

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett (comparaisons multiples) par rapport au témoin.

En comparaison avec le traitement par les extraits obtenus par macération, l'effet des extraits obtenus par ultrason sur l'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons du bois est significativement plus important ($P < 0.001$). Ainsi les échantillons traités par les extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis* récupérés par ultrason sont devenus plus hydrophiles et donneurs d'électrons que ceux traités par les extraits obtenus par macération.

L'effet important donné par ces extraits testés sur les propriétés physicochimiques du bois y compris l'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons peut être lié à la composition chimique de ces produits qui est très riche en polyphénols (flavonoïdes, tannins...). Ces derniers sont connus par leurs groupements hydroxyles et par leur caractère hydrophile, ayant la capacité de réaliser des liaisons hydrogènes, alors que les huiles essentielles sont connues par leur comportement hydrophobe.

En résumé, les résultats obtenus dans ce présent travail montrent que les propriétés physicochimiques (hydrophobicité et caractère donneur-accepteur d'électrons) de la surface du bois de cèdre sont largement influencées par le traitement. Ainsi, le bois est devenu hydrophile et beaucoup plus donneur qu'accepteur d'électrons après traitement par chaque extrait des deux plantes étudiées. Ainsi, cet effet pourrait être associé à la variation des caractéristiques des groupements fonctionnels de la surface du bois au cours du traitement avec ces composés biologiques.

De nombreuses études ont été menées sur la modification de la surface de bois en utilisant différents agents chimiques, physiques ou biologiques. Ainsi, nos résultats corroborent en grande partie ceux de Wei *et al.* (2012) qui ont démontré que la mouillabilité du bois (Birch) a augmenté après la fixation des colorants acides sur sa surface. En effet, les échantillons traités ont montré un caractère hydrophile avec des valeurs de l'angle de contact (θ_w) variant entre 29.5 et 40.5° comparativement à l'échantillon non traité ($\theta_w = 115^\circ$). De plus, Croitoru *et al.* (2011) ont clairement montré la diminution de l'hydrophobicité du bois (*Populus tremula*) après le traitement avec les sels organiques (imidazolium), et qui a donné des valeurs de l'angle de contact de l'eau allant de $\theta_w = 32.34$ à 17.36° et des énergies libres plus élevées par rapport au bois non traité. Des résultats similaires ont également été obtenus dans le cas de la modification du bois tendre (tigerwood) par plasma d'oxygène à la pression atmosphérique qui a diminué considérablement son angle de contact par rapport à l'eau, à une valeur de $\theta_w = 26^\circ$ par rapport à sa valeur initiale de l'ordre de $\theta_w = 109^\circ$ (Potočnáková *et al.* 2013). En revanche, les résultats de ces travaux ne concordent pas avec ceux obtenus dans le cas du traitement du bois de chêne rouge avec les différentes solutions d'éthanolamine de cuivre (0.2, 0.4 et 1.0% Cu) (Jiang et Kamdem 2010). Ces auteurs ont montré que le caractère hydrophobe du bois augmente avec le traitement par rapport au control ($\theta_w = 105.1 \pm 3.8^\circ$). Ainsi, les valeurs de l'angle de contact sont $\theta_w = 123.3 \pm 3.5^\circ$, $\theta_w = 124.6 \pm 3.0^\circ$ et $\theta_w = 120.8 \pm 2.9^\circ$ respectivement. De même, la faible mouillabilité a été observée dans le cas du traitement des

surfaces du bois (aulne et de hêtre) avec les borates et l'acide borique (Aydin et Colakoglu 2007).

Concernant les propriétés acido-basiques, nos résultats concordent avec ceux obtenus dans l'étude de Mohammed-Ziegler *et al.* (2004) qui a montré que le traitement du bois de chêne et de girofle avec la solution chloroformique de chlorotriméthylsilane, a augmenté leurs caractères donneurs d'électrons d'environ zéro à des valeurs de l'ordre de $\gamma^- = 5.4 \text{ mJ/m}^2$ et $\gamma^- = 3.9 \text{ mJ/m}^2$ respectivement. Des tendances similaires ont été rapportées par (Jiang et Kamdem 2010) qui ont démontré l'augmentation très marquée du caractère donneur d'électrons du bois de chêne rouge ($\gamma^- = 0.9 \text{ mJ/m}^2$) induit par la solution d'éthanolamine de cuivre (0.4%) ($\gamma^- = 11.0 \text{ mJ/m}^2$). Des mêmes constatations ont été mises en évidence dans l'étude de Croitoru *et al.* (2011) qui ont remarqué l'augmentation de la propriété basique du bois après traitement par les sels organiques. Les valeurs enregistrées variant entre $\gamma^- = 29.50$ et 59.83 mJ/m^2 , par rapport au bois non traité ($\gamma^- = 7.48 \text{ mJ/m}^2$). Au contraire, les résultats de cette étude ne concordent pas avec ceux obtenus par Buschle-Diller *et al.* (2005) qui ont démontré la diminution des deux propriétés acido-basiques des surfaces des fibres celluloseuses avec des traitements chimiques et enzymatiques. Cependant, il est important de souligner que du fait de la complexité du bois, que ce soit par sa constitution chimique ou son comportement physique, de la variabilité des diamètres des espèces étudiées, des supports utilisés, ainsi que les méthodes de traitement utilisées, la comparaison et la discussion des résultats avec ceux rapportés dans d'autres travaux reste plus ou moins difficile.

2.2. Effet antiadhésif des extraits de *T. vulgaris* et *M. communis* vis-à-vis de *Penicillium commune*

L'observation de l'adhésion de *Penicillium commune* a été effectuée par le microscope électronique à balayage dans le but d'évaluer l'activité antiadhésive des extraits de plantes étudiées. Ensuite, l'analyse des images obtenues a été réalisée par le programme Matlab pour déterminer le pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes. En effet, le pourcentage d'adhésion est déterminé selon la formule suivante (Hamadi *et al.* 2005) :

$$\% \text{ Adhésion} = \% \text{ Surface occupée} = (\text{Surface occupée} / \text{Surface totale}) * 100$$

Les résultats de l'effet antiadhésif des extraits étudiés vis-à-vis de *Penicillium commune* sont illustrés dans les figures 29 et 30 ci-apès.

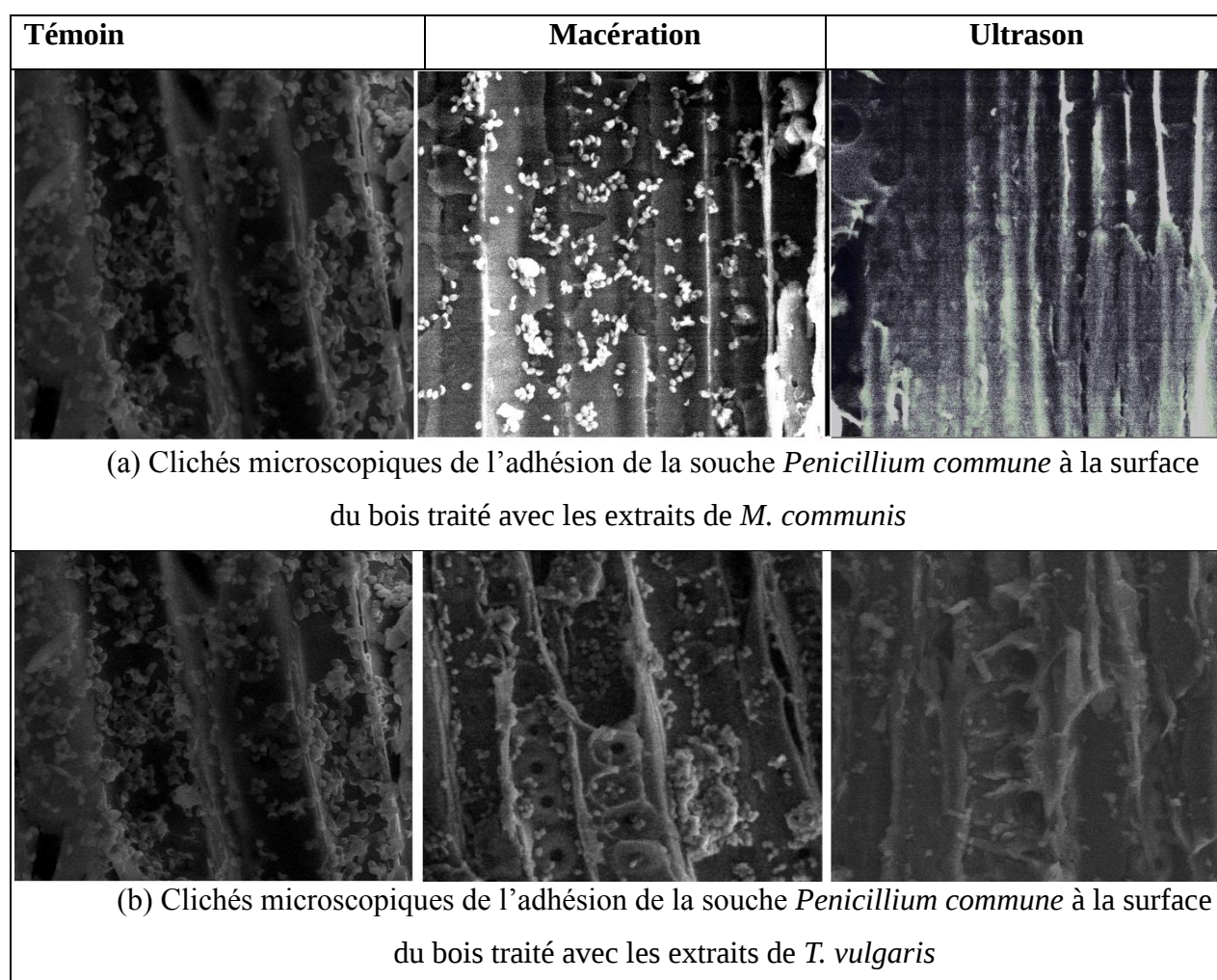


Figure 29 : Observation par ESEM de l'adhésion de la souche *Penicillium commune* à la surface du bois de cèdre avant et après traitement (x 1500).

D'après les résultats obtenus, on constate que la souche de *Penicillium commune* présente une importante capacité d'adhésion au bois de cèdre avec un pourcentage d'adhésion de 79%. Les spores de cette dernière sont aléatoirement dispersées sur la surface du bois montrant une répartition caractérisée par la présence des amas et des spores bien isolées. Ces résultats corroborent ceux rapportés dans les travaux El Abed (2012c) qui ont montré le comportement adhésif très marqué de plusieurs souches fongiques dont *Penicillium commune* et *Penicillium crustosum* avec des pourcentages d'adhésion de l'ordre de 41% et 71% respectivement.

Les résultats de la quantification de l'adhésion illustrés dans la figure 30 montrent également que tous les extraits testés ont influencé largement le comportement adhésif de *P. commune* à la surface du bois après traitement. En effet, les pourcentages d'adhésion enregistrés après traitement allant de 33 à 68% sont faibles par rapport au témoin (79%).

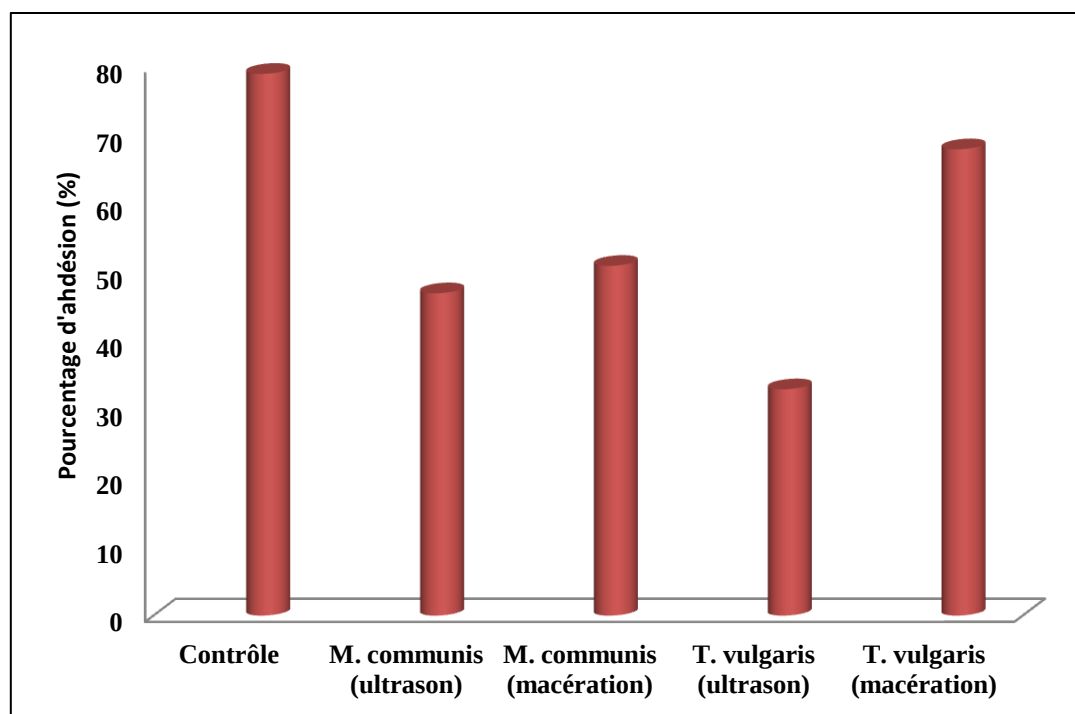


Figure 30 : Pourcentage d'adhésion de *Penicillium commune* à la surface du bois avant et après traitement par les extraits de plantes étudiées.

De même, ces résultats montrent clairement que les extraits obtenus par ultrason exercent un pouvoir antiadhésif plus efficace que celui obtenu par macération. Ainsi les pourcentages d'adhésion de la souche fongique étudiée sont moins importants dans le cas du traitement par les extraits de *M. communis* et *T. vulgaris* récupérés par ultrason (47% et 33%) par rapport à ceux observés après traitement par les extraits obtenus avec macération, qui sont 51% et 68% respectivement.

L'étude des facteurs liés à l'adhésion des microorganismes aux matériaux fait l'objet d'une grande partie de la littérature scientifique dans le domaine des biofilms. Il est aujourd'hui évident que plusieurs paramètres liés à la fois au microorganisme et à la surface solide, influencent cet attachement initial (Hamadi *et al.* 2005, Palmer *et al.* 2007, Pavithra et Doble 2008, El Abed *et al.* 2012a). La plupart des études, réalisées, ont montré que les microorganismes adhèrent plus facilement aux matériaux hydrophobes (polyéthylène, polystyrène, téflon, bois), qu'à ceux hydrophiles (verre, métaux) (Donlan *et al.* 2002, Hamadi *et al.* 2005, El Abed *et al.* 2011). En effet, dans le cas des surfaces hydrophiles des liaisons hydrogènes s'établissent entre les molécules d'eau du milieu et les groupements fonctionnels polaires du support aboutissant à la formation d'une couche d'eau organisée en réseau à la surface du support. Celle-ci provoque le phénomène de «répulsion hydrophile» avec la

surface microbienne, si celle-ci est hydrophile. Au contraire, dans le cas d'un support hydrophobe, les molécules d'eau restent confinées entre deux surfaces hydrophobes (support et microorganisme), leur mouvement favorise le rapprochement des surfaces, ce qui se traduit par un phénomène «d'attraction hydrophobe». Par conséquent, il est chimiquement accepté que les cellules hydrophobes ont tendance à adhérer sur un substrat hydrophobe par contre les cellules hydrophiles n'ont pas tendance à adhérer sur un substrat hydrophile (Van Loosdrecht *et al.* 1989, Cappella et Dietler 1999). Cependant, plusieurs travaux ont rapporté que l'hydrophobicité ne peut pas expliquer systématiquement les résultats de l'adhésion microbienne sur un support et que les interactions acides-bases jouent un rôle très important dans ce phénomène (Sjollem *et al.* 1990, Henriques *et al.* 2004, Hamadi *et al.* 2005, El Abed, *et al.* 2012a). Ainsi, l'activité antiadhésive intéressante des extraits de plantes étudiées, mise en évidence dans ce présent travail, vis-à-vis des spores de *P. commune* (hydrophiles), peut être expliquée par la modification des caractéristiques physicochimiques du bois, qui est devenu hydrophile et beaucoup plus donneur qu'accepteur d'électrons. Donc, les interactions avec les spores fongiques étudiées vont devenir plus faibles vu qu'elles ont toutes un caractère donneur d'électrons important, et par conséquent, l'adhésion de ces cellules au bois a été diminuée.

Par ailleurs, l'effet antiadhésif de ces produits naturels pourrait être attribué à leur composition chimique riche en composés phénoliques qui sont connus par leurs propriétés antimicrobiennes (Nzeako *et al.* 2006, Yakhlef *et al.* 2011, Aleksic et Knezevic 2014). Des résultats similaires ont été rapportés dans de nombreuses études. Par exemple, Naidoo *et al.* (2012) ont montré que la formation du biofilm par *Streptococcus mutans* sur la microplaque a été réduit de 95.97 et 99% après 6, 24 et 30 heures de contact avec l'extrait brut de *Dodonaea Viscosa var. angustifolia* riche en polyphénols. Nostro *et al.* (2004) ont prouvé également que les extraits éthanoliques de *Helichrysum italicum*, caractérisés par la présence des flavonoïdes (apigénine, lutéoline et gnaphalium), ont fortement inhibé l'adhésion des souches de *Streptococcus mutans* sur le verre. En plus, l'effet antiadhésif et antibiofilm des extraits de plantes, vis-à-vis d'une grande variété de microorganismes colonisateurs de différents supports autres que le bois, a été démontré par d'autres auteurs (Nordin *et al.* 2013, Viju *et al.* 2013, Limsuwan *et al.* 2014).

Dans la partie qui suit, nous allons nous focaliser sur les extraits de *T. vulgaris* et *M. communis* obtenus par ultrason. L'étude a porté sur l'analyse de l'effet de différentes fractions de ces extraits sur les propriétés physicochimiques du bois, ainsi que sur l'évaluation

théorique et expérimentale de l'adhésion des champignons et des bactéries étudiées à la surface du bois avant et après traitement.

3. Effet de différentes fractions des extraits obtenus par ultrason sur la physicochimie du bois : Adhésion théorique et expérimentale des microorganismes dégradant le bois

3.1 Propriétés physicochimiques du bois après traitement

L'hydrophobicité du bois a été évaluée après traitement par les différentes fractions, hexane-acétate d'éthyle (FHA), acétate d'éthyle (FA) et fraction méthanolique (FM) des extraits, obtenus par ultrason, de *T. vulgaris* et de *M. communis*. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 33.

Considérant les angles de contact de l'eau avec les différents échantillons de bois traités, en tant que moyen d'évaluer l'hydrophobicité, on constate que la surface de tous les échantillons est devenue hydrophile qualitativement et quantitativement. Ceci est indiqué par la chute significative des valeurs d'angles de contact par rapport au témoin ($P < 0.001$), avec une hydrophilicité bien marquée dans les cas de traitement avec les fractions FMT, FMM et FAT dont les valeurs de l'angle de contact sont de l'ordre de $\theta_w=10.70^\circ$, 16.96° et 17.10° respectivement.

Tableau 33 : Angle de contact par rapport aux différents solvants et énergie libre d'interaction (ΔG_{wi}) du bois de cèdre traité par les différentes fractions testées

Types de traitement	Angles de contact ($^\circ$)			ΔG_{wi} (mJ/m^2)
	θ_w	θ_F	θ_D	
Bois non traité	78.10 $\pm$ 0.56	42.50 $\pm$ 0.64	17.40 $\pm$ 1.03	-71.99 $\pm$ 1.61
FAT	17.10 $\pm$ 0.08***	30.60 $\pm$ 0.82	36.50 $\pm$ 0.08	46.51 $\pm$ 1.36***
FMT	10.70 $\pm$ 0.40***	15.83 $\pm$ 0.25	26.63 $\pm$ 0.48	35.36 $\pm$ 0.39***
FHAT	31.10 $\pm$ 0.74***	27.40 $\pm$ 0.08	18.90 $\pm$ 0.10	24.64 $\pm$ 1.24***
FAM	37.70 $\pm$ 0.72***	31.63 $\pm$ 2.34	36.13 $\pm$ 1.85	16.79 $\pm$ 2.57***
FMM	16.96 $\pm$ 0.90***	19.50 $\pm$ 0.51	24.43 $\pm$ 0.32	34.07 $\pm$ 1.09***
FHAM	39.13 $\pm$ 1.70***	30.10 $\pm$ 1.87	20.36 $\pm$ 0.15	11.25 $\pm$ 2.12***

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett (comparaisons multiples) par rapport au témoin.

En plus du caractère d'hydrophobicité, les résultats présentés dans le tableau 34 indiquent également que le caractère donneur d'électrons (γ^-) est largement influencé par le traitement

et en fonction de la fraction testée. Ainsi, les surfaces du bois traitées avec les fractions méthanoliques et acétate d'éthyle des extraits de *T. vulgaris* (FMT, FAT) et de *M. communis* (FMM, FAM) sont devenues plus donneuses d'électrons avec des valeurs significativement plus élevées ($P < 0.001$), que dans les cas du traitement avec leurs fractions hexane-acétate d'éthyle et par rapport au témoin.

D'après les résultats obtenus, on note également que les fractions ont faiblement influencé le caractère accepteur d'électrons (γ^+). Ainsi, on note que toutes les surfaces du bois traitées présentent un caractère accepteur d'électrons faible avec des valeurs qui tendent vers 0 mJ/m² et comprise entre 0.00 et 0.42 mJ/m² et qui sont très proches de celle du témoin (0.50 mJ/m²).

En résumé et d'après les résultats obtenus dans ce travail, nous pouvons déduire que les fractions méthanoliques des extraits des deux plantes étudiées présentent un effet très important sur la physicochimie du bois (hydrophobicité et caractère donneur d'électrons) suivi de celui des fractions acétate d'éthyle et hexane-acétate d'éthyle.

Tableau 34 : Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) du bois de cèdre après traitement par les différentes fractions testées

Types de traitement	Energie de surface et ses composantes (mJ/m ²)			
	γ^{LW}	γ^+	γ^-	ΔG_{wi}
Bois non traité	48.50±0.25	0.50±0.08	2.30±0.36	-71.99±1.61
FAT	41.30±0.02	0.10±0.03***	61.40±0.80***	46.51±1.36***
FMT	45.90±0.18	0.30±0.02***	56.40±0.25***	35.36±0.39***
FHAT	48.10±0.02	0.00±0.00***	46.00±0.82***	24.64±1.24***
FAM	41.40±0.87	0.42±0.08*	40.47±1.38***	16.79±2.57***
FMM	46.25±0.11	0.21±0.02***	54.84±0.73***	34.07±1.09***
FHAM	47.57±0.04	0.09±0.04***	38.07±1.38***	11.25±2.12***

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett (comparaisons multiples) par rapport au témoin.

3.2. Adhésion théorique des microorganismes à la surface du bois après traitement : Approche DLVO étendue

Malgré que les mécanismes fondamentaux qui gouvernent l'adhésion microbienne aux supports soient encore mal compris et n'aient donc pas été complètement définis, il est généralement admis que les propriétés physicochimiques des supports et celles de la

membrane microbienne jouent un rôle déterminant dans l'adhésion initiale (Van Oss *et al.* 1986, Van Loodsdrecht *et al.* 1987, Bellon-Fontaine *et al.* 1996, Bos *et al.* 1999, Hamadi *et al.* 2005, 2009, El Abed *et al.* 2011). Ainsi, plusieurs modèles théoriques ont été proposés pour prédire le phénomène de l'adhésion des microorganismes aux surfaces. Dans cette étude, nous allons utiliser l'approche de DLVO étendue développée par Van Oss (1986) (Van Oss *et al.* 1986, Bellon-Fontaine *et al.* 1990, Carvalho *et al.* 2013). C'est une approche dans laquelle trois types d'interactions physicochimiques, dont Lifshitz-van der Waals (LW), acido-basiques (AB) et électrostatiques (EL) responsables de l'adhésion initiale, sont considérées.

En outre, afin de contrôler et d'inhiber cette adhésion, la compréhension des mécanismes impliqués dans l'interaction entre les cellules microbiennes et le substrat est demandée. De ce fait, notre étude vise à prédire l'adhésion des champignons et des bactéries étudiées au bois de cèdre avant et après traitement par les différentes fractions (FA, FM et FHA) des extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis*. Nous cherchons aussi à déterminer toutes les forces qui régissent théoriquement cette adhésion. Ainsi, les calculs des énergies libres totales d'interaction entre les microorganismes et les différents échantillons de bois traités en utilisant les équations issues du modèle de Van Oss, ont été faits. Les interactions électriques ΔG^{EL} seront négligées dans ce processus d'adhésion, car la solution de suspension (KNO_3) utilisé dans cette étude a une force ionique élevée (0.1 M) (Hamadi *et al.* 2009, El Abed *et al.* 2011).

Les résultats de l'énergie totale (ΔG^{Tot}) (non électrostatique) de l'adhésion des microorganismes étudiées au bois ainsi que ses composantes acido-basiques (AB) et Lifshitz -van der Waals (LW) sont résumés dans le tableau 35.

Tableau 35 : Energies libres de Van der Waals ΔG^{LW} (mJ/m²), acide-base ΔG^{AB} (mJ/m²) et totale ΔG^{Tot} (mJ/m²) de l'adhésion des micro-organismes à la surface du bois avant et après traitement par les différentes fractions testées

Souche/bois	Témoïn			FAT			FMT		
	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}
<i>P. commune</i> (d'')	-5.14	-13.83	-18.97	-3.93	46.03	42.09	-4.72	42.03	37.31
<i>P. commune</i> (d10)	1.61	-7.52	-5.92	1.23	21.37	22.60	1.47	19.47	20.95
<i>T. hyalocarpa</i>	-4,31	-16,33	-20.64	-3.30	39.85	36.54	-3.96	36.25	32.30
<i>B. subtilis</i>	-6.19	-10.19	-16.38	-4.74	42.14	37.40	-5.68	38.56	33.87
<i>B. safensis</i>	-4.54	-4,54	-9.08	-3.48	46.84	43.36	-4.17	43.07	38.90
<i>B. lichnorfmis</i>	-5.05	-8.56	-13.60	-3.86	48.71	44.84	-4.63	44.67	40.04
	FHAT			FAM			FMM		
	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}
<i>P. commune</i> (d'')	-5.07	37.69	32.62	-3.95	31.03	27.07	-4.77	41.45	36.68
<i>P. commune</i> (d10)	1.59	17.28	18.86	1.23	14.17	15.40	1.49	19.18	20.67
<i>T. hyalocarpa</i>	-4.26	31.74	27.48	-3.32	25.95	22.63	-4.01	35.64	31.63
<i>B. subtilis</i>	-6.12	35.01	28.89	-4.76	28.93	24.16	-5.75	38.09	32.34
<i>B. safensis</i>	-4.49	41.12	36,14	-3.49	33.57	30.08	-4.22	42.72	38.51
<i>B. lichnorfmis</i>	-4.98	40.12	35.15	-3.88	34.11	30.23	-4.69	44.21	39.53
	FHAM								
	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{Tot}						
<i>P. commune</i> (d'')	-4.99	30.76	25.77						
<i>P. commune</i> (d10)	1.56	13.98	15.54						
<i>T. hyalocarpa</i>	-4,19	25,43	21.25						
<i>B. subtilis</i>	-6.01	28.85	22.83						
<i>B. safensis</i>	-4.41	33.93	29.52						
<i>B. lichnorfmis</i>	-4.90	34.23	29.33						

Selon l'approche thermodynamique étendue (DVLO étendue), l'adhésion d'un micro-organisme sur un support est énergétiquement favorable quand ΔG^{Tot} est négative, et défavorable dans le cas contraire. De ce fait, d'après les résultats obtenus, on remarque clairement que pour le bois non traité, l'adhésion est favorable pour toutes les souches fongiques et bactériennes étudiées ($\Delta G^{Tot} < 0$) avec des valeurs de l'énergie totale de

l'adhésion comprises entre -5.92 et -20.64 mJ/m². En revanche, l'adhésion théorique des microorganismes étudiés est défavorable dans tous les cas de traitement avec des valeurs de l'énergie libre totale d'interaction allant de 15.40 à 42.09 mJ/m² et de 22.83 à 44.84 mJ/m² pour les souches fongiques et bactériennes respectivement. Il est à noter également, que la variabilité de l'énergie libre totale de l'adhésion dépend essentiellement à la fois de la fraction testée, de la souche et du type de microorganisme étudié.

Pour les échantillons de bois traités par les différentes fractions de l'extrait de *T. vulgaris*, les résultats montrent que l'adhésion est très défavorable pour tous les microorganismes étudiés dans le cas du traitement par la fraction acétate d'éthyle (FAT) par rapport aux deux autres fractions méthanolique et hexane-acétate d'éthyle. Par contre, dans le cas de l'extrait de *M. communis*, les valeurs les plus élevées de l'énergie totale de l'adhésion sont obtenues dans le cas du traitement par sa fraction méthanolique (FMM), suivies par celles trouvées après traitement par les fractions acétate d'éthyle et hexane-acétate d'éthyle.

En comparaison entre les fractions des extraits des deux plantes, on note bien que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait de *T. vulgaris* rend les conditions de l'adhésion plus défavorable que celle de *M. communis* pour toutes les souches fongiques et bactériennes,. Tandis que, leurs fractions méthanoliques ont donné des valeurs de l'énergie libre totale de l'adhésion relativement proches (Tableau 35).

Sachant que la phase initiale de l'adhésion microbienne est gouvernée par les interactions de Van der Waals, suivies des interactions acido-basiques dans sa deuxième phase lorsque les liaisons hydrogènes et les interactions chimiques sont intervenues. La valeur négative de la composante Lifshitz -Van der Waals (LW) indique que l'adhésion est favorable. Alors que, la valeur positive de la composante acide-base (AB) implique que l'adhésion est défavorable ou faible sur le bois et vice versa. Par conséquent, dans le cas du bois non traité ($\Delta G^{\text{Tot}} < 0$), on note que les valeurs négatives de la composante ΔG^{AB} sont plus élevées que celles de la composante ΔG^{LW} (Tableau 35). Ceci indique que l'adhésion théorique de toutes les souches microbiennes étudiées (à l'exception de *B. safensis*) doit être régie principalement par les forces de courte portée (les interactions acido-basiques). En outre, les valeurs de la composante ΔG^{LW} ont été trouvées négatives dans tous les cas de traitement, ce qui signifie que les forces qui peuvent contribuer à cette adhésion microbienne (à l'exception de *P. commune* (d10)) sont à la fois les forces à longue portée (interactions de Van Der Waals) et les forces de courte portée. Ces constatations ont été confirmées puisqu'une corrélation négative a été trouvée entre l'énergie libre totale d'interaction et l'hydrophobicité de

différents échantillons de bois (Figure 31a et 32a), et une corrélation positive entre l'énergie libre totale d'interaction et leurs caractères donneurs d'électrons (figure 31b et 32b).

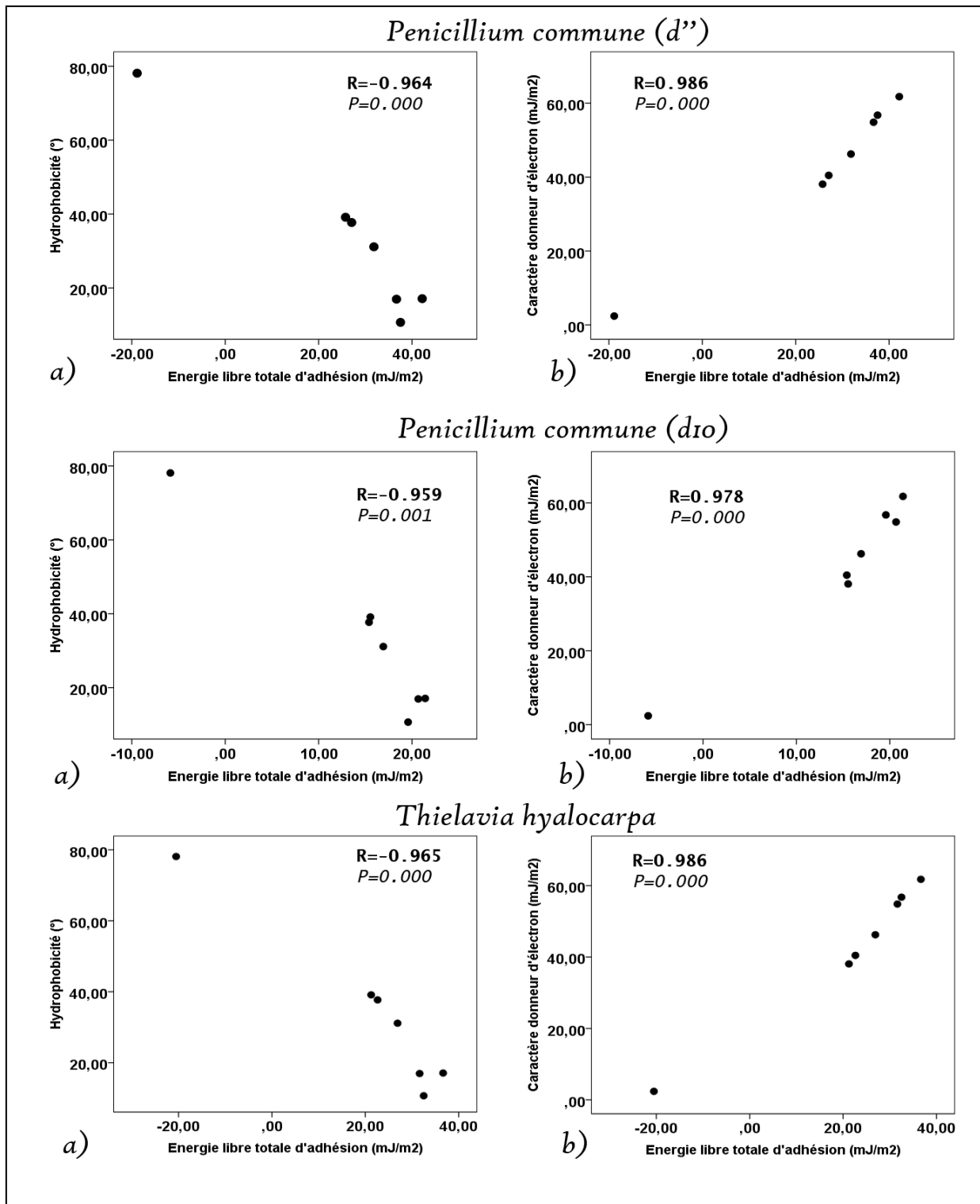


Figure 31 : Corrélation entre l'énergie libre totale d'interaction et l'hydrophobicité du bois traité (a) et son caractère donneur d'électrons (b) (**champignons**).

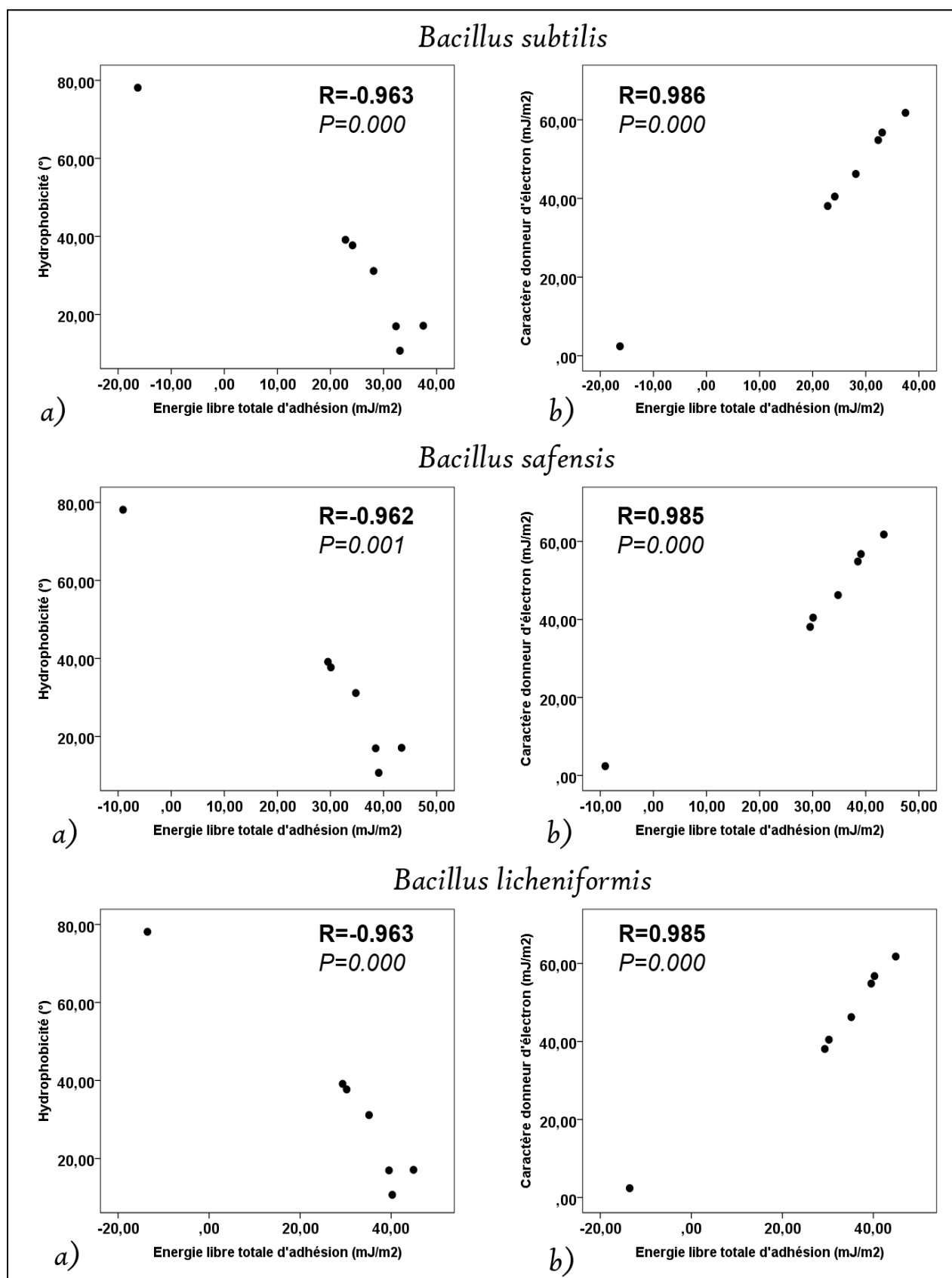


Figure 32 : Corrélation entre l'énergie libre totale d'interaction et l'hydrophobicité du bois traité (a) et son caractère donneur d'électrons (b) (**bactéries**).

L'analyse des résultats obtenus a également révélé que les forces acido-basiques sont plus influencées que les autres forces (forces LW) dans tous les cas étudiés. Ces résultats sont en accords en grande partie avec ceux rapportés par Hamadi *et al.* (2009) qui ont montré une bonne corrélation entre l'énergie libre totale de l'adhésion de *Staphylococcus aureus* et d'hydrophobicité du verre. De même, un autre travail a déjà rapporté une corrélation positive entre les angles de contact par rapport à l'eau de divers matériaux et l'adhésion bactérienne (Absolom *et al.* 1983).

En plus, les résultats illustrés dans les figures 31 et 32 indiquent que le coefficient de corrélation entre l'énergie libre totale de l'adhésion et le caractère donneur d'électrons étudié est très important ($r = 0.97$ à 0.98) dans tous les cas étudiés par rapport à celui obtenu entre l'énergie libre totale de l'adhésion et l'hydrophobicité exprimée en terme de l'angle de contact par rapport à l'eau ($r = 0.95$ à 0.96). Ainsi, il semble clairement que les interactions acido-basiques sont les paramètres principaux qui jouent un rôle important dans ce phénomène d'adhésion. Cependant, dans la littérature scientifique, la contribution de ces propriétés à l'adhésion microbienne et notamment le caractère donneur d'électrons du substrat est moins discuté que celui de la surface cellulaire.

En conclusion, l'analyse complète des résultats obtenus, en utilisant l'approche théorique DLVO étendue, nous a permis de déduire que la variabilité de l'énergie libre totale de l'adhésion dépend essentiellement à la fois de la fraction testée, de la souche et du type de microorganisme étudié. Cette étude nous a également permis de montrer que les conditions d'adhésion sont devenues défavorables dans tous les cas de traitement pour toutes les souches bactériennes et fongiques en influençant les interactions acido-basiques (forces AB).

3.3. Effet des fractions testées sur l'adhésion expérimentale des microorganismes au bois de cèdre

❖ Observation microscopique et quantification de l'adhésion des spores fongiques sur la surface du bois traité par les différentes fractions testées

Les résultats des analyses et l'observation du comportement adhésif des spores de *Penicillium commune* (d''), *Penicillium commune* (d10) et de *Thielavia hyalocarpa* sur le bois de cèdre, avant et après traitement par les différentes fractions des extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis*, par microscope électronique à balayage environnemental sont illustrés dans les figures 33, 34 et 35.

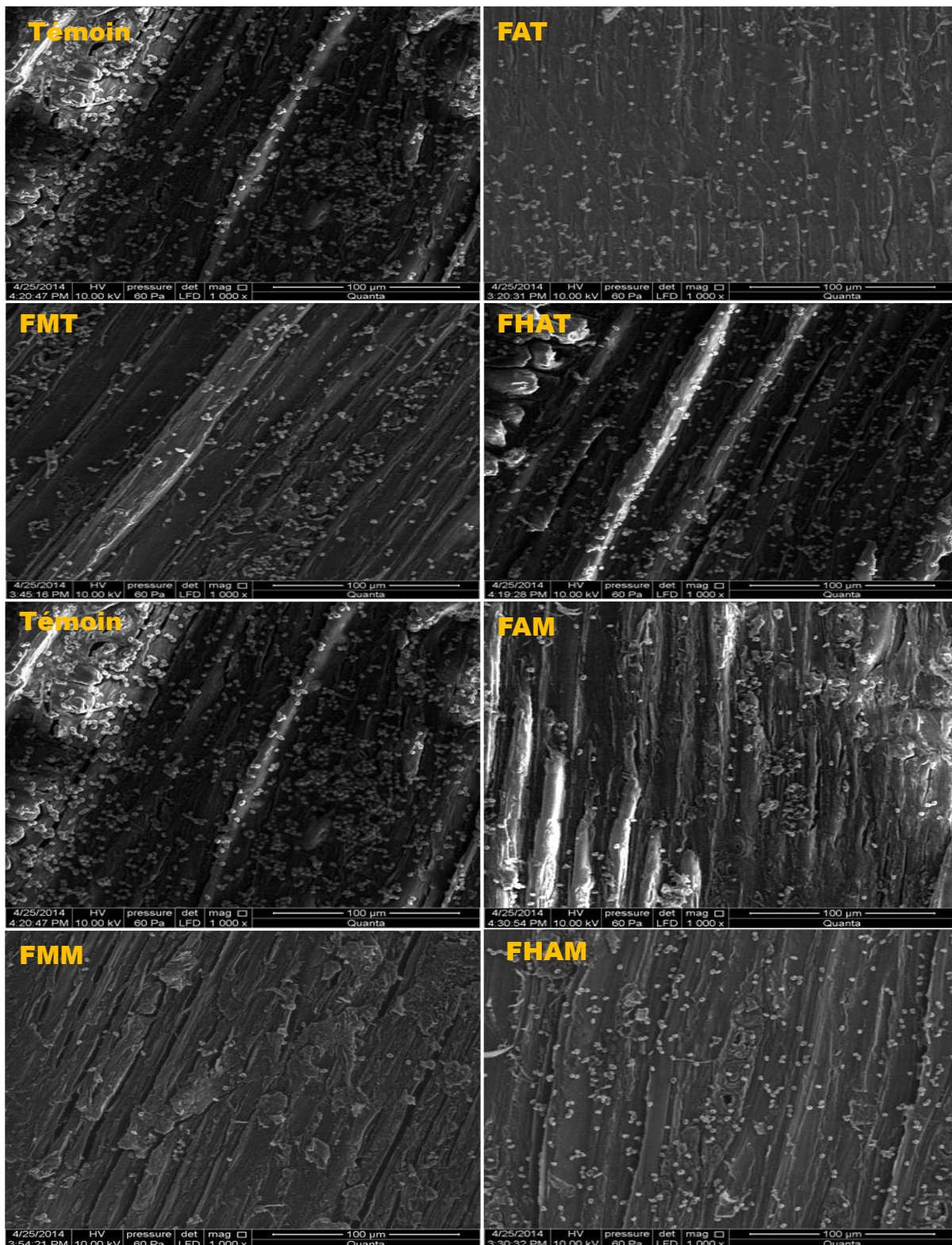


Figure 33 : Clichés microscopiques des spores de *P. commune* (d'') à la surface du bois de cèdre traité avec les fractions d'acétate d'éthyle, méthanol et hexane -acétate d'éthyle de *T. vulgaris* (FAT, FMT, FHAT) et de *M. communis* (FAM, FMM, FHAM) (x 1000).

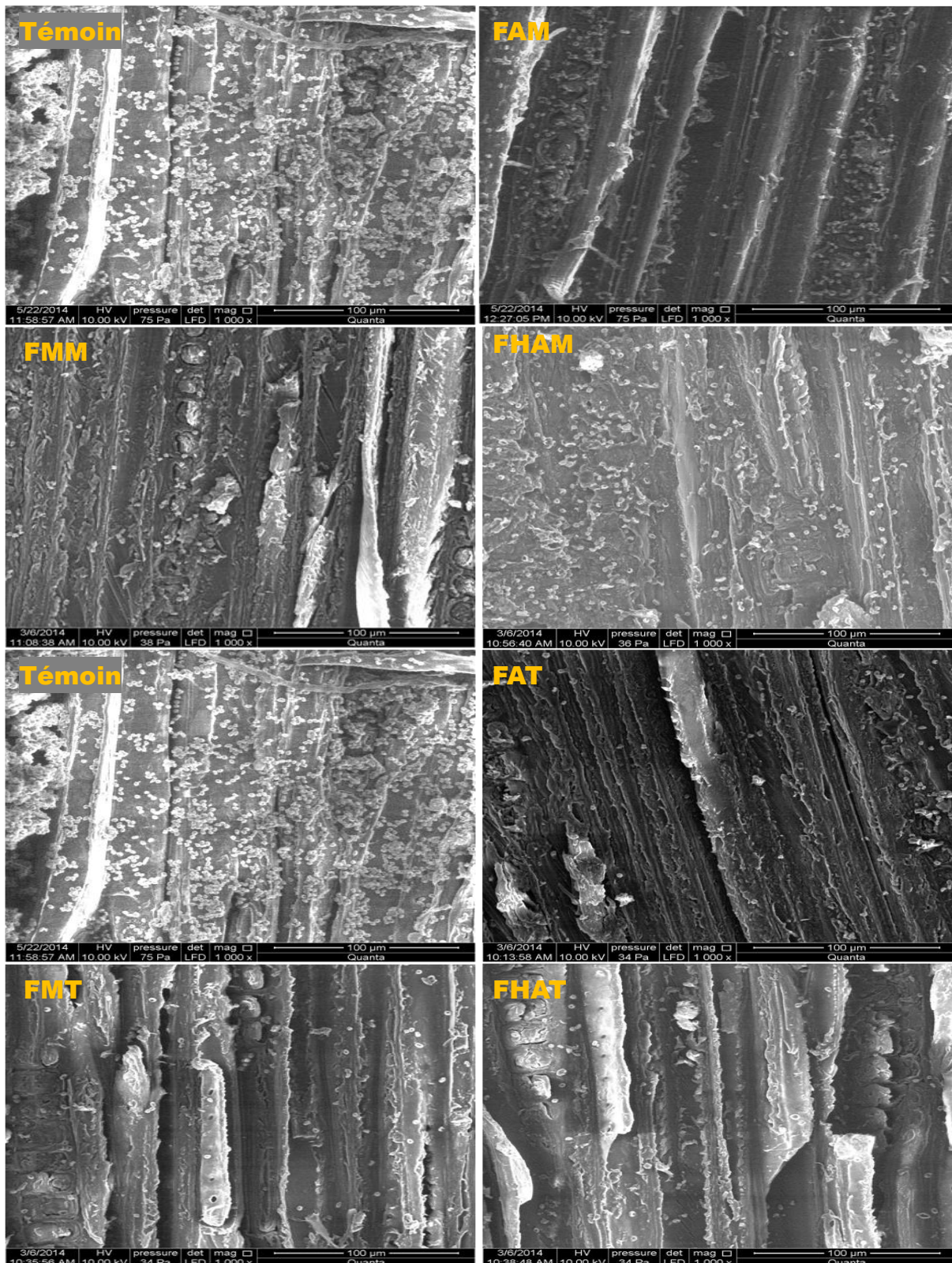


Figure 34 : Clichés microscopiques des spores de *P. commune* (d10) à la surface du bois de cèdre traité avec les fractions d'acétate d'éthyle, méthanol et hexane -acétate d'éthyle de *T. vulgaris* (FAT, FMT, FHAT) et de *M. communis* (FAM, FMM, FHAM) (x 1000).

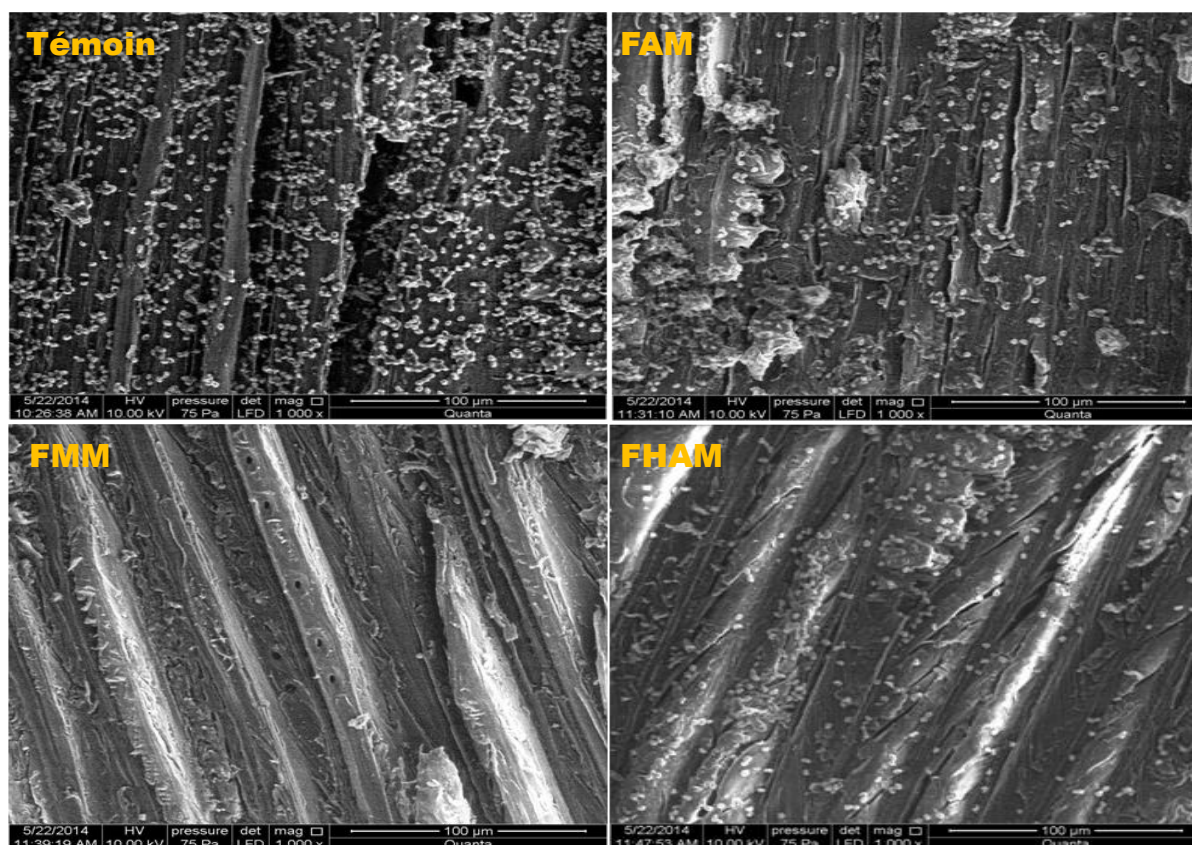


Figure 35 : Clichés microscopiques des spores de *T. hyalocarpa* à la surface du bois de cèdre traité avec les fractions d'acétate d'éthyle, méthanol et hexane -acétate d'éthyle de *M. communis* (FAM, FMM, FHAM) (x 1000).

D'après ces résultats, on observe clairement que toutes les spores fongiques étudiées ont l'aptitude d'adhérer à la surface du bois de cèdre (non traité). Les pourcentages de l'adhésion sont de l'ordre de 63% (*P. commune* (d'')), 85% (*P. commune* (d10)) et 46% pour *T. hyalocarpa* (Tableau 36). De plus, une différence au niveau de l'architecture de l'adhésion de ces spores fongiques a été observée. En effet, les spores de *P. commune* (d10) forment entre elles des amas. En revanche, les spores de *P. commune* (d'') et *T. hyalocarpa* restent beaucoup plus dispersées sous forme des spores isolées ou paires à la surface du bois.

On outre, selon les résultats d'analyse par le logiciel Matlab (Tableau 36), il apparaît clairement que le pourcentage de la surface du bois occupée par les spores fongiques est largement influencé par le traitement et en fonction de la fraction testée. En effet, une diminution de la capacité d'adhésion à la surface du bois a été observée chez toutes les souches étudiées. Ainsi, les pourcentages de l'adhésion présentés par *P. commune* (d'') et *P. commune* (d10) varient de 2 à 15% et de 1 à 9% respectivement (Figure 33 et 34). Des résultats similaires ont été observés dans le cas de *T. hyalocarpa* qui a donné des pourcentages d'occupation à la surface du bois traité allant de 3 à 19% (Figure 35). En plus, les résultats de

la quantification de l'adhésion montrent que pour *M. communis*, la fraction méthanolique a montré une activité antiadhésive plus importante, avec les plus faibles pourcentages de l'adhésion, par rapport à celles données par les fractions acétate d'éthyle et hexane-acétate d'éthyle. Pour le *T. vulgaris*, les résultats indiquent que les fractions FAT et FMT ont exercé un effet antiadhésif plus intéressant que celui montré par la fraction FHAT. Ceci pourrait être lié à leur effet marquant sur les propriétés physicochimiques du bois de cèdre et à la variation de leurs teneurs en composés phénoliques (Tableau 21). De ce fait, dans la partie qui suit, les corrélations entre les caractéristiques physicochimiques du bois et les pourcentages de l'adhésion, ainsi que la comparaison entre l'adhésion théorique et expérimentale des souches fongiques étudiées sont réalisées.

Tableau 36 : Quantification de l'adhésion des spores fongiques étudiées à la surface du bois de cèdre traité avec les différentes fractions des extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis*

Souches	Fractions	Pourcentages de l'adhésion
<i>Penicillium commune</i> (d'')	Témoin	63
	FAT	8
	FMT	8
	FHAT	15
	FAM	4
	FMM	2
	FHAM	6
<i>Penicillium commune</i> (d10)	Témoin	85
	FAT	1
	FMT	8
	FHAT	4
	FAM	4
	FMM	2
	FHAM	9
<i>Thielavia hyalocarpa</i>	Témoin	46
	FAM	8
	FMM	3
	FHAM	19

Les résultats des corrélations entre la physicochimie du bois et l'adhésion expérimentale des spores fongiques étudiées sont résumés dans la figure 36.

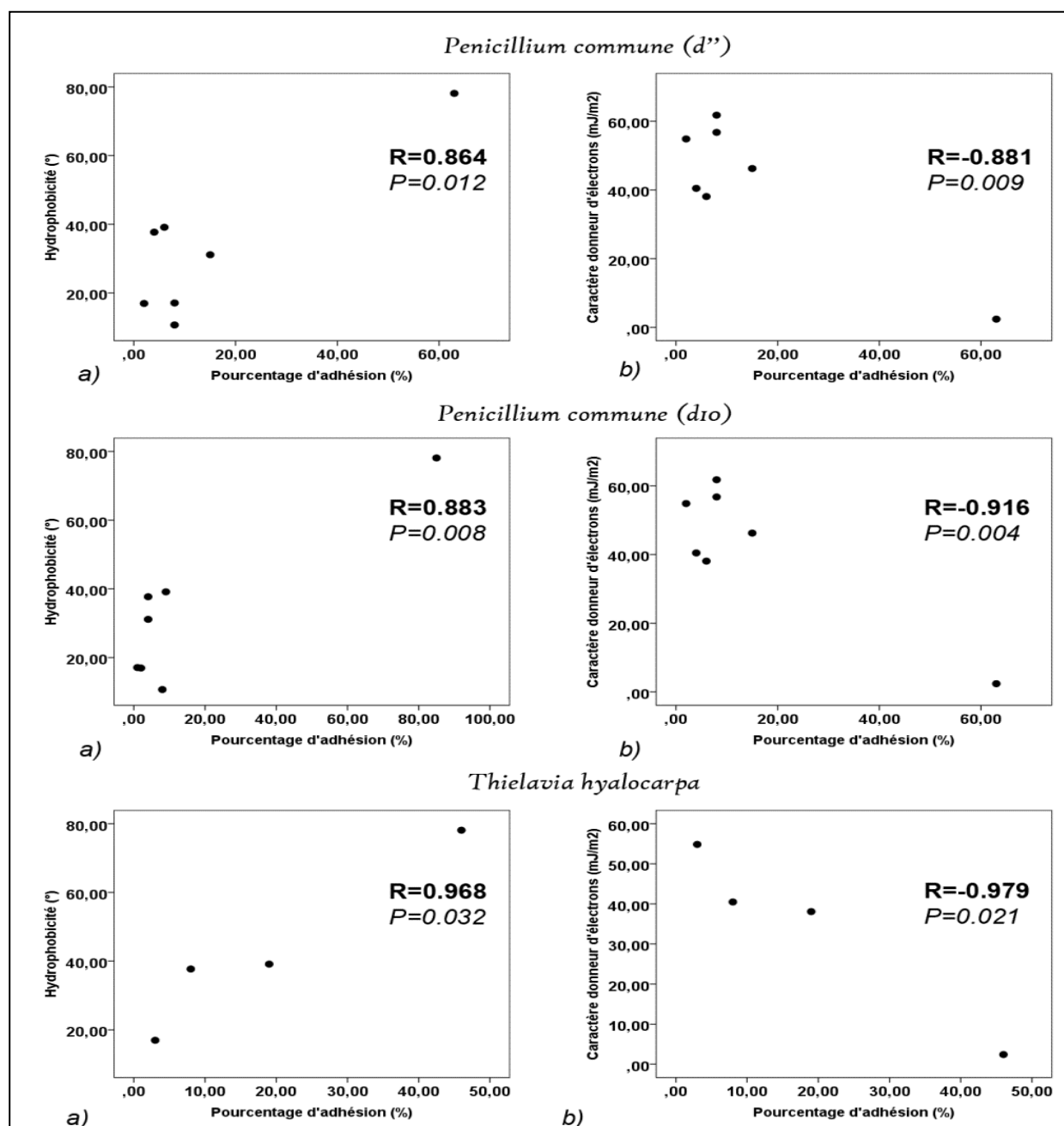


Figure 36 : Corrélation entre le pourcentage de l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre et l'hydrophobicité (a) et le caractère donneur d'électrons (b).

Le caractère hydrophobe/hydrophile de la surface des matériaux est généralement accepté comme un facteur important dans le phénomène de l'adhésion des microorganismes. Dans cette étude, une corrélation positive entre l'adhésion des spores de *P. commune* (d'') ($r = 0.86$), *P. commune* (d10) ($r = 0.88$) et de *T. hyalocarpa* ($r = 0.96$) et l'hydrophobicité, exprimée par l'angle de contact par rapport à l'eau (θ_w), du bois avant et après traitement a été obtenue (Figure 36a). Par conséquent, on pourrait déduire que plus l'hydrophobicité du bois

de cèdre diminue plus le pourcentage de l'adhésion devient faible (répulsion hydrophile/hydrophile). Ceci indique que les interactions hydrophobes sont impliquées dans l'adhésion des spores fongiques étudiées. Ces résultats corroborent ceux rapportés dans plusieurs travaux qui ont montré la corrélation entre l'hydrophobicité et l'adhésion microbienne sur différents supports. El Abed *et al.* (2012a) ont montré que l'adhésion des spores de *Penicillium expansum* est bien corrélée ($r = 0.89$) avec l'hydrophobicité du bois de cèdre en fonction du pH du milieu de suspension. De même, Hamadi *et al.* (2005) ont démontré que l'adhésion de *Staphylococcus aureus* à la surface du verre est inversement corrélée avec son hydrophobicité ($r = -0.81$). Des résultats similaires ont été signalés par d'autres auteurs (Henriques *et al.* 2004, Oliveira *et al.* 2006). Cependant peu sont des investigations qui ont rapporté la contribution des propriétés acido-basiques à ce phénomène. Selon les résultats illustrés dans la figure 36b, l'adhésion des spores de *P. commune* (d''), *P. commune* (d10) et *T. hyalocarpa* est inversement corrélée avec le caractère donneur d'électrons avec des coefficients de corrélation de l'ordre de $r = -0.88$, $r = -0.91$ et $r = -0.97$ respectivement, indiquant que plus le caractère basique (γ^-) du bois augmente plus l'adhésion devient faible à cause des interactions répulsives donneur d'électrons/ donneur d'électrons. Ce qui implique que l'adhésion des spores fongiques étudiées est principalement gouvernée par les interactions acido-basiques. En outre, on note également d'après la figure 36 que la corrélation est bien exprimée dans le cas du caractère donneur d'électrons que l'hydrophobicité pour toutes les souches étudiées, ce qui signifie que les interactions acides-bases jouent un rôle plus important que celui des interactions hydrophobes dans ce phénomène d'adhésion. Ces constatations concordent avec ceux obtenus dans d'autres travaux qui ont rapporté la participation très marquante du caractère donneur/accepteur d'électrons dans l'adhésion des microorganismes aux différents supports (Van Oss 1989, Hamadi *et al.* 2009, 2014, El Abed *et al.* 2011).

La comparaison entre la prédiction théorique, en utilisant l'approche DLVO étendue, et l'adhésion expérimentale des spores fongiques étudiées au bois de cèdre traité a été réalisée. D'après les résultats obtenus, on voit clairement que les résultats de la prédiction théorique de l'adhésion des spores fongiques étudiées (Tableau 35) concordent avec ceux obtenus par le microscope électronique à balayage environnemental (Figure 37) dans tous les cas de traitement. Par conséquent, une corrélation négative entre le pourcentage d'adhésion et l'énergie libre totale de l'adhésion a été enregistrée. En effet, l'analyse microscopique a montré que les spores de *P. commune* (d''), *P. commune* (d10) et *T. hyalocarpa* ont la capacité d'adhérer au bois de cèdre non traité ($\Delta G^{\text{Tot}} < 0$) et que l'adhésion devient défavorable dans

tous les cas de traitement ($\Delta G^{\text{Tot}} > 0$). Nos résultats corroborent avec ceux signalés dans d'autres études qui ont montré une bonne corrélation entre la théorie Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) et l'adhésion expérimentale de quatre souches fongiques à la surface du bois de cèdre (*Penicillium granulatum*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium commune* and *Penicillium chrysogenum*) (El Abed *et al.* 2013).

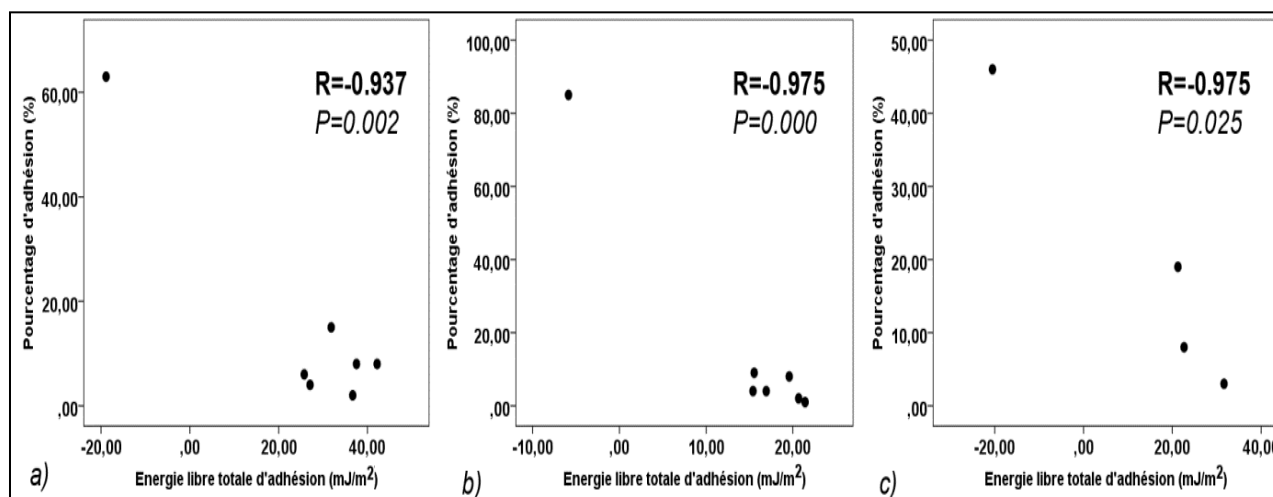


Figure 37 : Corrélation entre l'énergie libre totale d'interaction et le pourcentage de l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois traité. a) : *P. commune* (d''), b) : *P. commune* (d10), c) : *T. hyalocarpa*.

Dans la littérature scientifique, comme nous l'avons déjà signalé, l'exploitation des huiles essentielles de plusieurs plantes médicinales et aromatiques comme agents antibiofilm a été rapportée comme une nouvelle approche biologique de lutte contre la formation des biofilms bactériens et fongiques sur différents support dont le verre, le polyéthylène, le polystyrène et l'acier inoxydable (Taweekaisupapong *et al.* 2012, Rumbaugh et Ahmad 2014, Szczepanski et Lipski 2014, Nithyanand *et al.* 2015). Néanmoins, peu sont les investigations qui ont été publiées sur les biofilms du bois et qui expliquent l'inhibition de l'adhésion microbienne en se basant sur la modification des caractéristiques physicochimiques de la surface des supports par ces molécules volatiles dans l'objectif de réduire les interactions des microorganismes à ces matériaux et de les rendre des surfaces antiadhésives et antimicrobiennes. De ce fait, nous nous sommes intéressés, dans la partie qui suit, à évaluer l'effet des huiles essentielles des deux plantes étudiées sur la physicochimie du bois de cèdre ainsi qu'à étudier leurs capacité antiadhésive vis-à-vis des microorganismes responsables de la détérioration du bois.

4. Effet du temps de contact avec la vapeur des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Myrtus communis* sur la physicochimie du bois et sur l'adhésion microbienne

4.1. Effet de la vapeur des huiles essentielles sur la physicochimie du bois de cèdre

L'hydrophobicité et les propriétés acido-basiques de la surface du bois ont été examinées en fonction du temps de contact avec la vapeur de l'huile essentielle des deux plantes étudiées. D'après les résultats obtenus (Tableau 37), il apparaît que l'hydrophobicité du bois de cèdre est largement influencée qualitativement et quantitativement par le traitement. En effet, les huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* ont augmenté significativement le caractère hydrophobe du bois en fonction du temps de contact par rapport au témoin ($P < 0.001$). Ainsi, les valeurs de l'angle de contact par rapport à l'eau sont comprises entre 89.10 et 110.36° et 91.03 à 100. 20° pour le *T. vulgaris* et *M. communis* respectivement.

Les résultats obtenus montrent également qu'aucune différence significative n'a été observée entre 4h et 6h du traitement pour toutes les deux huiles essentielles testées ($P > 0.05$). Il est à noter également que dans le cas du traitement avec la vapeur de l'huile essentielle de *M. communis*, l'hydrophobicité du bois reste relativement constante après 6h de contact.

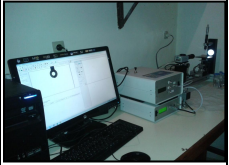
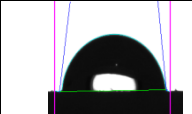
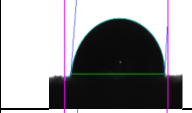
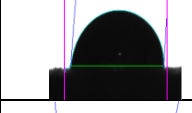
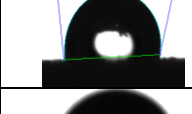
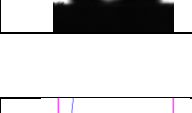
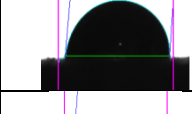
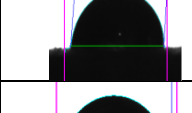
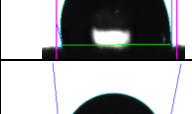
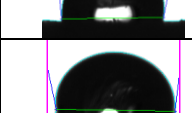
D'après les résultats résumés dans le tableau 38, nous pouvons déduire également que les caractères donneur-accepteur d'électrons sont influencés par le temps de contact et l'huile essentielle testée. Ainsi, les échantillons du bois mis en contact pendant 8 et 10 heures ont exprimé un caractère donneur d'électrons (γ^-) significativement plus élevé que ceux des autres temps et que celui du témoin ($P < 0.001$) avec des valeurs de l'ordre de 5.83 et 4.94 mJ/m^2 ; 4.87 et 3.77 mJ/m^2 pour le *T. vulgaris* et le *M. communis* respectivement.

Pour le caractère accepteur d'électrons, on remarque que les échantillons de bois traités avec la vapeur de l'huile essentielle de *M. communis* pendant 8 et 10 heures ont montré des valeurs plus élevées ($\gamma^+ = 3.79 \text{ mJ/m}^2$, $\gamma^+ = 4.24 \text{ mJ/m}^2$) en comparaison avec les autres échantillons (0h, 4h, 6h et 24h). En revanche, ce paramètre a diminué en fonction du temps de contact (à l'exception de 8h) avec l'huile essentielle de *T. vulgaris*.

En comparaison entre l'effet de la vapeur des deux huiles essentielles sur l'hydrophobicité et les caractéristiques acides-bases du bois de cèdre, il semble clairement que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a exprimé un effet relativement important par rapport à celui de *M. communis*. Ceci peut être dû à la variation de leurs compositions chimiques et de leurs teneurs en

composés oxygénés (composés volatiles) et hydrocarbures (thymol, linanol, carvacrol, 1.8 cinéole, γ -terpinène, p-cymène).

Tableau 37 : Effet du temps de contact avec la vapeur des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* sur l'hydrophobicité et l'énergie libre d'interaction (ΔG_{iwi}) du bois de cèdre

Bois/ <i>T. vulgaris</i>	Angles de contact (°)				
	θ_w	θ_F	θ_D	ΔG_{iwi} (mJ/m ²)	
Bois (0h)	86.06±0.55	36.53±0.30	14.86±0.15	-81.98±0.67	
4h	89.10±0.10***	53.00±1.65	17.80±0.00	-94.29±0.34***	
6h	90.66±0.45***	44.83±0.81	20.80±1.85	-83.23±3.62**	
8h	100.63±0.25***	38.76±0.11	20.56±0.15	-42.50±0.65***	
10h	106.86±0.35***	54.80±0.00	34.56±0.55	-48.23±1.31***	
24h	110.36±2.08***	79.50±0.00	38.10±1.11	-85.82±4.31***	
Bois/ <i>M. communis</i>					
4h	91.03±0.41***	52.40±0.70	21.66±0.81	-96.61±0.45***	
6h	91.30±0.34***	37.63±0.80	20.96±1.85	-65.09±3.50**	
8h	100.20±0.62***	41.40±1.24	26.66±0.11	-43.96±1.77***	
10h	98.83±0.15***	41.90±0.00	33.90±0.20	-44.04±0.51***	
24h	98.56±0.05***	75.80±0.00	22.63±1.47	-68.00±0.13	

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett (comparaisons multiples) par rapport au témoin.

Tableau 38 : Effet du temps de contact avec la vapeur des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* sur le caractère donneur-accepteur d'électrons du bois de cèdre

Bois/ <i>T. vulgais</i>	Energie de surface (mJ/m ²)		
	γ^{LW}	γ^+	γ^-
Bois (0h)	49.01±0.03	2.03±0.04	0.02±0.01
4h	48.29±0.00	0.15±0.10***	0.33±0.17
6h	47.42±0.56	1.32±0.19***	0.13±0.06
8h	47.51±0.04	3.85±0.05***	5.83±0.20***
10h	42.13±0.25	1.89±0.08***	4.94±0.25***
24h	40.46±0.54	0.55±0.10***	0.22±0.22
Bois/ <i>M. communis</i>			
4h	47.17±0.25	0.34±0.06***	0.03±0.02
6h	47.37±0.56	2.83±0.35	0.92±0.20**
8h	45.44±0.04	3.79±0.29**	4.87±0.41***
10h	42.44±0.09	4.24±0.05***	3.77±0.09***
24h	46.85±0.48	1.69±0.08***	1.32±0.01***

Les étoiles (*) représentent les significations statistiques obtenues après l'analyse de la variance avec le test Dunnett (comparaisons multiples) par rapport au témoin.

Il est généralement connu que l'effet antimicrobien des huiles essentielles en phase vapeur est relativement différent de celui exercé en contact direct (Nostro *et al.* 2009, Laghchimi *et al.* 2014, Nadjib *et al.* 2014). En effet, dans le cas du contact direct, l'activité antimicrobienne est principalement due à l'activité de la substance la plus hydrophile et moins volatile, alors que dans le cas contraire, l'effet peut être attribué à la fois aux molécules hydrophiles adsorbées à la surface de gélose et aux composés volatiles (hydrophobes et hydrophiles) libérés dans l'espace de la boîte. Ainsi, la modification des propriétés physicochimiques de la surface du bois de cèdre observée dans cette étude peut être due aux composés volatiles hydrophobes des

huiles essentielles testées libérés dans l'espace et adsorbés au bois. L'augmentation de l'hydrophobicité du bois après traitement par la vapeur de ces huiles essentielles pourrait être expliquée par : i) l'adsorption de leurs composés volatiles à la surface du bois en réagissant avec les groupements hydroxyles des composantes de la paroi cellulaire (cellulose, hémicellulose, lignine), ii) le blindage des groupements hydroxyles des composés du bois en déclenchant une masse supplémentaire à l'intérieur de la paroi cellulaire (gonflement) et crée une surface hydrophobe (Hill 2006, Ermeýdan 2014). Et par, iii) le caractère hydrophobe des huiles essentielles ainsi que leurs composés majoritaires ayant montré une faible solubilité dans l'eau (Griffin *et al.* 1999, Demian 2000, Nieddu *et al.* 2014). Les résultats obtenus dans cette étude concordent en grande partie avec ceux rapportés dans les travaux d'El Abed (2012c), qui ont démontré la modification des caractéristiques physicochimiques et l'augmentation de l'hydrophobicité du bois de cèdre en fonction du temps de contact avec la vapeur de certains composés majoritaires des HE (thymol, carvacrol et cinnémaldéhyde). Ils ont également signalé que la surface de ce matériau présente un caractère donneur d'électrons relativement élevé dans le cas du traitement avec la vapeur du carvacrol et du carvone. En revanche nos résultats ne corroborent pas ceux obtenus par Gorgij *et al.* 2014) qui ont évalué l'effet du contact direct des huiles essentielles de Thym et de Lin avec le bois de Cyprés (*Cupressus arizonica.*) et qui ont montré la diminution de son hydrophobicité après traitement à des valeurs de l'ordre de $\theta_w = 74.75^\circ$ et $\theta_w = 66.75^\circ$ respectivement par rapport au non traité ($\theta_w = 89.75^\circ$).

4.2. Pouvoir antiadhésif de la vapeur des huiles essentielles étudiées vis-à-vis des microorganismes du bois

Le comportement adhésif de *Bacillus subtilis*, *Bacillus safensis* et *P. commune* (d'') à la surface du bois de cèdre, en fonction du temps de contact (0h, 4h et 24h) avec la vapeur des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* a été observé par le Microscope électronique à balayage environnemental.

A la lumière des résultats illustrés dans les figures 38, 39 et 40 on remarque clairement que l'adhésion des microorganismes étudiés est influencée fortement avec le temps de traitement. En effet, une diminution marquante de l'adhésion a été obtenue après 24 heures de contact avec la vapeur des deux huiles essentielles par rapport à 4 heures et au témoin. Il est à noter également que l'huile essentielle de *T. vulgaris* a exercé un effet antiadhésif plus important contre *B. subtilis* et *B. safensis* (Figure 38) que celui prouvé par l'huile essentielle de *M. communis* (Figure 39). Des résultats similaires ont été obtenues dans le cas de *P. commune* (d'').

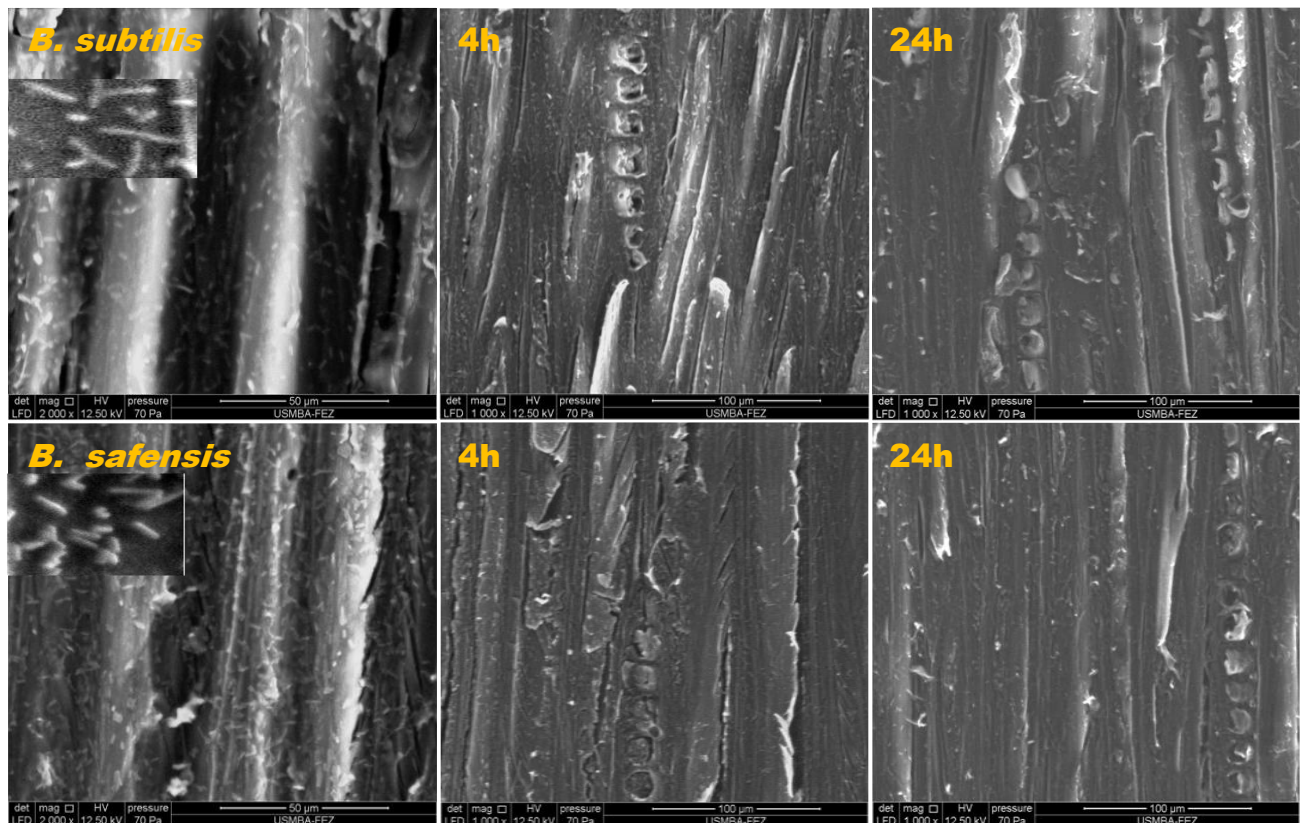


Figure 37 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur de l'huile essentielle de *T. vulgaris* sur l'adhésion de *B. subtilis* et *B. safensis* à la surface du bois évaluée en fonction du temps de traitement (x 1000).

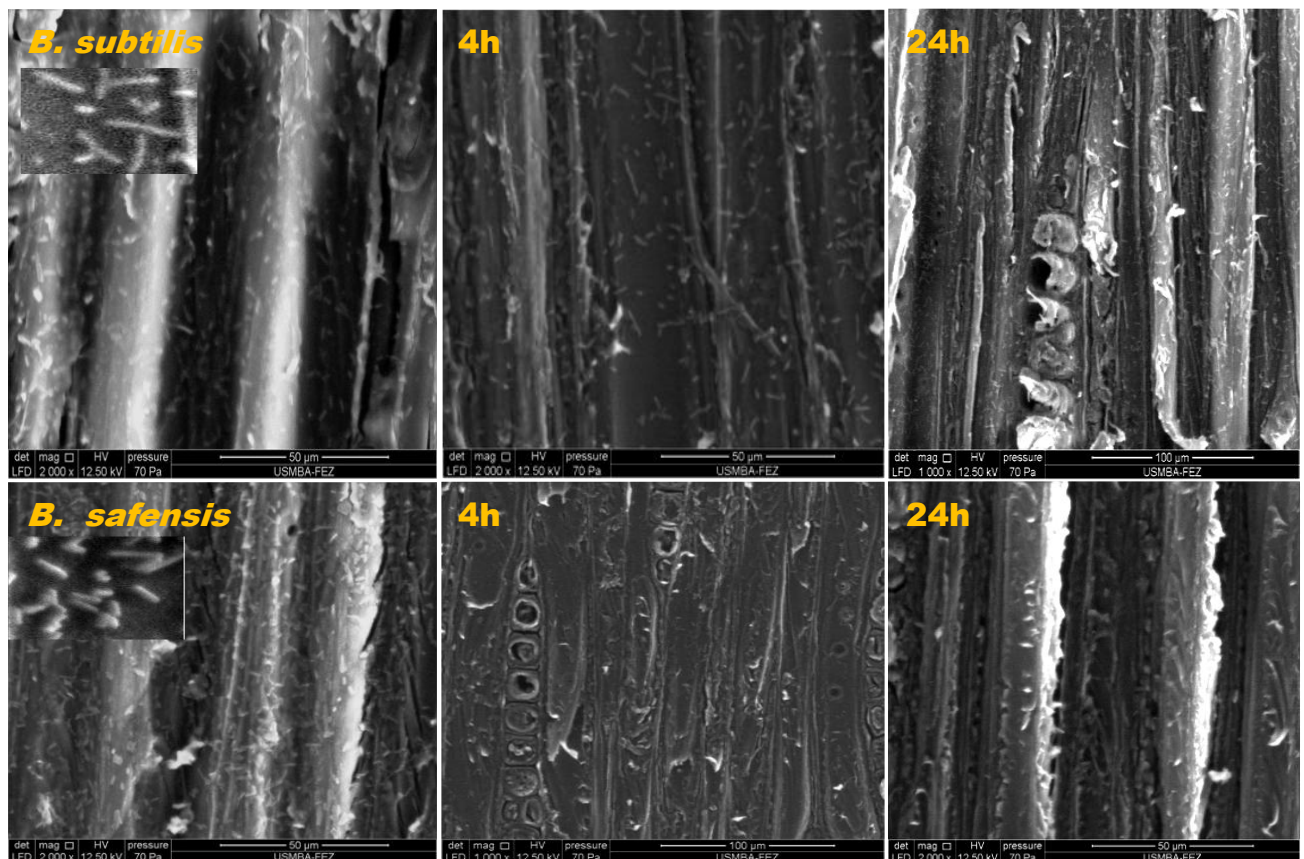


Figure 38 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur de l'huile essentielle de *M. communis* sur l'adhésion de *B. subtilis* et *B. safensis* à la surface du bois évaluée en fonction du temps de traitement (x 1000).

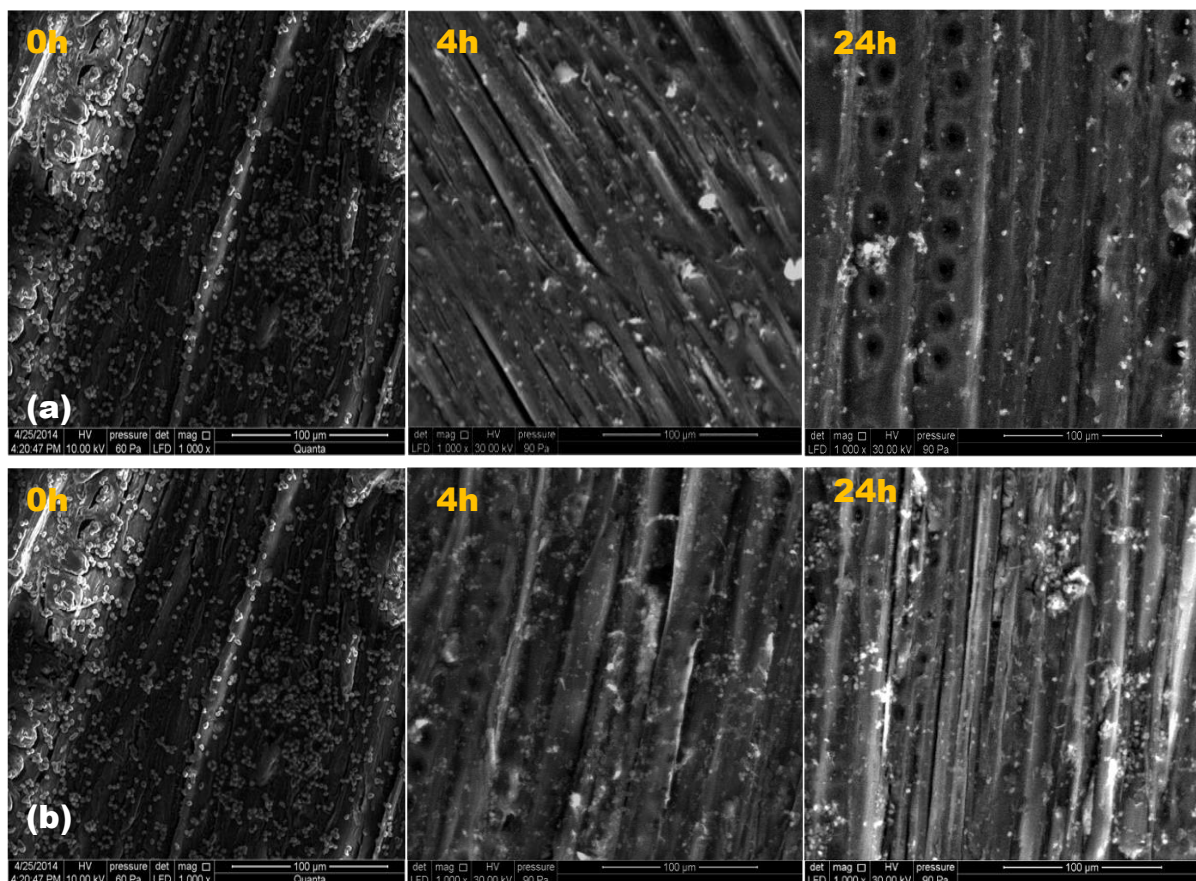


Figure 39 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur de l'huile essentielle de *T. vulgaris* (a) et *M. communis* (b) sur l'adhésion de *P. commune* (d'') à la surface du bois évaluée en fonction du temps de traitement (x 1000).

L'activité antiadhésive montrée par ces deux huiles essentielles dans ce présent travail peut être expliquée à la fois, par leur modification des caractéristiques physicochimiques du bois de cèdre (effet répulsif) et par leur pouvoir antimicrobien et/ou celui de leurs composées majoritaires, en vapeur et/ou en contact direct, démontré dans plusieurs travaux (Xu *et al.* 2008, Aleksic et Knezevic 2014, Boukhatem *et al.* 2014, Boskovic *et al.* 2015, Giarratana *et al.* 2016). Ces constatations concordent avec ceux obtenus par El Abed (2012c) qui a rapporté que l'adhésion de *Penicillium expansum* à la surface du bois traité avec la vapeur du carvacrol a diminué en fonction du temps (6h, 10, 20h et 24h). D'autre auteurs ont également rapporté l'activité antiadhésive et antibiofilm des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. communis* contre un ensemble de microorganismes pathogènes sur différents matériaux (Cannas *et al.* 2014, Miladi *et al.* 2016).

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le bois de cèdre, comme toutes les surfaces inertes, est un site potentiel pour la formation des biofilms après l'adhésion initiale des micro-organismes. Ces derniers se nourrissant de ses ressources en causant la détérioration de son aspect physique, esthétique et de ses propriétés mécaniques conduisant ainsi à des pertes socioéconomiques importantes. De ce fait, l'objectif principal de ce travail de thèse est la préservation du patrimoine culturel et historique de l'ancienne médina de Fès, par la mise au point d'un traitement du bois de cèdre, à des propriétés antiadhésives et antimicrobiennes, basé sur l'exploitation des plantes aromatiques et médicinales.

La première partie de nos travaux a été donc consacrée à l'isolement et l'identification des microorganismes colonisateurs du bois de cèdre, au niveau d'un portail d'une ancienne maison et une fenêtre d'une maison en ruine à l'ancienne Médina de Fès. Les résultats montrent que ces sites sont riches en microorganismes. Ainsi, nous avons pu isoler un nombre total de 24 isolats microbiens, dont dix isolats fongiques et quatorze isolats bactériens. Nous avons pu identifier et séquencer sept isolats dont quatre bactéries appartenant au genre *Bacillus* et trois champignons appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Certaines espèces comme *Bacillus subtilis*, *Penicillium citrinum* et *Aspergillus niger* ont été communément isolées du bois dans plusieurs travaux de recherche. Néanmoins, d'autres comme *Bacillus safensis* et *Bacillus Licheniformis* n'ont jamais été isolées de ce matériau.

Dans la deuxième partie, la préparation des extraits volatils (huiles essentielles) et non volatils (extraits bruts) de plantes étudiées ainsi que leurs analyses phytochimiques a été réalisée. La détermination des rendements en huile essentielle montre que le *T. vulgaris* a fourni un rendement de $1.73 \pm 0.21\%$, contre seulement $0.85 \pm 0.05\%$ pour le *M. communis*.

L'analyse par couplage chromatographie (CPG- MS) de l'huile essentielle de *T. vulgaris*, obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne fraîche, a permis d'identifier 29 composés constituant 88.6% de la composition totale de l'huile dont les composés majoritaires sont le thymol, le γ -terpinène, le p-cymène, le linalool et le carvacrol. Concernant l'huile essentielle de *M. communis* (feuilles), 47 composés ont été identifiés et constituent 97.89% de la composition chimique totale ; les composés dominants étant le 1.8-cinéol, l' α -pinène, le limonène et l'acétate de myrtényle.

Les rendements enregistrés avec les extraits bruts obtenus par macération varient entre un minimum de $7.11 \pm 2.06\%$, épuisé de la poudre végétale de *T. vulgaris* et un maximum de

16.33±2.00 %, fourni par *M. communis*. Pour l'extraction par ultrason, le *M. communis* a donné un rendement de 14.33±1.11%, contre seulement 6.51±1.28 % pour le *T. vulgaris*.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins et des quinones dans tous les extraits bruts obtenus par macération et ultrason, alors qu'ils sont tous dépourvus des alcaloïdes. En plus, les leucoanthocyanes ont été uniquement révélés dans l'extrait de *M. communis* (M₃₅) obtenu par ultrason.

La teneur en phénols totaux et en flavonoïdes est variable entre les différentes plantes ainsi qu'entre les différents extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction. Ainsi, les teneurs en polyphénols totaux des extraits de *M. communis* sont de l'ordre de 161.4±9.89 mg EAG/g pour l'extrait M_m obtenu par macération et de 201.4±9.80 mg EAG/g pour l'extrait obtenu par ultrason (M₃₅). Alors que dans le cas du *T. vulgaris*, les concentrations sont de 171.4± 6.84 et 191.4±8.48 mg EAG/g pour les extraits T_m et T₃₅ respectivement. Concernant les flavonoïdes, les extraits bruts de *T. vulgaris* ont donné des teneurs comprises entre 60.82±2.26 et 94.94± 0.67 mg EQ/g. Ces teneurs sont relativement similaires à celles enregistrées par les extraits de *M. communis*. Nos résultats de dosage ont permis également de conclure que l'ultrason permet d'extraire des teneurs élevées en composés phénoliques par rapport à la macération.

Le fractionnement des extraits méthanoliques de *T. vulgaris* (T₃₅) et de *M. communis* (M₃₅) obtenus par ultrason, a permis d'obtenir six fractions : deux fractions hexane-acétate d'éthyle (FHA), deux fraction acétate d'éthyle (FA) et deux fractions méthnoliques (FM). Ces dernières ont fourni des rendements plus élevés que ceux donnés par les fractions hexane-acétate d'éthyle et acétate d'éthyle.

La suite de nos travaux a été centrée sur l'évaluation des activités antimicrobienne *in vitro* des extraits et des huiles essentielles des deux plantes aromatiques et médicinales étudiées en utilisant les méthodes suivantes : méthode de diffusion sur disque, méthode de diffusion sur des puits d'agar et la méthode de microdilution. Les résultats obtenus ont montré des activités antimicrobiennes variables des extraits de *M. communis* et *T. vulgaris*, obtenus par ultrason et macération, contre les différentes souches étudiées. On a pu conclure que les extraits de *Myrtus communis* ont témoigné une grande activité antibactérienne en comparaison avec les extraits de *Thymus vulgaris*. Cet effet inhibiteur important des extraits de *M. communis* est confirmé par leurs faibles concentrations minimales inhibitrices allant de 0.156 à 0.312 mg/ml vis-à-vis de *B. subtilis*, *B. safensis* et *B. licheniformis*. Concernant l'activité antifongique, les extraits des deux plantes étudiées se sont trouvés non efficaces sur les champignons étudiés.

Cependant, les extraits obtenus par ultrason ont donné une activité inhibitrice plus au moins considérable.

L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles des deux plantes étudiées montrent que toutes ces huiles sont pourvues d'un pouvoir inhibiteur intéressant contre les souches bactériennes et fongiques du bois testées et que le meilleur effet est enregistré par *T. vulgaris*. Cette importante activité antibactérienne du *T. vulgaris* est confirmée par ses valeurs de CMI qui sont inférieures 8, 16 et 32 fois à celles enregistrées par l'huile essentielle de *M. communis* contre *B. licheniformis*, *B. safensis* et *B. subtilis* respectivement. En outre, Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles montrent que les CMI de *T. vulgaris* sont 8 fois plus faibles que ceux de *M. communis* vis-à-vis de *Penicillium commune* (d10), *Penicillium commune* (d'') et *Thielavia hyalocarpa*.

Bien que l'identification des agents microbiens qui sont à l'origine de la biodétérioration du bois ainsi que l'évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits préparés soit une étape importante dans la lutte contre ces microorganismes, la recherche et le développement des traitements efficaces à profils économiques et environnementaux, dans le domaine de la préservation/ et ou la conservation des matériaux du patrimoine culturel et historique, reste un challenge et s'avère plus intéressante. De ce fait, la troisième partie de cette thèse s'est focalisée sur : i) la caractérisation physicochimique de la surface du bois ainsi que les microorganismes qui lui sont attachés, et ii) l'étude de l'effet des extraits, leurs différentes fractions et des huiles essentielles préparées sur la physicochimie du bois de cèdre et leur pouvoir antiadhésif vis-à-vis des microorganismes responsable de sa biodégradation. Pour ce faire, la méthode d'angle de contact dédiée à l'analyse fine des surfaces a été mise en œuvre afin de caractériser la surface du bois de cèdre et celles des microorganismes étudiés en termes d'hydrophobicité et les composantes accepteur/donneurs d'électrons. Les résultats montrent que le bois de cèdre présente un caractère hydrophobe qualitativement et quantitativement avec des valeurs de $\theta_w = 86.06 \pm 0.21^\circ$ et $\Delta G_{\text{wi}} = -81 \text{ mJ/m}^2$ et des propriétés acido-basiques (γ^+ , γ^-) relativement faibles. Concernant les microorganismes attachés à la surface du bois, les résultats indiquent que l'ensemble des souches étudiées présentent un caractère hydrophile avec les valeurs de l'angle de contact par rapport à l'eau allant de $18.6 \pm 0.72^\circ$ à $41.9 \pm 0.63^\circ$, un caractère donneur d'électrons (γ^-) élevé et un caractère accepteur d'électrons (γ^+) faible.

La caractérisation physicochimique de la surface du bois après traitement par les extraits de *T. vulgaris* et de *M. communis*, obtenus par deux méthodes d'extraction, a été réalisée. Les résultats de ces travaux ont tout d'abord permis de mettre en lumière la présence d'une modification significative des propriétés physicochimiques du bois. En effet, ce traitement a diminué significativement l'hydrophobicité de la surface du bois aussi bien du point de vue qualitative que quantitative et il a augmenté son caractère donneur d'électrons (γ^-) à des valeurs allant de 43.24 ± 0.38 à 53.80 ± 0.3 mJ/m². Cependant, son caractère accepteur d'électrons (γ^+) est faiblement influencé par le traitement. En comparaison entre le traitement avec les extraits obtenus par macération et ceux récupérés par ultrason, on peut conclure que les échantillons de bois traités par les extraits de *T. vulgaris* et *M. communis* récupérés par ultrason sont devenus plus hydrophiles et donneurs d'électrons par rapport à ceux traités par les extraits obtenus par macération.

Pour approfondir notre compréhension quant à l'effet des extraits de *Thymus vulgaris* et de *M. communis* sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre, l'utilisation de la microscopie électronique à balayage Environnemental (MEBE) ainsi que l'exploitation du programme Matlab® afin de quantifier l'adhésion a été jugée nécessaire. L'analyse des résultats indique que tous les extraits testés ont diminué significativement le comportement adhésif de *P. commune* à la surface de bois après traitement. En effet, les pourcentages d'adhésion enregistrés après traitement allant de 33 à 68% sont faibles par rapport au témoin (79%). De plus, il apparaît clairement que les extraits obtenus par ultrason exercent un pouvoir antiadhésif plus efficace que celui de ceux obtenus par macération. Suite à ces résultats, les travaux se sont rapidement portés et concentrés sur les extraits obtenus par ultrason. Ainsi, l'étude de l'effet de différentes fractions de ces extraits sur les propriétés physicochimiques du bois, ainsi que sur l'adhésion théorique et expérimentale des microorganismes étudiés à la surface du bois avant et après traitement a été réalisée.

La détermination des propriétés physicochimiques du bois traité par ces fractions nous a permis de déduire que les fractions méthanoliques présentent un effet très important sur la physicochimie du bois (diminution de l'hydrophobicité et augmentation du caractère donneur d'électrons) suivi de celui des fractions acétate d'éthyle et hexane-acétate d'éthyle. L'analyse complète des résultats de la prédiction théorique de l'adhésion, en utilisant l'approche théorique DLVO étendue, nous a permis de déduire que la variabilité de l'énergie libre totale de l'adhésion dépend essentiellement à la fois de la fraction testée, de la souche et du microorganisme étudié. De même, les résultats montrent que les conditions d'adhésion sont

devenues défavorables ($\Delta G^{\text{Tot}} < 0$) dans tous les cas de traitement pour toutes les souches bactériennes et fongiques en influençant largement les forces acido-basiques (AB) que celles de Lifshitz -Van der Waals (LW).

L'analyse des images obtenus par MEBE ainsi que la quantification de l'adhésion par le logiciel Matlab nous a permis de conclure clairement que toutes les spores fongiques étudiées ont l'aptitude d'adhérer à la surface du bois de cèdre (non traité) et que cette adhésion est très influencée par le traitement. Selon leurs activités antiadhésives vis-à-vis des champignons étudiées, le classement des fractions de l'extrait de *M. communis* est comme suit : fractions méthanoliques > fractions acétate d'éthyle > fractions hexane-acétate d'éthyle. Concernant le *T. vulgaris*, la fraction acétate d'éthyle a exercé un effet antiadhésif important par rapport aux deux autres fractions.

La comparaison entre la prédiction théorique, en utilisant l'approche DLVO étendue, et l'adhésion expérimentale des spores fongiques étudiées au bois de cèdre à l'état natif et après traitement a été réalisée. Les résultats de la prédiction théorique de l'adhésion des spores fongiques étudiées sont cohérents avec ceux donnés par l'adhésion expérimentale.

L'étude de l'effet de la vapeur des huiles essentielles des deux plantes étudiées sur la physicochimie du bois de cèdre ainsi que sur sa capacité antiadhésive vis-à-vis des microorganismes responsables de la détérioration du bois a été réalisée. Cette étude nous a permis de conclure que la vapeur des huiles essentielles a augmenté l'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons du bois de cèdre en fonction du temps de contact. De même, une diminution marquante de l'adhésion a été observée après 24 heures du contact avec la vapeur des deux huiles essentielles et que le meilleur effet antiadhésif a été donné par la vapeur de l'huile essentielle de *T. vulgaris*.

Dans son ensemble, le travail réalisé permet de conclure que les extraits des deux plantes aromatiques et médicinales étudiées ainsi que leurs huiles essentielles pourront servir dans le développement de nouvelles formulations efficaces et des stratégies préventives innovantes, visant à limiter l'adhésion des microorganismes au bois de cèdre et par conséquent la préservation de notre patrimoine architecturale. De ce fait, il serait très judicieux d'étudier un certain nombre de perspectives à l'issue de ce travail à citer :

- L'analyse des fractions ayant montré une forte activité antiadhésive par l'HPLC et de déterminer les molécules actives ainsi que leurs modes d'action pour déceler la configuration qui permet d'obtenir une meilleure protection du bois.

- L'effet des mélanges des extraits de plantes (HE ou extrait bruts) par l'application du plan d'expérience et méthode des surfaces de réponses sur la physicochimie du bois et l'adhésion microbienne.
- L'évolution de la physicochimie du bois traité à plus long terme (vieillessement) et étude de la capacité de rétention (effet du lessivage) de ces extraits dans les parois cellulaires du bois afin de prouver sa protection durable et assurée.
- L'effet des extraits de plantes sur les propriétés mécaniques (compression et fissuration) du bois.
- l'adhésion et l'antiadhésion de multi-souches microbiennes à la surface du bois de cèdre.
- Formulations à base de ces produits naturels pour la préservation du bois de cèdre.
- Exploitation de la valeur bioéconomique des formulations réalisées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelkader, S., Hamed, M., 2013. In-vitro studies on wood degradation in soil by soft-rot fungi : *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 78, 98–102.
- Absolom, D.R., Lamberti, F.V., Policova, Z., Zingg, W., Van Oss, C.J., Neumann, A.W., 1983. Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Applied and Environmental Microbiology*, 46, 90–97.
- Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography. 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois pp. 804.
- Adetunji, V.O., Isola, T.O., 2011a. Crystal Violet Binding Assay for Assessment of Biofilm Formation by *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp on Wood , Steel and Glass Surfaces. *Global Veterinaria*, 6, 6–10.
- Adetunji, V.O., Isola, T.O., 2011b. Adhesion of *E. coli* and *E. coli* O157 H7 Isolates from a Typical Tropical Abattoir on Wood, Steel and Glass Surfaces. *Research Journal of Microbiology*, 6, 669–677.
- Aguilar-Uscanga, B., François, J.M., 2003. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in Applied Microbiology*, 37, 268–274.
- Aidi Wannes, W., Mhamdi, B., Marzouk, B., 2007. Essential oil composition of two *Myrtus communis* L. varieties grown in North Tunisia. *The Italian journal of biochemistry*, 56, 180–186.
- Aidi Wannes, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M.E., Marzouk, B., 2010. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1362–1370.
- Akin, M., Aktumsek, A., Nostro, A., 2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, 9, 531–535.
- Al-Bayati, F.A., 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 116, 403–406.
- Aleksic, V., Knezevic, P., 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological research*, 169, 240–254.
- Allaf, T., Tomao, V., Ruiz, K., Chemat, F., 2013. Instant controlled pressure drop technology and ultrasound assisted extraction for sequential extraction of essential oil and antioxidants. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 239–246.
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., Guedira, A., Chaouch, A., 2011. Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 158, 513–523.

- Amenour, M., Bouhdid, S., Fernández-López, J., Idaomar, M., Senhaji, N.S., Abrini, J., 2010. Antibacterial Activity of Extracts of *Myrtus communis* Against Food-Borne Pathogenic and Spoilage Bacteria. *International Journal of Food Properties*, 13, 1215–1224.
- Amiot, J., 2005. Thèse de doctorat à École nationale supérieure agronomique (Montpellier): *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires.
- Andersson, S., Dalhammar, G., Land, C.J., Kuttuva Rajarao, G., 2009. Characterization of extracellular polymeric substances from denitrifying organism *Comamonas denitrificans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82, 535–543.
- Araujo, S. de O., Vital, B.R., Oliveira, B., Carneiro, A. de C.O., Ana, L., Pereira, H., 2016. Physical and mechanical properties of heat treated wood from *aspidosperma populifolium*, *dipteryx odorata* and *mimosa scabrella* (AOP Paper). *Maderas. Ciencia y Tecnologia*, 18, 143–156.
- Aro, N., Pakula, T., Penttilä, M., 2005. Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. *FEMS microbiology reviews*, 29, 719–739.
- Asbahani, A. El, Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E.H.A., Casabianca, H., Mousadik, A. El, Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F.N.R., Elaissari, A., Lyon, C.B., 2015. Essential oils : From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483, 220–243.
- Ashori, A., Matini Behzad, H., Tarmian, A., 2013. Effects of chemical preservative treatments on durability of wood flour/HDPE composites. *Composites Part B: Engineering*, 47, 308–313.
- Assami, K., Pingret, D., Chemat, S., Meklati, B.Y., and Chemat, F., 2012. Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 62, 99–105.
- Aviat, F., Gerhards, C., Rodriguez-Jerez, J.J., Michel, V., Bayon, I. Le, Ismail, R., Federighi, M., 2016. Microbial Safety of Wood in Contact with Food: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 491–505.
- Aydin, I. and Colakoglu, G., 2007. Variation in surface roughness, wettability and some plywood properties after preservative treatment with boron compounds. *Building and Environment*, 42, 3837–3840.
- Bakar, B.F.A., Hiziroglu, S., and Tahir, P.M., 2013. Properties of some thermally modified wood species. *Materials & Design*, 43, 348–355.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Bami, L.K., Mohebbi, B., 2011. Bioresistance of poplar wood compressed by combined hydro-thermo-mechanical wood modification (CHTM): Soft rot and brown-rot. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65, 866–870.
- Banerjee, I., Pangule, R.C., Kane, R.S., 2011. Antifouling coatings: Recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms. *Advanced Materials*, 23, 690–718.

- Bang, J., Hong, A., Kim, H., Beuchat, L.R., Rhee, M.S., Kim, Y., Ryu, J.H., 2014. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in biofilm on food-contact surfaces by sequential treatments of aqueous chlorine dioxide and drying. *International journal of food microbiology*, 191, 129–34.
- Barbieri, D.S. V, Tonial, F., Lopez, P.V. A, Sales Maia, B.H.L.N., Santos, G.D., Ribas, M.O., Glienke, C., Vicente, V. A, 2014. Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Archives of oral biology*, 59, 887–896.
- Barkai, H., El Abed, S., Sadiki, M., Iraqui Houssaini, M., et Ibnsouda Koraichi, S., 2014. A Study on the Impact of the Adhesion of *Penicillium expansum* on the Physicochemical Surface Properties of Cedar Wood. *The Journal of Adhesion*, 92, 341–348.
- Barkai, H., Sadiki, M., El Abed, S., Boutahari, S., Ibnsouda Koraichi, S., 2015a. The-Effect-of-Carvacrol-and-Carvone-Treatments-on-the-Cedar-Wood-SurfacePhysico-chemical Properties. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 6, 767–771.
- Barkai, H., Sadiki, M., El Abed, S., Moustakhim, M., Iraqui Houssaini, M., Ibnsouda Koraichi, S., 2015b. Comparison of the evolution of Physico-chemical properties due to the single and combined adhesion of two species of the *Penicillium* genus on cedar wood. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6, 749–755.
- Barkai, H., El abed, S., Sadiki, M., Balouiri, M., et Koraichi Ibnsouda, S., 2016a. Antifungal Activity and Physico-chemical Surface Properties of the Momentaneously Exposed *Penicillium expansum* Spores to Carvacrol. *Research Journal of Microbiology*, 11, 178–185.
- Barkai, H., Elabed, S., Sadiki, M., Balouiri, M., Maataoui, H., et Koraichi, I.S., 2016b. Evaluation of Hydrophobic-hydrophilic Properties and Anti-adhesive Potential of the Treated Cedar Wood by Two Essential Oil Components Against Bioadhesion of *Penicillium expansum* Spores. *Journal of Applied Sciences*, 16, 372–379.
- Barkai, H., Elabed, S., Sadiki, M., Boutahari, S., Mounyr, B., and Omar, E.F., 2016c. The Effect of Cellulase Treatment Time on the Cedar Wood Surface Physicochemical Properties. *American Journal of Advanced Scientific Research*, 3, 296–304.
- Barkai, H., Elabbed, S., Sadiki, M., Balouiri, M., et Ibnsouda, K.S., 2016d. Impact of enzymatic treatment on wood surface free energy: contact angle analysis. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 4243, 1–9.
- Barrasa, J.M., Blanco, M.N., Esteve-raventós, F., Altés, A., Checa, J., Martínez, A.T., Ruiz-dueñas, F.J., 2014. Wood and humus decay strategies by white-rot basidiomycetes correlate with two different dye decolorization and enzyme secretion patterns on agar plates. *Fungal Genetics and Biology*, 72, 106–114.
- Bazargani, M.M. and Rohloff, J., 2016. Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. *Food Control*, 61, 156–164.
- Bellakhdar, J., 1997. Pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoir populaire. Paris: Ibis Press.pp 764.
- Bellon-Fontaine, M.N., Mozes, N., van der Mei, H.C., Sjollem, J., Cerf, O., Rouxhet, P.G., et Busscher, H.J., 1990. A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell biophysics*, 17, 93–106.

- Bellon-Fontaine, M.-N., Rault, J., and Van Oss, C.J., 1996. Microbial adhesion to solvents : a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 7, 47–53.
- Bellon-Fontaine, M. et Vernhet, A., 1999. Adhésion de particules et de microorganismes aux surfaces solides. In *Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bioindustries. In: Technique et Documentation Lavoisier*). Paris, pp. 25–40.
- Belmimoun, A., Meddah, B., Meddah, A.T.T., et Sonnet, P., 2016. Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic extracts of *Myrtus communis* and *Zygophyllum album* from Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8, 510–524.
- Ben Hsouna, A., Hamdi, N., Miladi, R., Abdelkafi, S., 2014. *Myrtus communis* essential Oil: Chemical composition and antimicrobial activities against food spoilage pathogens. *Chem. Biodiversity*, 11, 571–580.
- Benabid, A., 2000. Flore et écosystèmes du Maroc: évaluation et préservation de la biodiversité.. Ibis Press, pp 359.
- Bencheqroun, H.K., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., et Chaouch, A., 2012. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la Societe Royale des Sciences de Liege*, 81, 4–21.
- Bengourram, J., Hamadi, F., Mabrouki, M., Kouider, N., Zekraoui, M., Ellouali, M., et Latrach, H., 2009. Relationship between roughness and physicochemical properties of glass surface and theoretical adhesion of bacterial cells. *Physical & chemical news*, x, 138–144.
- Besombes, C., 2008. Thèse de doctorat de l'Univesité de la Rochelle: Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées.
- Bird, S., 2003. African aromatherapy: past, present and future applications. *International Journal of Aromatherapy*, 13, 185–195.
- Björdal, C.G., 2012. Microbial degradation of waterlogged archaeological wood. *Journal of Cultural Heritage*, 13, S118–S122.
- Blanchette, R.A., 2000. A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46, 189–204.
- Blanchette, R. A., Held, B.W., Jurgens, J.A., Mcnew, D.L., Harrington, T.C., Shona, M., Farrell, R.L., Duncan, S.M., 2004. Wood-Destroying Soft Rot Fungi in the Historic Expedition Huts of Antarctica. *Applied and environmental microbiology*, 70, 1328–1335.
- Bokaeian, M., Amini-boroujeni, N., Sahi, Z., Saeidi, S., 2014. Antibacterial activities of *Myrtus communis* L extract against multi-drug resistant *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of biosciences*, 4, 254–259.
- Boles, B.R. Horswill, A.R., 2008. agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS Pathogens*, 4, xxx-xxx.

- Bonsaglia, E.C.R., Silva, N.C.C., Fernades Júnior, A., Araújo Júnior, J.P., Tsunemi, M.H., Rall, V.L.M., 2014. Production of biofilm by *Listeria monocytogenes* in different materials and temperatures. *Food Control*, 35, 386–391.
- Boonaert, C.J.P., Rouxhet, P.G., 2000. Surface of Lactic Acid Bacteria: Relationships between Chemical Composition and Physicochemical Properties Surface of Lactic Acid Bacteria: Relationships between Chemical Composition and Physicochemical Properties. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2548–2554.
- Bos, R., Van Der Mei, H.C., and Busscher, H.J., 1999. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions - Its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiology Reviews*, 23, 179–229.
- Boskovic, M., Zdravkovic, N., Ivanovic, J., Janjic, J., Djordjevic, J., Starcevic, M., Baltic, M.Z., 2015. Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms. *Procedia Food Science*, 5, 18–21.
- Bouhdid, S., Abrini, J., Zhiri, a, Espuny, M.J., Manresa, A., 2009. Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Origanum compactum* essential oil. *Journal of applied microbiology*, 106, 1558–68.
- Bouhdid, S., Abrini, J., Boudoux, D., Mamresa, A., Zhiri, A., 2012. Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal of pharmacie clinique*, 31, 141–148.
- Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., 2014. Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris* L) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy. *International journal of innovation and applied studies*, 8, 1418–1431.
- Boulangé-Petermann, L., Rault, J., Bellon-Fontaine, M.N., 1997. Adhesion of *Streptococcus thermophilus* to stainless steel with different surface topography and roughness. *Biofouling*, 11, 201–216.
- Boulangé-Petermann, L., Gabet, C., Baroux, B., 2006. On the respective effect of the surface energy and micro-geometry in the cleaning ability of bare and coated steels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 272, 56–62.
- Boutalbe, N., Latrach, H., Sire, O., 2008. Role des propriétés physico-chimiques de surface sur le pouvoir d'adhésion. *TSM*, 73–90.
- Brada, M., Tabti, N., Boutoumi, H., Wathelet, J.P., and Lognay, G., 2012. Composition of the essential oil of leaves and berries of Algerian myrtle (*Myrtus communis* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 24, 1–3.
- Briandet, R., Leriche, V., Carpentier, B., Bellon-Fontaine, M.N., 1999. Effects of the growth procedure on the surface hydrophobicity of *Listeria monocytogenes* cells and their adhesion to stainless steel. *Journal of food protection*, 62, 994–998.
- Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K.B., Ramakrishnan, S., 2011. Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. *Enzyme research*, 2011, 787532-17.

- Bruinsma, G.M., Rustema-Abbing, M., Van der Mei, H.C. Busscher, H.J., 2001. Effects of cell surface damage on surface properties and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of microbiological methods*, 45, 95–101.
- Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, pp 200.
- Buschle-Diller, G., Inglesby, M.K., Wu, Y., 2005. Physicochemical properties of chemically and enzymatically modified cellulosic surfaces. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 260, 63–70.
- Cademartori, P.H.G., dos Santos, P.S.B., Serrano, L., Labidi, J., Gatto, D. A., 2013. Effect of thermal treatment on physicochemical properties of Gympie messmate wood. *Industrial Crops and Products*, 45, 360–366.
- Cannas, S., Mollicotti, P., Ruggeri, M., Cubeddu, M., Sanguinetti, M., Marongiu, B., and Zanetti, S., 2013. Antimycotic activity of *Myrtus communis* L. towards *Candida* spp. from clinical isolates. *Journal of infection in developing countries*, 7, 295–8.
- Cannas, S., Mollicotti, P., Usai, D., Maxia, A., and Zanetti, S., 2014. Antifungal, anti-biofilm and adhesion activity of the essential oil of *Myrtus communis* L. against *Candida* species. *Natural product research*, x, 1–5.
- Cao, J., Jiang, X., 2014. Preservation of Wood and Other Sustainable Biomaterials in China. *In: Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials*. pp 363–383.
- Cappella, B., Dietler, G., 1999. Force-distance curves by atomic force microscopy. *Surface Science Reports*, 34, 100–104.
- Cappelletto, E., Maggini, S., Girardi, F., Bochicchio, G., Tessadri, B., Di Maggio, R., 2013. Wood surface protection with different alkoxysilanes: a hydrophobic barrier. *Cellulose*, 20, 3131–3141.
- Capuzzo, A., Maffei, M.E., Occhipinti, A., 2013. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*, 18, 7194–7238.
- Carson, C.F., Riley, T. V, 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *The Journal of applied bacteriology*, 78, 264–269.
- Carvalho, I., Henriques, M., Carvalho, S., 2013. New strategies to fight bacterial adhesion. *In: Microbial Pathogens and Strategies for Combating them: Science, Technology and Education*. pp, 170–178.
- Cataldo, R., De Donno, A., De Nunzio, G., Leucci, G., Nuzzo, L., Siviero, S., 2005. Integrated methods for analysis of deterioration of cultural heritage: The Crypt of ‘Cattedrale di Otranto’. *Journal of Cultural Heritage*, 6, 29–38.
- Cauliez, N., 2007. les facteurs de dégradation des documents d’archives p. 9
- Celmer, D., Oleszkiewicz, J.A., Cicek, N., 2008. Impact of shear force on the biofilm structure and performance of a membrane biofilm reactor for tertiary hydrogen-driven denitrification of municipal wastewater. *Water Research*, 42, 3057–3065.

- Çetlin, B., Çakmakçi, S., Çakmakçi, R., 2011. The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35, 145–154.
- Cheng, S., Huang, A., Wang, S., Zhang, Q., 2016. Effect of Different Heat Treatment Temperatures on the Chemical Composition and Structure of Chinese Fir Wood. *Bioresources*, 11, 4006–4016.
- Cheurfa, M., Allem, R., Sebaihia, M., Belhireche, S., 2013. Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytotherapie*, 11, 154–160.
- Chmit, M., Kanaan, H., Habib, J., Abbass, M., Mcheik, A., Chokr, A., 2014. Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, S546–S552.
- Ciccio, P. Di, Vergara, A., Festino, A.R., Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Ianieri, A., 2014. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on food contact surfaces: Relationship with temperature and cell surface hydrophobicity. *Food Control*, 50, 930–936.
- Clausen, C.A., 2010. Biodeterioration of wood. In: *Wood Handbook: Wood as an Engineering Material*. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory, p; 508.
- Clausen, C.A, Kartal, S.N., Arango, R. A., Green, F., 2011. The role of particle size of particulate nano-zinc oxide wood preservatives on termite mortality and leach resistance. *Nanoscale research letters*, 6, 1-5.
- Clausen, C.A., 2012. Enhancing Durability of Wood-Based Composites with Nanotechnology. In: *Proceedings of Nanotechnology in wood composites symposium*. p. 218.
- Clausen, C.A., 2013. Innovations in Wood Protection in the age of Nanotechnology. In: *8th Latin American Biodeterioration and Biodegradation symposium*. p 119.
- Clevenger, J., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 17, 345–349.
- Costerton, J.W., Geesey, G.G., Cheng, K.J., 1978. How bacteria stick. *Scientific American*, 238, 86–95.
- Costerton, J.W., 2007. *The Biofilm Primer*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg pp 199.
- Croitoru, C., Patachia, S., Cretu, N., Boer, A., Friedrich, C., 2011. Influence of ionic liquids on the surface properties of poplar veneers. *Applied Surface Science*, 257, 6220–6225.
- Dacosta, Y., 2003. *Les phytonutriments bioactifs*. Paris pp 317.
- Daniel, G., 2003. Microview of Wood under Degradation by Bacteria and Fungi. In: T.P.S. Barry Goodell, Darrel D. Nicholas, ed. *Wood Deterioration and Preservation*. American Chemical Society, Washinton, pp.34–72.
- Daniel, G., Volc, J., Niku-Paavola, M.L., 2004. Cryo-FE-SEM & TEM immuno-techniques reveal new details for understanding white-rot decay of lignocellulose. *Comptes Rendus - Biologies*, 327, 861–871.

- Daniel, G., Volc, J., Filonova, L., Plíhal, O., Kubátová, E., Halada, P., 2007. Characteristics of Gloeophyllum trabeum alcohol oxidase, an extracellular source of H₂O₂ in brown rot decay of wood. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 6241–6253.
- Daniel, G., 2014. Fungal and Bacterial Biodegradation : White Rots , Brown Rots , Soft Rots , and Bacteria White Rot Decay of Wood and Lignocellulose : In: D.D.N. Tor P. Schultz, Barry Goodell, ed. *Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials*. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, pp. 23–58.
- Davey, M.E. and O'toole, G. A, 2000. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 64, 847–867.
- De Best, C.J.J.M., Van Kemenade, H.P., Brunner, T., Obernbergert, I., 2008. Particulate emission reduction in small-scale biomass combustion plants by a condensing heat exchanger. *Energy and Fuels*, 22, 587–597.
- De Lira Mota, K.S., De Oliveira Pereira, F., De Oliveira, W.A., Lima, I.O., and De Oliveira Lima, E., 2012. Antifungal activity of *Thymus vulgaris* L. essential oil and its constituent phytochemicals against *Rhizopus oryzae*: Interaction with ergosterol. *Molecules*, 17, 14418–14433.
- Demian, B. A., 2000. Correlation of the solubility of several aromatics and terpenes in aqueous hydroxypropyl-B-cyclodextrin with steric and hydrophobicity parameters. *Carbohydrate Research*, 328, 635–639.
- Demilly, M., 2006. Thèse de doctorat de l'Université Joseph Fourier Grenoble I: Cinétique de détachement de microorganismes modèles adsorbés sur des surfaces d'acier inoxydable : effet de la rugosité et de l'orientation cristallographique.
- Derjaguin, B., Landau, L., 1941. Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes. *Acta Phys. Chim.*, 14, 633-662.
- Desrousseaux, C., Sautou, V., Descamps, S., and Traoré, O., 2013. Modification of the surfaces of medical devices to prevent microbial adhesion and biofilm formation. *The Journal of hospital infection*, 85, 87–93.
- Didienne, R., Defargues, C., Callon, C., Meylheuc, T., Hulin, S., Montel, M., 2012. Characteristics of microbial biofilm on wooden vats (gerles) in PDO Salers cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 156, 91–101.
- DiGuistini, S., Wang, Y., Liao, N.Y., Taylor, G., Tanguay, P., Feau, N., Henrissat, B., Chan, S.K., Hesse-Orce, U., Alamouti, S.M., Tsui, C.K.M., Docking, R.T., Levasseur, A., Haridas, S., Robertson, G., Birol, I., Holt, R. A, Marra, M. A, Hamelin, R.C., Hirst, M., Jones, S.J.M., Bohlmann, J., Breuil, C., 2011. Genome and transcriptome analyses of the mountain pine beetle-fungal symbiont *Grosmannia clavigera*, a lodgepole pine pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 , 2504–2509.
- Diouf, P.N., Delbarre, N., Perrin, D., Gérardin, P., Rapin, C., Jacquot, J.P., Gelhay, E., 2002. Influence of tropolone on *Poria placenta* wood degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4377–4382.

- Djeribi, R., Boucherit, Z., Bouchloukh, W., Zouaoui, W., Latrache, H., 2013. A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of *Acinetobacter baumannii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 540–545.
- Dogu-Baykut, E., Gunes, G., Decker, E.A., 2014. Impact of shortwave ultraviolet (UV-C) radiation on the antioxidant activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 157, 167–173.
- Donlan, R.M., Costerton, J.W., Donlan, R.M., and Costerton, J.W., 2002. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology*, 15, 167–193.
- Dorman, H.J. and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88, 308–316.
- Doyle, R.J., 2000. Contribution of the hydrophobic effect to microbial infection. *Microbes and Infection*, 2, 391–400.
- Dufrêne, Y.F., Boonaert, C.J.P., Rouxhet, P.G., 1996. Adhesion of *Azospirillum brasilense*: Role of proteins at the cell-support interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 7, 113–128.
- Dumarçay, S., Mlbamba, A., Mabicha, A., Gérardin, P., 2003. Développement de nouveaux produits de préservation du bois par une approche biomimétique. In: 6^{ème} journées scientifiques de la forêt et du bois, GIS Bois Construction Environnement, CTBA. pp. 61–66.
- Eggins, H.O.W., Oxley, T. A., 2001. Biodeterioration and biodegradation. *International Biodeterioration and Biodegradation* 48,12-15.
- Eikenes, M., Alfredsen, G., Christensen, B.E., Militz, H., Solheim, H., 2005. Comparison of chitosans with different molecular weights as possible wood preservatives. *Journal of Wood Science*, 51, 387–394.
- EL Abed, S., Hamadi, F., Latrache, H., Iraqui Houssaini, M., Ibnsouda Koraichi, S., 2010. Adhesion of *Aspergillus niger* and *Penicillium expansum* spores on Fez cedar wood substrata. *Annals of Microbiology*, 60, 377–382.
- El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S., Latrache, H., Zineb, G., Mouradi, H., Remmal, A., 2011a. Carvacrol and thymol components inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* adherence and biofilm formation. *African journal of microbiology research*, 5, 3229–3232.
- El Abed, S., Mostakim, M., El Bergadi, F., Latrache, H., Houari, A., Hamadi, F., Ibnsouda Koraichi, S., 2011b. Study of microbial adhesion on some wood species: Theoretical prediction. *Microbiology*, 80, 43–49.
- El Abed, S., Houari, A., Latrache, H., Remmal, A., Ibnsouda Koraichi, S., 2011c. In vitro activity of Four Common Essential Oil Components Against Biofilm-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Research Journal of Microbiology*, 6, 394-401.
- El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S., Latrache, H., Boutahari, S., 2012a. Theoretical effect of cedar wood surface roughness on the adhesion of conidia from *Penicillium expansum*. *Annals of Microbiology*, 62, 1361–1366.
- El Abed, S., Ibnsouda Koraichi, S., Latrache, H., Meftah, H., Tahri Joutey, N., Hamadi, F., 2012b. Environmental Scanning Electron Microscopy characterization of the adhesion of conidia from

- Penicillium expansum* to cedar wood substrata at different pH values. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1707–1713.
- El Abed, S., 2012c. Thèse de doctorat de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah: Approche Microbiologique Et Physico-Chimique De La Biocontamination Du Bois De Cedre. Developpement De Strategies De Prevention Par Les Huiles Essentielles.
- EL Abed, S., Ibensouda Koraichi, S., Latrache, H., Hamadi, F., 2012d. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Environmental SEM: Suitable Tools for Study of Adhesion Stage and Biofilm Formation. In: *Physics » Optics and Lasers » "Scanning Electron Microscopy*. INTECH, pp. 718.
- El Abed, S., Korachi Ibensouda, S., Latrach, H., 2012e. Comparative study of physic -chemical characterization and microbial adhesion of oak wood with other wood species. In: *Nova science*. Nova Science Publiishers, pp; 130–219.
- El Abed, S., Hamadi, F., Latrache, H., Haggoud, A., Ibensouda Koraichi, S., 2012f. Quantification of *Bacillus subtilis* and *Bacillus* sp. Adhesion on Fez Medina Cedar Wood. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 25, 1506–1512.
- El Abed, S., Koraichi Ibensouda, S., Houari, A., Latrache, H., 2013. Experimental and theoretical investigations of the adhesion time of *Penicillium* spores to cedar wood surface. *Materials Science & Engineering C*, 33, 1276–1281.
- El Ajjouri, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm . & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Biotechnologie, Agronomie. Société. Environnement*, 12, 345–351.
- El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Amarti, F., Rahouti, M., Aafi, A., Ismaili, M.R., Farah, A., 2010. Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois. *Acta Botanica Gallica*, 157, 285–294.
- El-Akhal, F., Greche, H., Ouazzani Chahdi, F., Guemmouh, R., 2015. Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6, 214–219.
- El Bergadi, F., El abed, S., Laachari, F., Ibensouda Koraichi, S., 2011. *Penicillium italicum*, *Penicillium griseoroseum* and *Pseudomonas trivialis* are the Novel Species that Degrade Cedar Wood in Historical Moroccan Sites. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 5, 501–509.
- El Bergadi, F., 2014a. Thèse de doctorat de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès; Isolement, identification et lutte contre les microorganismes impliqués dans la biodégradation du bois et du papier du patrimoine historique de l'ancienne médina de Fès.
- El Bergadi, F., Laachari, F., Elabed, S., Mohammed, I.H., Ibensouda Koraichi, S., 2014b. Cellulolytic potential and filter paper activity of fungi isolated from ancient manuscripts from the Medina of Fez. *Annals of Microbiology*, 64, 815–822.
- El Bergadi, F., Laachari, F., Sadiki, M., Megzari, A., El Abed, S., Iraqui, H.M., Ibensouda Koraichi, S., 2015. Antifungal effect of Moroccan *Lawsonia inermis* leaf extracts on the growth of filamentous fungi isolated from historical wood. *International journal of current research*, 7, 14237–14240.

- El Bergadi, F., Laachari, F., Sadiki, M., Elabed, S., Iraqui, M.H., Ibensouda Koraichi, S., 2016. Determination of endoglucanase activity of paper decaying fungi from an old library at the ancient Medina of Fez. *Microbiology*, 85, 47–55.
- Elkhalfi, B., Essari, A., Serrano, A., Soukri, A., 2013. Antibacterial activity of plant methanolic extracts on a field isolate of *Pseudomonas syringae* pv tomato from the Casablanca region (Morocco). *Advances in bioscience and biotechnology*, 4, 1–9.
- El Ouali Lalami, A., El akhal, F., Ouedrhiri, W., Ouazzani Chadi, F., Guemmouh, R., Greche, H., 2013. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord Marocain : *Thymus vulgare* et *Thymus satureioides*,. *les technologies de laboratoire*, 8.xxx-xxx.
- Erkut, S., Yilmaz, B., Bagis, B., Küçükeşmen, C., Ozdemir, E., Acar, O., 2014. Effect of different surface-cleaning techniques on the bond strength of composite resin restorations. *The Journal of prosthetic dentistry*, 112, 949–56.
- Ermeydan, M.A., 2014. Thèse de doctorat de Institutional Repository of the University of Potsdam; Wood cell wall modification with hydrophobic molecules.
- Eslami, G., Hashemi, A., Karimi Yazdi, M.M., Esmaeili Benvidi, M., Khiabani Rad, P., Lotfolah Moradi, S., Fallah, F., Dadashi, M., 2016. Antibacterial Effects of *Zataria multiflora*, *Ziziphus*, *Chamomile* and *Myrtus communis* Methanolic Extracts on IMP-Type Metallo-Beta-Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 11, 1–5.
- Estivill, D., Arias, A., Torres-Lana, A., Carrillo-Muñoz, A.J., Arévalo, M.P., 2011. Biofilm formation by five species of *Candida* on three clinical materials. *Journal of microbiological methods*, 86, 238–42.
- Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S., 2014. Application de plan de Plackett Et Burman dans le criblage des paramètres agissants sur le processus d'hydrodistillation de Thym du Maroc (*Thymus vulgaris* L) *International journal of innovation and applied studies*, 6, 530–540.
- Fazio, A.T., Papinutti, L., Gómez, B.A., Parera, S.D., Rodríguez Romero, A., Siracusano, G., Maier, M.S., 2010. Fungal deterioration of a Jesuit South American polychrome wood sculpture. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64, 694–701.
- Feng, W., Swift, S., Singhal, N., 2013. Effects of surfactants on cell surface tension parameters and hydrophobicity of *Pseudomonas putida* 852 and *Rhodococcus erythropolis* 3586. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 43–50.
- Fengel, D., 1984. Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Ed. Walter de. De Gruyter; pp. 632.
- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G., Chemat, F., 2014. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chemistry*, 150, 193–198.
- Fisher, K., Phillips, C.A., 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science & Technology*, 19, 156–164.

- Fu, Y., Li, G., Yu, H., Liu, Y., 2012. Hydrophobic modification of wood via surface-initiated ARGET ATRP of MMA. *Applied Surface Science*, 258, 2529–2533.
- Galinari, É., Escarião, J., Andrade, N.J. De, 2014. Microbiological aspects of the biofilm on wooden utensils used to make a Brazilian artisanal cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 720, 713–720.
- Gallardo-Moreno, A., González-Martín, M.L., Pérez-Giraldo, C., Bruque, J.M., Gómez-García, A.C., 2004. The measurement temperature: An important factor relating physicochemical and adhesive properties of yeast cells to biomaterials. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271, 351–358.
- Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., Komaitis, M., 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107, 1120–1130.
- Garrido, K.D., Palacios, R.J.S., Lee, C., Kang, S., 2014. Impact of conditioning film on the initial adhesion of *E. coli* on polysulfone ultrafiltration membrane. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20, 1438–1443.
- Gautam, R., Saklani, A., Jachak, S.M., 2007. Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 200–234.
- Gavín, R., Merino, S., Altarriba, M., Canals, R., Shaw, J.G., Tomás, J.M., 2003. Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonas* spp. *FEMS Microbiology Letters*, 224, 77–83.
- Gelbrich, J., Mai, C., Militz, H., 2008. Chemical changes in wood degraded by bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 61, 24–32.
- Gérardin, P., Petrič, M., Petrissans, M., Lambert, J., Ehrhardt, J.J., 2007. Evolution of wood surface free energy after heat treatment. *Polymer Degradation and Stability*, 92, 653–657.
- Ghanmi, M., Strani, B., Aberchane, M., Ismaili, M.R., Aafi, A., El abid, A., 2013. Plantes aromatiques et médicinales. les milles et une vertus pp 9-120.
- Ghnaya, A. Ben, Chograni, H., Messoud, C., Boussaid, M., 2013. Comparative Chemical Composition and Antibacterial Activities of *Myrtus communis* L. Essential Oils Isolated from Tunisian and Algerian Population. *Journal of Plant Pathol Microb*, 4 .xxx-xxx.
- Giarratana, F., Muscolino, D., Ragonese, C., Beninati, C., Sciarrone, D., Ziino, G., Mondello, L., Giuffrida, A., Panebianco, A., 2016. Antimicrobial activity of combined thyme and rosemary essential oils against *Listeria monocytogens* in Italian mortadella packaged in modified atmosphere. *Journal of Essential Oil Research*, 2905, 1–8.
- Goetz, P., Ghedira, K., 2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Paris Berlin Heidelberg, New York pp. 3-364.
- Golmakani, M.T., Rezaei, K., 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109, 925–930.

- Goodell *et al*, 2003. Protection of wood using combinations of biocides. *In: Wood Deterioration and Preservation*. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, pp.390–398.
- Gorgij, R., Tarmian, A., Karimi, A.N., 2014. Effect of chitosan on the mold resistance of wood and its surface properties. *International Journal of Lignocellulosic Products*, 1, 39–49.
- Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J., 2008. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European Food Research and Technology*, 226, 583–590.
- Griffin, S.G., Wyllie, S.G., Markham, J.L., Leach, D.N., 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 322–332.
- Grivet, M., Morrier, J.J., Benay, G., Barsotti, O., 2000. Effect of hydrophobicity on in vitro *Streptococcal* adhesion to dental alloys. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11, 637–642.
- Guégan, C., Garderes, J., Le Pennec, G., Gaillard, F., Fay, F., Linossier, I., Herry, J.-M., Fontaine, M.-N.B., Réhel, K.V., 2014. Alteration of bacterial adhesion induced by the substrate stiffness. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 114, 193–200.
- Guenther, E., 1949. The essential oils. New York:, pp. 852
- Guillemot, G., 2006. Thèse de doctorat de l'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse: Compréhension des mécanismes à l'origine de l'adhésion de *Saccharomyces cerevisiae* sur acier inoxydable.
- Guillier, L., Stahl, V., Hezard, B., Notz, E., Briandet, R., 2008. Modelling the competitive growth between *Listeria monocytogenes* and biofilm microflora of smear cheese wooden shelves. *International journal of food microbiology*, 128, 51–57.
- Güleç, H.A., Sarıog˘lu, K., and Mutlu, M., 2006. Modification of food contacting surfaces by plasma polymerisation technique. PartI: Determination of hydrophilicity, hydrophobicity and surface free energy by contact angle method. *Journal of Food Engineering*, 75, 187–195.
- Guzzon, R., Widmann, G., Bertoldi, D., Nardin, T., Callone, E., Nicolini, G., Larcher, R., 2015. Silification of wood adopted for barrel production using pure silicon alkoxides in gas phase to avoid microbial colonisation. *Food Microbiology*, 45, 135–146.
- Haluk, J. Roussel, C., 2000. Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des Cupressacées . Application potentielle en préservation du bois. *Annals of Forest Science*, 57, 819–829.
- Hamadi, F., Latrache, H., Mabrouki, M., Elghmari, A., Outzourhit, A., Ellouali, M., Chtaini, A., 2005. Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 19, 73–85.
- Hamadi, F., Latrache, H., 2008. Comparison of contact angle measurement and microbial adhesion to solvents for assaying electron donor-electron acceptor (acid-base) properties of bacterial surface. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 65, 134–139.

- Hamadi, F., Latrache, H., Zahir, H., Elghmari, A., Timinouni, M., 2008. The relation between *Escherichia coli* surface functional groups composition and their physicochemical properties. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 39, 10–15.
- Hamadi, F., Latrache, H., Zekraoui, M., Ellouali, M., Bengourram, J., 2009. Effect of pH on surface energy of glass and Teflon and theoretical prediction of *Staphylococcus aureus* adhesion. *Materials Science and Engineering: C*, 29, 1302–1305.
- Hamadi, F., Latrache, H., Zahir, H., EL ebed, S., ELoulai, M., Ibensouda Koraichi, S., 2012. The relation between the surface chemical composition of *Escherichia coli* and thier electron donor/electron acceptor (Acid-base) properties. *Research Journal of Microbiology*, 7, 32–40.
- Hamadi, F., Asserne, F., El Abed, S., Ibensouda Koraichi, S., Mabrouki, M., Latrache, H., 2014. Adhesion of *Staphylococcus aureus* on stainless steel treated with three types of milk. *Food Control*, 38, 104–108.
- Hammel, K.E. and Cullen, D., 2008. Role of fungal peroxidases in biological ligninolysis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11, 349–355.
- Hammel, K.E., Kapich, a. N., Jensen, K. a., and Ryan, Z.C., 2002. Reactive oxygen species as agents of wood decay by fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, 30, 445–453.
- Harborne, J.B., 1985. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. 2nd ed. Brittonia. London: Chapman and Hall. pp. 54-84.
- Hatakka, A., Hammel, K., 2011. Fungal biodegradation of lignocelluloses. In: *Industrial Applications, The Mycota*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 319–340.
- Hayder, N., Abdelwahed, A., Kilani, S., Ammar, R. Ben, Mahmoud, A., Ghedira, K., Chekir-Ghedira, L., 2004. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 564, 89–95.
- Henriques, M., Azeredo, J., Oliveira, R., 2004. Adhesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrylic and hydroxyapatite. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 33, 235–241.
- Hill, C.A.S., 2006. *Wood Modification: Chemical, Thermal and Other Processes* -pp. 260.
- Holley, R. A., Patel, D., 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22, 273–292.
- Hornstra, L.M., de Leeuw, P.L.A., Moezelaar, R., Wolbert, E.J., de Vries, Y.P., de Vos, W.M., Abee, T., 2007. Germination of *Bacillus cereus* spores adhered to stainless steel. *International journal of food microbiology*, 116, 367–371.
- Hossain, M.A., AL-Raqmi, K.A.S., AL-Mijizy, Z.H., Weli, A.M., Al-Riyami, Q., 2013. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3, 705–710.
- Hunt, C.G., Houtman, C.J., Jones, D.C., Kitin, P., Korripally, P., Hammel, K.E., 2013. Spatial mapping of extracellular oxidant production by a white rot basidiomycete on wood reveals details of ligninolytic mechanism. *Environmental Microbiology*, 15, 956–966.

- Husmark, U. Rönner, U., 1993. Adhesion of *Bacillus cereus* spores to different solid surfaces: Cleaned or conditioned with various food agents. *Biofouling*, 7, 57–65.
- Hussain, A., Shrivastav, A., Jain, S.K., 2013. Antifungal Activity of Essential Oils against Local Wood Degrading Cellulolytic Filamentous Fungi. *Advances in Bioresearch*, 4, 161–167.
- Hutchinson, N., Nagarkar, S., Aitchison, J.C., Williams, G.A., 2006. Microspatial variation in marine biofilm abundance on intertidal rock surfaces. *Aquatic Microbial Ecology*, 42, 187–197.
- Hwang, G., Kang, S., El-Din, M.G., and Liu, Y., 2012. Impact of conditioning films on the initial adhesion of *Burkholderia cepacia*. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 91, 181–188.
- Hwang, G., Liang, J., Kang, S., Tong, M., Liu, Y., 2013. The role of conditioning film formation in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 adhesion to inert surfaces in aquatic environments. *Biochemical Engineering Journal*, 76, 90–98.
- Hyvärinen, A., Meklin, T., Vepsäläinen, A., Nevalainen, A., 2002. Fungi and actinobacteria in moisture-damaged building materials-Concentrations and diversity. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 49, 27–37.
- Hyvönen, A., Piltonen, P., Niinimäki, J., 2006. Tall oil/water - Emulsions as water repellents for Scots pine sapwood. *Holz als Roh - und Werkstoff*, 64, 68–73.
- Ihssen, J., Schubert, M., Thöny-Meyer, L., Richter, M., 2014. Laccase catalyzed synthesis of iodinated phenolic compounds with antifungal activity. *PloS one*, 9, e89924.
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J.P., Ankit, M., Khedid, K., El Bachiri, A., 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11, 205–208.
- Iserin P, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} ed. Londres: Larousse pp. 225-226.
- Ismaili, R., Fechtal, M., Zine El Abidine, A., HachimiI, M., Sesbou, A., 2001. Effet de la transplantation sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles du myrte (*Myrtus communis* L.). *Annales de la recherche forestière au Maroc*, 34, 87–93.
- Ismaili, R., Lamiri, A., Moustaid, K., 2014. Study of the antifungal activity of essential oils of three Moroccan aromatic plants. *international journal of innovation and scientific research*, 12, 499–505.
- Jacques, R., Dossantosfreitas, L., Perez, V., Dariva, C., Deoliveira, A, Deoliveira, J., Caramao, E., 2007. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: A comparison with maceration. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 6–12.
- Jadhav, S., Shah, R., Bhave, M., Palombo, E. A., 2013. Inhibitory activity of yarrow essential oil on *Listeria* planktonic cells and biofilms. *Food Control*, 29, 125–130.
- Jeffs, L.B., Xavier, I.J., Matai, R.E., Khachatourians, G.G., 1999. Relationships between fungal spore morphologies and surface properties for entomopathogenic members of the genera *Tolypocladium*, and *Verticillium*. *Canadian Journal of Microbiology*, 948, 936–948.

- Jiang, H., Kamdem, D.P., 2010. Characterization of the surface and the interphase of PVC–copper amine-treated wood composites. *Applied Surface Science*, 256, 4559–4563.
- Jordán, M.J., Martínez, R.M., Goodner, K.L., Baldwin, E. A., and Sotomayor, J. A., 2006. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and Products*, 24, 253–263.
- Kaloustian, J., El-Moselhy, T.F., Portugal, H., 2003. Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Thermochimica Acta*, 401, 77–86.
- Kamperidou, V., Barboutis, I., Vasileiou, V., 2013. Response of colour and hygroscopic properties of Scots pine wood to thermal treatment. *Journal of Forestry Research*, 24, 571–575.
- Kanoun, K., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N., Bekkara Atik, F., 2014. Comparative studies on antioxidant activities of extracts from the leaf , stem and berry of *Myrtus communis* L . *Internationa food research journal*, 21, 1957–1962.
- Kaoru, T., 1998. Surface Activity: Principles, Phenomena and Applications Polymers, Interfaces and Biomaterials. 1st edition. Academic Press pp. 244-245.
- Kaplan, J.B., 2010. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of dental research*, 89, 205–218.
- Karousou, R., Koureas, D.N., Kokkini, S., 2005. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66, 2668–2673.
- Kasemsiri, P., Hiziroglu, S., Rimdusit, S., 2012. Characterization of heat treated eastern redcedar (*Juniperus virginiana* L.). *Journal of Materials Processing Technology*, 212, 1324–1330.
- Katsikogianni, M. Missirlis, Y.F., 2004. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *European Cells and Materials*, 8, 37–57.
- Kawsud, P., Puripattanavong, J., Teanpaisan, R., 2014. Screening for Anticandidal and Antibiofilm Activity of Some Herbs in Thailand. *Tropical Journal of Phamaceutical research*, 13, 1495–1501.
- Kazemi, M., Mousavi, E., Bandrez, N., 2012. Chemical Compositions and Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* and *Tanacetum parthenium*. *Research Journal of Soil Biology*, 4, 21–31.
- Khalilzadeh, P., 2009. Thèse de doctorat de l'Univesité de Toulouse: formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing.
- Kim, J.S., Skinner, M., Hata, T., Parker, B.L., 2010. Effects of culture media on hydrophobicity and thermotolerance of Bb and Ma conidia, with description of a novel surfactant based hydrophobicity assay. *Journal of invertebrate pathology*, 105, 322–328.
- Kitajima, J., Ishikawa, T., Urabe, A., Satoh, M., 2004. Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*, 65, 3279–3287.

- Klaassen, R.K.W.M., Overeem, B.S. Van, 2012. Factors that influence the speed of bacterial wood degradation. *Journal of Cultural Heritage*, 13, S129–S134.
- Klausen, M., Gjermansen, M., Kreft, J.U., Tolker-Nielsen, T., 2006. Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: Examples from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* model biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 261, 1–11.
- Kleist, G., Schmitt, U., 2001. Characterisation of a soft rot-like decay pattern caused by *Coniophora puteana* (Schum.) Karst. in Sapelli wood (*Entandrophragma cylindricum* Sprague). *Holzforschung*, 55, 573–578.
- Kodali, V.P., Karlapudi, A.P., Kotam, M., Kota, R.K., Punati, T., Byr, R.B., 2013. Plant Extracts as Antibiofilm Agents. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 21, 325–328.
- Ksontini, H., Kachouri, F., El Abed, S., Ibsouda Koraichi, S., Latrache, H., Hamdi, M., 2013. *Bacillus cereus* adhesion: an investigation of the physicochemical characteristics of surface and effect of bioadhesion on the properties of silicone. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 27, 90–101.
- Kuli, T., Dragovi, V., Milo, M., 2006. Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technology and Biotechnology*, 44, 485–492.
- Kumar, R., Singh, S., Singh, O. V., 2008. Bioconversion of lignocellulosic biomass: Biochemical and molecular perspectives. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35, 377–391.
- Lafleur, J., Yasuda, M., Shiaris, M., 2013. Induction of resistance to *Staphylococcus aureus* in an environmental marine biofilm. *Journal of microbiological methods*, 93, 68–71.
- Laghchimi, A., Znini, M., Majidi, L., Renucci, F., El Harrak, A., Costa, J., 2014. Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *Journal of Materials and Environmental Science*, , 1770–1780.
- Lahaye, É., 2006. Rôle structurant des exopolysaccharides dans un biofilm bactérien. Lorient.pp. 148.
- Latrache, H., EL Ghmari, A., Karroua, M., Hakkou, A., Ait Housse, M., Bourlioux, P., 2002. Relations between hydrophobicity tested by three methods and surface chemical composition of *Escherichia coli*. *The new Microbiologica*, 25, 75–82.
- Lavin, P., de Saravia, S.G., Guiamet, P., 2016. *Scopulariopsis* sp. and *Fusarium* sp. in the Documentary Heritage: Evaluation of Their Biodeterioration Ability and Antifungal Effect of Two Essential Oils. *Microbial Ecology*, :628–633.
- Leban et Triboulot, 1994. Défauts de forme et états de surface. In: Arbolor, ed. *Le bois: matériau d'ingénierie*. Nancy, France: Association pour la Recherche sur le Bois en Lorraine, pp. 333–363.
- Lellouche, J., Friedman, A., Lellouche, J.-P., Gedanken, A., Banin, E., 2012. Improved antibacterial and antibiofilm activity of magnesium fluoride nanoparticles obtained by water-based ultrasound chemistry. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine*, 8, 702–711.

- Leonard, C.M., Virijevic, S., Regnier, T., Combrinck, S., 2010. Bioactivity of selected essential oils and some components on *Listeria monocytogenes* biofilms. *South African Journal of Botany*, 76, 676–680.
- Levasseur, A., Piumi, F., Coutinho, P.M., Rancurel, C., Asther, M., Delattre, M., Henrissat, B., Pontarotti, P., Asther, M., Record, E., 2008. FOLy: An integrated database for the classification and functional annotation of fungal oxidoreductases potentially involved in the degradation of lignin and related aromatic compounds. *Fungal Genetics and Biology*, 45, 638–645.
- Li, J., Yu, H., Sun, Q., Liu, Y., Cui, Y., Lu, Y., 2010. Growth of TiO₂ coating on wood surface using controlled hydrothermal method at low temperatures. *Applied Surface Science*, 256, 5046–5050.
- Li, Y., Dong, X., Liu, Y., Li, J., Wang, F., 2011. Improvement of decay resistance of wood via combination treatment on wood cell wall: Swell-bonding with maleic anhydride and graft copolymerization with glycidyl methacrylate and methyl methacrylate. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65, 1087–1094.
- Liazid, A., Schwarz, M., Varela, R.M., Palma, M., Guillén, D.A., Brigui, J., Macías, F.A., Barroso, C.G., 2010. Evaluation of various extraction techniques for obtaining bioactive extracts from pine seeds. *Food and Bioproducts Processing*, 88, 247–252.
- Licitra, G., Ogier, J.C., Parayre, S., Pediliggieri, C., Carnemolla, T.M., Falentin, H., Madec, M.N., Carpino, S., Lortal, S., 2007. Variability of bacterial biofilms of the ‘tina’ wood vats used in the Ragusano cheese-making process. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 6980–6987.
- Limsuwan, S., Homlaead, S., Watcharakul, S., Chusri, S., Moosigapong, K., Saising, J., Voravuthikunchai, S.P., 2014. Inhibition of microbial adhesion to plastic surface and human buccal epithelial cells by *Rhodomyrtus tomentosa* leaf extract. *Archives of Oral Biology*, 59, 1256–1265.
- Liu, Y., Yang, S.-F., Li, Y., Xu, H., Qin, L., Tay, J.-H., 2004. The influence of cell and substratum surface hydrophobicities on microbial attachment. *Journal of biotechnology*, 110, 251–256.
- Ljaljevic-Grbic, M., Vukojevic, J., 2009. Role of fungi in biodeterioration process of stone in historic buildings. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, x, 245–251.
- Lortal, S., Di, A., Madec, M., Pediliggieri, C., Tuminello, L., Tanguy, G., Fauquant, J., Lecuona, Y., Campo, P., Carpino, S., Licitra, G., 2009. Tina wooden vat biofilm : A safe and highly efficient lactic acid bacteria delivering system in PDO Ragusano cheese making. *International Journal of Food Microbiology*, 132, 1–8.
- Lu, L., Zeng, G., Fan, C., Ren, X., Wang, C., Zhao, Q., Zhang, J., Chen, M., Chen, A., Jiang, M., 2013. Characterization of a laccase-like multicopper oxidase from newly isolated *Streptomyces* sp . C1 in agricultural waste compost and enzymatic decolorization of azo dyes. *Biochemical Engineering Journal*, 72, 70–76.
- Lundell, T.K., Mäkelä, M.R., Vries, R.P. De, Hildén, K.S., 2014. Genomics , Lifestyles and Future Prospects of Wood-Decay and Basidiomycota. 1st ed. *Fungi*.pp 329-370
- M'hirit, O., Benzyane, M., 2006. Le cèdre de l'Atlas: mémoire du temps. Edition Ma. Sprimont (Belgique): Mardaga, pp. 288.

- Maataoui, H., Barkai, H., Sadiki, M., Haggoud, A., Ibsouda Koraichi, S., Elabed, S., 2014. Physicochemical characterization of actinomycetes isolated from decayed cedar wood: contact angle measurement. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 28, 2046–2053.
- Machado, M.C., Tarquinio, K.M., Webster, T.J., 2012. Decreased *Staphylococcus aureus* biofilm formation on nanomodified endotracheal tubes: A dynamic airway model. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3741–3750.
- Mafu, A.A., Plumety, C., Deschênes, L., Goulet, J., 2011. Adhesion of Pathogenic Bacteria to Food Contact Surfaces: Influence of pH of Culture. *International journal of microbiology*, 2011,x, xxx-xxx.
- Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung de Capriles, C., Perez, C., Colella, M., Olaizola, C., Ontiveros, Y., 2004. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*, 8, 39–45.
- Maggini, S., Feci, E., Cappelletto, E., Girardi, F., Palanti, S., Maggio, R. Di, 2012. (I/O) Hybrid Alkoxysilane/Zirconium-Oxocluster Copolymers as Coatings for Wood Protection. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4, 4871–4881.
- Mahboubi, M., Bidgoli, F.G., 2010. In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine*, 17, 771–774.
- Mai, T.L., Conner, D.E., 2007. Effect of temperature and growth media on the attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel. *International Journal of Food Microbiology*, 120, 282–286.
- Mann, E.E., Rice, K.C., Boles, B.R., Endres, J.L., Ranjit, D., Chandramohan, L., Tsang, L.H., Smeltzer, M.S., Horswill, A.R., Bayles, K.W., 2009. Modulation of eDNA release and degradation affects *Staphylococcus aureus* biofilm maturation. *PLoS ONE*, 4, x, xxx-xxx.
- Mariani, C., Briandet, R., Chamba, J.-F., Notz, E., Carnet-Pantiez, A., Eyoug, R.N., Oulahal, N., 2007. Biofilm ecology of wooden shelves used in ripening the French raw milk smear cheese Reblochon de Savoie. *Journal of dairy science*, 90, 1653–1661.
- Marzbani, P., Afrouzi, Y.M., Omidvar, A., 2015. The effect of nano-zinc oxide on particleboard decay resistance. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 17, 63 - 68.
- Matsuura, E., Godoy, J.S.R., Bonfim-Mendonça, P.D.S., de Mello, J.C.P., Svidzinski, T.I.E., Gasparetto, A., Maciel, S.M., 2015. In vitro effect of *Paullinia cupana* (guaraná) on hydrophobicity, biofilm formation, and adhesion of *Candida albicans* to polystyrene, composites, and buccal epithelial cells. *Archives of oral biology*, 60, 471–478.
- Mattsson, J., Flyen, A., Nunez, M., 2010. Wood-decaying fungi in protected buildings and structures on Svalbard. *Agarica*, 29, 5–14.
- Mehrabani, M., Kazemi, A., Ayatollahi Mousavi, S.A., Rezaifar, M., Alikhah, H., Nosky, A., 2013. Evaluation of antifungal activities of *Myrtus communis* L. by bioautography method. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6, 1–7.
- Meijer, M. De, Haemers, S., Cobben, W., Militz, H., 2000. Surface Energy Determinations of Wood : Comparison of Methods and Wood Species. *Langmuir*, 44, 9352–9359.

- Mercier-Bonin, M., Ouazzani, K., Schmitz, P., Lorthois, S., 2004. Study of bioadhesion on a flat plate with a yeast/glass model system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271, 342–350.
- Merzougui, S., Lkhider, M., Cohen, N., 2013. *Bacillus cereus* , a real problem for food industry ? In: *ScienceLib*.pp. xx.
- Mesquita, N., Portugal, a., Videira, S., Rodríguez-Echeverría, S., Bandeira, A. M.L., Santos, M.J.A., Freitas, H., 2009. Fungal diversity in ancient documents. A case study on the Archive of the University of Coimbra. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63, 626–629.
- Messaoud, C., Laabidi, A., Boussaid, M., 2012. *Myrtus communis* L. Infusions: The Effect of Infusion Time on Phytochemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities. *Journal of Food Science*, 77, 1–7.
- Miladi, H., Mili, D., Ben Slama, R., Zouari, S., Ammar, E., Bakhrouf, A., 2016. Antibiofilm formation and anti-adhesive property of three mediterranean essential oils against a foodborne pathogen *Salmonella strain*. *Microbial Pathogenesis*, 93, 22–31.
- Milling, A., Kehr, R., Wulf, A., Smalla, K., 2005. Survival of bacteria on wood and plastic particles: Dependence on wood species and environmental conditions. *Holzforschung*, 59 , 72–81.
- Mishra, M.P., Rath, S., Swain, S.S., Ghosh, G., Das, D., Padhy, R.N., 2015. In vitro antibacterial activity of crude extracts of 9 selected medicinal plants against UTI causing MDR bacteria. *Journal of King Saud University - Science*, x, xxx–xxx.
- Moghtader, M., 2012. Antifungal effects of the essential oil from *Thymus vulgaris* L. and comparison with synthetic thymol on *Aspergillus niger*. *Journal of yeast and fungal research*, 3, 83–88.
- Mogode, D.J., 2005. Thèse de doctorat de l'Université de Bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie. Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (*Caesalpiniaceae*) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad.
- Mohammed-Ziegler, I., Oszlanczi, Á., Somfai, B., Hórvölgyi, Z., Pászli, I., Holmgren, A., Forsling, W., 2004. Surface free energy of natural and surface-modified tropical and European wood species. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 18, 687–713.
- Molin, S., Tolker-Nielsen, T., 2003. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 255–261.
- Monrroy, M., Ortega, I., Ramírez, M., Baeza, J., Freer, J., 2011. Enzyme and Microbial Technology Structural change in wood by brown rot fungi and effect on enzymatic hydrolysis. *Enzyme and Microbial Technology*, 49, 472–477.
- Mortabit, D., Zyani, M., Haggoud, A., Iraqui, H.M., Houari, A., Benbrahim, Kawtar Fikri Ibnsouda Koraichi, S., 2010. Carboxymethyl cellulase production by Moroccan *Bacillus* isolates. *Moroccan Journal of Biology*, 12, 6–7.
- Mortabit, D., Zyani, M., and Koraichi, S.I., 2015. Biological control of wood decay fungi by *Streptomyces strains's* extract. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 14, 100–103.

- Mostakim, M., Abed, S. El, Iraqui, M., Benbrahim, K.F., Houari, A., Gounni, A.S., Ibensouda, S.K., 2012. Biocontrol potential of a *Bacillus subtilis* strain against *Bactrocera oleae*. *Annals of Microbiology*, 62, 211–216.
- Moura, L.S., Carvalho, R.N., Stefanini, M.B., Ming, L.C., Meireles, M.A.A, 2005. Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): Global yield, composition and kinetic data. *Journal of Supercritical Fluids*, 35, 212–219.
- Mourant, D., 2007. Thèse de doctorat de l'Université laval québec: Développement d'une matrice résinique à base d'huile pyrolytique pour la protection du bois.
- N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., Aké-Assi, L., 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6, 1–15.
- Nadjib, B.M., Amine, F.M., Abdelkrim, K., Fairouz, S., Maamar, M., 2014. Liquid and Vapour Phase Antibacterial Activity of *Eucalyptus Globulus* Essential Oil = Susceptibility. *American Journal of Infectious Diseases*, 10, 105–117.
- Naidoo, R., Patel, M., Gulube, Z., Fenyvesi, I., 2012. Inhibitory activity of *Dodonaea viscosa* var. *angustifolia* extract against *Streptococcus mutans* and its biofilm. *Journal of Ethnopharmacology*, 144, 171–174.
- Neu, T.R., 1996. Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces. *Microbiological reviews*, 60, 151–166.
- Nguila Inari, G., Petrissans, M., Lammbert, J., Ehrhardt, J., Gérardin, P., 2006. XPS characterization of wood chemical composition after heat treatment. *Surface and Interface Analysis*, 38, 1578–1587.
- Nicholas, D., Kadir, A., Williams, A., Preston, A., 2000. Water repellency of wood treated with alkylammonium compounds and chromated copper arsenat.
- Nieddu, M., Rassu, G., Boatto, G., Bosi, P., Trevisi, P., Giunchedi, P., Carta, A., Gavini, E., 2014. Improvement of thymol properties by complexation with cyclodextrins: *In vitro* and *in vivo* studies. *Carbohydrate Polymers*, 102, 393–399.
- Niemenmaa, O., Uusi-Rauva, A., Hatakka, A., 2008. Demethoxylation of [O14CH3]-labelled lignin model compounds by the brown-rot fungi *Gloeophyllum trabeum* and *Poria (Postia) placenta*. *Biodegradation*, 19, 555–565.
- Nithyanand, P., Beema Shafreen, R.M., Muthamil, S., Murugan, R., Karutha Pandian, S., 2015. Essential oils from commercial and wild *Patchouli* modulate Group A *Streptococcal* biofilms. *Industrial Crops and Products*, 69, 180–186.
- Nordin, M.-A.-F., Wan Harun, W.H.A., Abdul Razak, F., 2013. An *in vitro* study on the anti-adherence effect of *Brucea javanica* and *Piper betle* extracts towards oral *Candida*. *Archives of oral biology*, 58, 1335–42.
- Nostro, A., Cannatelli, M.A., Crisafi, G., Musolino, A.D., Procopio, F., Alonzo, V., 2004. Modifications of hydrophobicity, *in vitro* adherence and cellular aggregation of *Streptococcus mutans* by *Helichrysum italicum* extract. *Letters in applied microbiology*, 38, 423–427.

- Nostro, A., Marino, A., Blanco, A.R., Cellini, L., Di Giulio, M., Pizzimenti, F., Roccaro, A.S., Bisignano, G., 2009. *In vitro* activity of carvacrol against *staphylococcal* preformed biofilm by liquid and vapour contact. *Journal of Medical Microbiology*, 58, 791–797.
- Nykter, M., Kymäläinen, H.-R., Thomsen, A.B., Lilholt, H., Koponen, H., Sjöberg, A.-M., Thygesen, A., 2008. Effects of thermal and enzymatic treatments and harvesting time on the microbial quality and chemical composition of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.). *Biomass and Bioenergy*, 32, 392–399.
- Nzeako, B.C., Al-Kharousi, Z.S.N., Al-Mahrooqui, Z., 2006. Antimicrobial activities of clove and thyme extracts. *Sultan Qaboos University medical journal*, 6, 33–39.
- Oliveira, K., Oliveira, T., Teixeira, P., Azeredo, J., Henriques, M., Oliveira, R., 2006. Comparison of the adhesion ability of different *Salmonella enteritidis* serotypes to materials used in kitchens. *Journal of food protection*, 69, 2352–2356.
- Oliveira, R., 1997. Understanding adhesion: A means for preventing fouling. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 14, 316–322.
- Onivogui, G., Diaby, M., Chen, X., Zhang, H., Kargbo, M.R., Song, Y., 2015. Antibacterial and antifungal activities of various solvent extracts from the leaves and stem bark of *Anisophyllea laurina* R. Br ex Sabine used as traditional medicine in Guinea. *Journal of Ethnopharmacology*, 168, 287–290.
- Ortiz, R., Párraga, M., Navarrete, J., Carrasco, I., de la Vega, E., Ortiz, M., Herrera, P., Jurgens, J. A., Held, B.W., Blanchette, R.A., 2014a. Investigations of biodeterioration by fungi in historic wooden churches of chiloé, chile. *Microbial Ecology*, 67, 568–575.
- Ortiz, R., Navarrete, H., Navarrete, J., Párraga, M., Carrasco, I., Vega, E.D. La, Ortiz, M., Herrera, P., Blanchette, R.A., 2014b. Deterioration, decay and identification of fungi isolated from wooden structures at the Humberstone and Santa Laura saltpeter works: A world heritage site in Chile. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 86, 309–316.
- Ouedraogo, A., 2008. L'enseignement de la culture arabe et islamique dans le département de Soaw, province de Bulkiemde, Burkina Faso. *Revue des mondes musulmans et de la Méditerranée*, pp.xxx-xxx.
- Oulahal, N., Adt, I., Mariani, C., Carnet-Pantiez, A., Notz, E., Degraeve, P., 2009. Examination of wooden shelves used in the ripening of a raw milk smear cheese by FTIR spectroscopy. *Food Control*, 20, 658–663.
- Palmer, J., Flint, S., Brooks, J., 2007. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34, 577–588.
- Pardo, T., Alfaro, J., 2014. White-rot fungal decay resistance of Teak and Melina wood treated with acetic anhydride. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 44–47.
- Park, J.H., Olivares-Navarrete, R., Baier, R.E., Meyer, A.E., Tannenbaum, R., Boyan, B.D., Schwartz, Z., 2012. Effect of cleaning and sterilization on titanium implant surface properties and cellular response. *Acta biomaterialia*, 8, 1966–1975.

- Pavithra, D., Doble, M., 2008. Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants--issues and prevention. *Biomedical materials (Bristol, England)*, 3, x,xxx-xxx.
- Pegueroles, M., Gil, F.J., Planell, J. A., Aparicio, C., 2008. The influence of blasting and sterilization on static and time-related wettability and surface-energy properties of titanium surfaces. *Surface and Coatings Technology*, 202, 3470–3479.
- Pelletier, C., Bouley, C., Cayuela, C., Bouttier, S., 1997. Cell Surface Characteristics of *Lactobacillus casei* subsp . *casei* , *Lactobacillus paracasei* subsp . *paracasei* , and *Lactobacillus rhamnosus* Strains. *Applied and Environmental microbiology*, 63, 1725–1731.
- Pesavento, G., Calónico, C., Bilia, A. R., Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R., Mencarelli, L., Carmagnini, L., Di Martino, M.C., Lo Nostro, A., 2015. Antibacterial activity of *Oregano*, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*, 54, 188–199.
- Peterson, B.W., Sharma, P.K., van der Mei, H.C., Busscher, H.J., 2012. Bacterial cell surface damage due to centrifugal compaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 120–125.
- Phuong, N., Chau, T., Pandit, S., Cai, J., Lee, M., Jeon, J., 2015. Relationship between fluoride release rate and anti-cariogenic biofilm activity of glass ionomer. *Dental Materials*, 1–9.
- Pimchuai, A., Dutta, A., Basu, P., 2010. Torrefaction of agriculture residue to enhance combustible properties. *Energy and Fuels*, 24, 4638–4645.
- Porte, A., Godoy, R., 2008. Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (Thyme) essential oil from the Rio de Janeiro state, Brazil. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73, 307–310.
- Da Porto, C., Porretto, E., Decorti, D., 2013. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1076–1080.
- Potočnáková, L., Hnilica, J., Kudrle, V., 2013. Increase of wettability of soft- and hardwoods using microwave plasma. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 45, 125–131.
- Quave, C.L., Plano, L.R.W., Pantuso, T., Bennett, B.C., 2008. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 418–428.
- Renata, C., Campoccia, D., Speziale, P., Montanaro, L., William, J., 2012. Biomaterials Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for bio film-resistant materials. *Biomaterials*, 33, 5967–5982.
- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., López-Malo, A., 2015. Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Engineering Reviews*, 7, 275–297.
- Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.-H., Khalel, K.I., 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827–831.

- Rodriguez, J., Melo, E.C., Mulet, A., Bon, J., 2013. Optimization of the antioxidant capacity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) extracts: Management of the convective drying process assisted by power ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 119, 793–799.
- Rojas, T.I., Aira, M.J., Batista, A., Cruz, I.L., González, S., 2012. Fungal biodeterioration in historic buildings of Havana (Cuba). *Grana*, 51, 44–51.
- Romanik, G., Gilgenast, E., Przyjazny, A., and Kamiński, M., 2007. Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70, 253–261.
- Ros-Barceló, A., Gómez-Ros, L. V., Ferrer, M. A., and Hernández, J. A., 2006. The apoplastic antioxidant enzymatic system in the wood-forming tissues of trees. *Trees - Structure and Function*, 20, 145–156.
- 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.
- Rumbaugh, K.P., Ahmad, I., 2014. Antibiofilm Agents From Diagnosis to Treatment and Prevention. pp. 487.
- Saad, N.Y., Muller, C.D., Lobstein, A., 2013. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28, 269–279.
- Sailer, M.F., van Nieuwenhuijzen, E.J., Knol, W., 2010. Forming of a functional biofilm on wood surfaces. *Ecological Engineering*, 36, 163–167.
- Sandasi, M., Leonard, C.M., Van Vuuren, S.F., and Viljoen, A. M., 2011. Peppermint (*Mentha piperita*) inhibits microbial biofilms *in vitro*. *South African Journal of Botany*, 77, 80–85.
- Santos, O., Nylander, T., Rosmaninho, R., Rizzo, G., Yiantsios, S., Andritsos, N., Karabelas, A., Müller-Steinhagen, H., Melo, L., Boulangé-Petermann, L., Gabet, C., Braem, A., Trägårdh, C., Paulsson, M., 2004. Modified stainless steel surfaces targeted to reduce fouling—surface characterization. *Journal of Food Engineering*, 64, 63–79.
- Sarvaramini, A., Gravel, O., Larachi, F., 2013. Torrefaction of ionic-liquid impregnated lignocellulosic biomass and its comparison to dry torrefaction. *Fuel*, 103, 814–826.
- Satou, J., Fukunaga, a, Satou, N., Shintani, H., Okuda, K., 1988. *Streptococcal* adherence on various restorative materials. *Journal of dental research*, 67, 588–591.
- Satrani, B., Farah, A., Talbi, M., 2006. Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis* L.) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 153, 235–242.
- Sauer, K., Sauer, K., Camper, A.K., Camper, A.K., Ehrlich, G.D., Ehrlich, G.D., Costerton, J.W., Costerton, J.W., Davies, D.G., Davies, D.G., 2002. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*, 184, 1140–1154.
- Scheerer, S., Ortega-Morales, O., Gaylarde, C., 2009. Microbial deterioration of stone monuments--an updated overview. 1st ed. *Advances in applied microbiology*. 66, 97-139

- Schubert, M., Engel, J., Thöny-Meyer, L., Schwarze, F.W.M.R., Ihssen, J., 2012. Protection of wood from microorganisms by laccase-catalyzed iodination. *Applied and environmental microbiology*, 78, 7267–75.
- Schwarze, F.W.M.R., Jauss, F., Spencer, C., Hallam, C., Schubert, M., 2012. Evaluation of an antagonistic *Trichoderma* strain for reducing the rate of wood decomposition by the white rot fungus *Phellinus noxius*. *Biological Control*, 61, 160–168.
- Seale, R.B., Flint, S.H., McQuillan, A. J., and Bremer, P.J., 2008. Recovery of spores from thermophilic dairy bacilli and effects of their surface characteristics on attachment to different surfaces. *Applied and environmental microbiology*, 74, 731–737.
- Serce, S., Ercisli, S., Sengul, M., Gunduz, K., Orhan, E., 2010. Antioxidant activities and fatty acid composition of wild grown myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Pharmacognosy magazine*, 6, 9–12.
- Settanni, L., Di Grigoli, A., Tornambé, G., Bellina, V., Francesca, N., Moschetti, G., Bonanno, A., 2012. Persistence of wild *Streptococcus thermophilus* strains on wooden vat and during the manufacture of a traditional Caciocavallo type cheese. *International journal of food microbiology*, 155, 73–81.
- Severo, E.T.D., Calonego, F.W., Sansígolo, C.A., Bond, B., 2016. Changes in the Chemical Composition and Decay Resistance of Thermally-Modified *Hevea brasiliensis* Wood. *Plos One*, 11, e0151353.
- Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J.D., Corke, H., 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International journal of food microbiology*, 117, 112–119.
- Shanks, D., Al-Maharik, N., Malmström, J., Engman, L., Eriksson, P., Stenberg, B., Reitberger, T., 2003. Improved antioxidant formulations for polymeric materials - Synergistic protective effects in combinations of organotellurium compounds with conventional phenolic antioxidants or thiols. *Polymer Degradation and Stability*, 81, 261–271.
- Simon, A., Price, W.E., Nghiem, L.D., 2013. Changes in surface properties and separation efficiency of a nanofiltration membrane after repeated fouling and chemical cleaning cycles. *Separation and Purification Technology*, 113, 42–50.
- Sivonen, H., Maunu, S.L., Sundholm, F., Jämsä, S., Viitaniemi, P., 2002. Magnetic Resonance Studies of Thermally Modified Wood. *Holzforschung*, 56, 648–654.
- Sjollema, J., Mei, H.C. Van Der, Uyen, H.M.W., Busscher, H.J., 1990. The influence of collector and bacterial cell surface properties on the deposition of oral *Streptococci* in a parallel plate flow cell. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 4, 765–777.
- Skovager, A., Larsen, M.H., Castro-Mejia, J.L., Hecker, M., Albrecht, D., Gerth, U., Arneborg, N., Ingmer, H., 2013. Initial adhesion of *Listeria monocytogenes* to fine polished stainless steel under flow conditions is determined by prior growth conditions. *International journal of food microbiology*, 165, 35–42.
- Sterflinger, K., 2010. Fungi: Their role in deterioration of cultural heritage. *Fungal Biology Reviews*, 24, 47–55.

- Stirling, R., Temiz, A., Group, S., Mall, E., 2014. Fungicides and Insecticides Used in Wood Preservation. In: *Deterioration and Protection of Sustainable Biomaterials*. 185–201.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual review of microbiology*, 56, 187–209.
- Szczepanski, S. Lipski, A., 2014. Essential oils show specific inhibiting effects on bacterial biofilm formation. *Food Control*, 36, 224–229.
- Taheri, A., Seyfan, A., Jalalinezhad, S., Nasery, F., 2013. Antibacterial effect of *Myrtus communis* hydro-alcoholic extract on pathogenic bacteria. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 15, 19–24.
- Taweekaisupapong, S., Aieamsaard, J., Chitropas, P., Khunkitti, W., 2012. Inhibitory effect of lemongrass oil and its major constituents on *Candida* biofilm and germ tube formation. *South African Journal of Botany*, 81, 95–102.
- Temiz, A., Akbas, S., Aydin, I., Demirkir, C., 2016. The effect of plasma treatment on mechanical properties, surface roughness and durability of plywood treated with copper-based wood preservatives. *Wood Science and Technology*, 50, 179–191.
- Teuscher, E., Robert, A., Lobstein, A., 2005. Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris: Tec & Doc/Lavoisier.pp. 475–480.
- Timell, T.E., 1986. Compression Wood in Gymnosperms. 1st ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 625.
- Torr, K.M., Chittenden, C., Franich, R. A., and Kreber, B., 2005. Advances in understanding bioactivity of chitosan and chitosan oligomers against selected wood-inhabiting fungi. *Holzforschung*, 59, 559–567.
- Touaibia, M., Zohra, F., 2014. Pouvoir antioxydant des extraits de *Myrtus communis* L . obtenus in situ et in vitro. *Nature and Technologie*, x, 03–08.
- Touaibia, M., 2015. Composition chimique et activité anti-fongique de l’huile essentielle de *Myrtus communis* L. sur milieu de laboratoire et sur les fruits du fraisier. *Nature and Technology*, x, 66–72.
- Trey, S.M., Netrval, J., Berglund, L., and Johansson, M., 2010. Electron-beam-initiated polymerization of poly(ethylene glycol)-based wood impregnants. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2, 3352–3362.
- Trey, S.M, Jafarzadeh, S., Johansson, M., 2012. In situ polymerization of polyaniline in wood veneers. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4, 1760–1769.
- Truong, V.K., Rundell, S., Lapovok, R., Estrin, Y., Wang, J.Y., Berndt, C.C., Barnes, D.G., Fluke, C.J., Crawford, R.J., Vanova, E.P., 2009. Effect of ultrafine-grained titanium surfaces on adhesion of bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 83, 925–937.
- Tuberoso, C.I.G., Rosa, A., Bifulco, E., Melis, M.P., Atzeri, A., Pirisi, F.M., Dessì, M.A., 2010. Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chemistry*, 123, 1242–1251.

- Uddin, G., Rauf, A., Siddiqui, B.S., Muhammad, N., Khan, A., Shah, S.U.A., 2014. Anti-nociceptive, anti-inflammatory and sedative activities of the extracts and chemical constituents of *Diospyros lotus* L. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 21, 954–959.
- Valt, A., 2009. Thèse de doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie: Etude de deux procédés de polymérisation d'un précurseur gazeux dans un plasma radiofréquence basse pression et liquide déposé sur un substrat activé par décharge à barrière diélectrique à pression atmosphérique : application aux propriétés antifouling.
- Van Der Mei, H.C., Van de Belt-gritter, B., Reid, G., Bialkowska-hobrzanska, H., aBusscher, H.J., 1997. Adhesion of coagulase-negative *Staphylococci* grouped according to physico-chemical surface properties. *Microbiology*, 143, 3861–3870.
- Van der Mei, H.C., Bos, R., Busscher, H.J., 1998. A reference guide to microbial cell surface hydrophobicity based on contact angles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 11, 213–221.
- Van Loodsdrecht, M.C., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., Zehned Alexander, J., 1987. The Role of Bacterial Cell Wall Hydrophobicity in Adhesion. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 1893–1897.
- Van Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., and Zehnder, A.J.B., 1989. Bacterial adhesion: A physicochemical approach. *Microbial Ecology*, 17, 1–15.
- Van Oss, C., Good, R.J., Chaudhury, M., 1986. The Role of van der Waals Forces and Hydrogen Bonds in 'Hydrophobic Interactions' between Biopolymers and Low Energy Surfaces. *Journal of colloid and interface science*, 111, 378–390.
- Van Oss, C.J., Chaudhury, M.K., Good, R.J., 1988. Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems. *Chemical Reviews*, 88, 927–941.
- Van Oss, C.J., 1989. Energetics of cell-cell and cell-biopolymer interactions. *Cell biophysics*, 14, 1–16.
- Van Oss, C., 1994. Interracial Forces in Aqueous Media. Marcel De. New York: Elsevier Science S.A.pp. 440.
- Van Oss, C.J., Giese, R.F., 1995. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. *clay and clay minerals*, 43, 474–477.
- Vasil, L.G., Khromonygina, V. V, Karapetyan, K.N., Vasilenko, O. V, Rabinovich, M.L., 2005. Cellobiose dehydrogenase formation by filamentous fungus *Chaetomium* sp .. *Journal of biotechnology*, 119, 44–59.
- Vatanyoopaisarn, S., Nazli, A., Dodd, C.E.R., Rees, C.E.D., Waites, W.M., 2000. Effect of flagella on initial attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 860–863.
- Vázquez-Sánchez, D., Cabo, M.L., Ibusquiza, P.S., Rodríguez-Herrera, J.J., 2014. Biofilm-forming ability and resistance to industrial disinfectants of *Staphylococcus aureus* isolated from fishery products. *Food Control*, 39, 8–16.

- Veigel, S., Grüll, G., Pinkl, S., Obersriebnig, M., Müller, U., Gindl-Altmutter, W., 2014. Improving the mechanical resistance of waterborne wood coatings by adding cellulose nanofibres. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 214–220.
- Verwey, E.J.W., 1947. Theory of the stability of lyophobic colloids. *The Journal of physical and colloid chemistry*, 51, 631–636.
- Viju, N., Satheesh, S., Vincent, S.G.P., 2013. Antibiofilm activity of coconut (*Cocos nucifera* Linn.) husk fibre extract. *Saudi journal of biological sciences*, 20, 85–91.
- Viuda-martos, M., Sendra, E., Pérez-alvarez, J. A, Fernández-López, J., Amensour, M., Abrini, J., 2011. Identification of Flavonoid Content and Chemical Composition of the Essential Oils of Moroccan Herbs : Myrtle (*Myrtus communis* L.), Rockrose (*Cistus ladanifer* L.) and Montpellier cistus (*Cistus monspeliensis* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 23, 1–9.
- Vogler, E.A., 1998. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 74, 69–117.
- Wahid, N., 2013. Perspectives de la valorisation de l'usage et de la culture du *Myrtus communis* L. au Maroc. *Phytothérapie*, 11 237–243.
- Wang, J.Y., Cooper, P. A., 2005. Effect of oil type, temperature and time on moisture properties of hot oil-treated wood. *Holz als Roh - und Werkstoff*, 63, 417–422.
- Wang, L., Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 300–312.
- Wei, S., Shi, J., Gu, J., Wang, D., Zhang, Y., 2012. Dynamic wettability of wood surface modified by acidic dyestuff and fixing agent. *Applied Surface Science*, 258, 1995–1999.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D. A., and Lane, D.J., 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173, 697–703.
- White, T.. T., Bruns, S., Lee, B., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. In: *Innis Gelfand MADH*. New York: Academic Press, New York, pp.315–322.
- WHO, 1999. Monographs on selected medicinal plants. 2nd ed. Geneva. pp. 259-266
- Wikberg, H. Maunu, S.L., 2004. Characterisation of thermally modified hard- And softwoods by¹³C CP/MAS NMR. *Carbohydrate Polymers*, 58, 461–466.
- Woese, C.R., 1987. Bacterial evolution. *Microbiological reviews*, 51, 221–71.
- Xu, J., Zhou, F., Ji, B.P., Pei, R.S., Xu, N., 2008. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, 47, 174–179.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M.-C., Ayachi, A., 2011. Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9, 209–218.

- Yang, W.J., Neoh, K.G., Kang, E.T., Teo, S.L.M., Rittschof, D., 2014. Polymer brush coatings for combating marine biofouling. *Progress in Polymer Science*, 39 , 1017–1042.
- Yelle, D.J., Wei, D., Ralph, J., Hammel, K.E., 2011. Multidimensional NMR analysis reveals truncated lignin structures in wood decayed by the brown rot basidiomycete *Postia placenta*. *Environmental Microbiology*, 13, 1091–1100.
- Zeraik, A.E. Nitschke, M., 2012. Influence of growth media and temperature on bacterial adhesion to polystyrene surfaces. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 569–576.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., Quek, S., 2016. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59, 282–289.
- Zhao, H., Kwak, J., Zhang, Z., Brown, H., Arey, B., and Holladay, J., 2007. Studying Cellulose Fiber Structure by SEM, XRD, NMR and Acid Hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 68, 235–241.
- Zyani, M., Mortabit, D., Mostakim, M., Iraqui, M., Haggoud, A., Ettayebi, M., Ibnsouda Koraichi, S., 2009. Cellulolytic potential of fungi in wood degradation from an old house at the Medina of Fez. *Annals of Microbiology*, 59, 699–704.
- Zyani, M., Mortabit, D., Abed, S. El, Remmal, A., Ibnsouda, S., 2011. Antifungal activity of Five Plant Essential Oils against wood decay fungi isolated from an old house at the Medina of Fez. *Research Journal of Microbiology*, 2, 104–108.
- Zyani, M., Mortabit, D., Ibnsouda Koraichi, S., 2014. Psychrophilic Wood-inhabiting bacteria at the old Medina of Fez. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology*, 1, 102–110.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des milieux de culture utilisés**Tableau 1:** Composition du milieu LB (Luria Bertani) (g/l)

Constituant	Quantité (g)
Peptone	10
NaCl	10
Extrait de levure	5
Agar	20

Tableau 2 : Composition du milieu EM (Extrait de Malt) (g/l)

Constituant	Quantité (g)
Extrait de Malt	30
Agar	13

Tableau 3 : Composition du milieu Mueller-Hinton Agar (HHA) (g/l)

Constituant	Quantité
Amidon	1.5
Extrait de viande	2
Hydrolysate de caséine	17.5
Agar	17

Annexe 2 : Alignement entre les séquences obtenues des isolats et les séquences de référence disponibles dans la base de données sur le site NCBI

1. Alignements des isolats bactériens

Query	1	TGACGGAGC-ACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGG	59
Sbjct	331	TGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGG	390
Query	60	GAAGAACAAGTGCGAGAGTAAGTGCCTCGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGG	119
Sbjct	391	GAAGAACAAGTGCGAGAGTAAGTGCCTCGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGG	450
Query	120	CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG	179
Sbjct	451	CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG	510
Query	180	GGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGG	239
Sbjct	511	GGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGG	570
Query	240	GGAGGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGT	299
Sbjct	571	GGAGGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGT	630
Query	300	AGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTG	359
Sbjct	631	AGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTG	690
Query	360	TAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC	419
Sbjct	691	TAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC	750
Query	420	ACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAA	479
Sbjct	751	ACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAA	810
Query	480	CGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACG	539
Sbjct	811	CGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACG	870
Query	540	GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACC	599
Sbjct	871	GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACC	930
Query	600	AGGTCTTGACATCCTCTGACAACCTTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGAC	659
Sbjct	931	AGGTCTTGACATCCTCTGACAACCTTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGAC	990
Query	660	AGGTGGTGCATGGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTTAAGTCCCGCAA-	718
Sbjct	991	AGGTGGTGCAT-GGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGG-TTAAGTCCCGCAAC	1048
Query	719	CGAGCGCAACCCCTTTGATCTTTAGTTTGCCAGCATTTCAGTTTGGG	764
Sbjct	1049	CGAGCGCAACCCCTTTGATCTTAAGTT-GCCAGCATT-CAGTTTGGG	1092

Figure 1 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARNr 16S de l'isolat MB1 et celui de *Bacillus safensis*.

Query	1	TGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTTCMGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCG	60
Sbjct	1293	TGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCG	1234
Query	61	AACTGAGAACAGATTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGT	120
Sbjct	1233	AACTGAGAACAGATTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGT	1174
Query	121	CCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCCCA	180
Sbjct	1173	CCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTGACGTCATCCCCA	1114
Query	181	CCTTCCTCCGGTTTGTACACGGCAGTCACCTTARAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTA	240
Sbjct	1113	CCTTCCTCCGGTTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTA	1054
Query	241	AGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGA	300
Sbjct	1053	AGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGA	994
Query	301	CAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCA	360
Sbjct	993	CAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCA	934
Query	361	GAGGATGTCAMSACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTC	399
Sbjct	933	GAGGATGTC AAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTC	895

Figure 2 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARNr 16S de l'isolat MB2 et celui de *Bacillus subtilis*.

Query	1	CCGCCCTATTTCGA-CGGTACTTGTTCCTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACC	59
Sbjct	474	CCGCCCTATTTCGAACGGTACTTGTTCCTCCCTAACAAACAGAGCTTTACGATCCGAAAACC	415
Query	60	TTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACT	119
Sbjct	414	TTCATCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTTTCGTCCATTGCGGAAGATTCCCTACT	355
Query	120	GCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCA	179
Sbjct	354	GCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGATCACCCCTCTCA	295
Query	180	GGTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCATTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGC	239
Sbjct	294	GGTCGGCTACGCATCGTTGCCTTGGTGAGCCATTACCTCACCAACTAGCTAATGCGCCGC	235
Query	240	GGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTTTGAACCATGCGGTTCAAAC	299
Sbjct	234	GGGTCCATCTGTAAGTGGTAGCCGAAGCCACCTTTTATGTTTGAACCATGCGGTTCAAAC	175
Query	300	AACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCC	359
Sbjct	174	AACCATCCGGTATTAGCCCCGGTTTCCCGGAGTTATCCAGTCTTACAGGCAGGTTACCC	115
Query	360	ACGTGTTACTCACCCGTCCGCGCTAACATCAGGGAGCAAGCTCCCATCTGTCCGCTCGA	419
Sbjct	114	ACGTGTTACTCACCCGTCCGCGCTAACATCAGGGAGCAAGCTCCCATCTGTCCGCTCGA	55
Query	420	CTTGATGTATTAGGCACGCCGCCAGCGTTCGTCTTGAGC	459
Sbjct	54	CTTGATGTATTAGGCACGCCGCCAGCGTTCGTCTTGAGC	15

Figure 3 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARNr 16S de l'isolat MB4 et celui de *Bacillus licheniformis*.

Query	2	GGCCCGGAAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCA	61
Sbjct	1358	GGCCCGGAAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCA	1299
Query	62	TGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGAGAACGGTTTATGAGATTAGCTCCACC	121
Sbjct	1298	TGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGAGAACGGTTTATGAGATTAGCTCCACC	1239
Query	122	TCGCGGTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAG	181
Sbjct	1238	TCGCGGTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAG	1179
Query	182	GGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTA	241
Sbjct	1178	GGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCACCTTA	1119
Query	242	AAGTGCCCAACTAAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAC	301
Sbjct	1118	GAGTGCCCAACTAAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAC	1059
Query	302	CCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAA	361
Sbjct	1058	CCAACATCTCAGCACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAA	999
Query	362	GGAGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGG	421
Sbjct	998	GGAGAAGCCCTATCTCTAGGGTTGTGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGT	939
Query	422	TGCTGCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCCTTTGAGT	481
Sbjct	938	TGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCCTTTGAGT	879
Query	482	TTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAA	541
Sbjct	878	TTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACTAAA	819
Query	542	GGGCGGAGACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCT	601
Sbjct	818	GGGCGGAGACCCTCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCT	759
Query	602	AATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTC	627
Sbjct	758	AATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCG	733

Figure 4 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARNr 16S de l'isolat MB5 et celui de *Bacillus cereus*.

2. Alignements des isolats fongiques

Query	1	CTGAG-WAATTAAAGGTTGGGGGTCGGCTGGCGCCGGCCGGGCCTACTAGAGSGGGTGAC	59
Sbjct	487	CTGAGATAATTAAAGGTTGGGGGTCGGCTGGCGCCGGCCGGGCCTACTAGAGCGGGTGAC	428
Query	60	GAAGCCCCATACGCTCGAGGACCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTCGGGCCCCGTCCCC	119
Sbjct	427	GAAGCCCCATACGCTCGAGGACCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTCGGGCCCCGTCCCC	368
Query	120	CCGGCgggggggACSGGGCCCAACACACAAGCCGGGCTTGAGGGCAGCAATGACGCTCGG	179
Sbjct	367	CCGGCGGGGGGACGGGGCCCAACACACAAGCCGGGCTTGAGGGCAGCAATGACGCTCGG	308
Query	180	ACAGGCATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCA	239
Sbjct	307	ACAGGCATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCA	248
Query	240	CTGAATTCTGCAATTCACATTAGTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTTCATCGATGCCGAA	299
Sbjct	247	CTGAATTCTGCAATTCACATTAGTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTTCATCGATGCCGAA	188
Query	300	CCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTAATTTTCGTTATAGGTCTCAGACTGCAACTT	359
Sbjct	187	CCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTAATTTTCGTTATAGGTCTCAGACTGCAACTT	128
Query	360	CAGACRGCCTTCAGGGGGGCGTCGGCGGGCGCGGGGCCCGCCGAGGCWMCATAGGTTTCG	419
Sbjct	127	CAGACACGCTTCAGGGGGGCGTCGGCGGGCGCGGGGCCCGCCGAGGCAACATAGGTTTCG	68
Query	420	GGCAACACGGGTGGGAGGTTG	440
Sbjct	67	GGCAACACGGGTGGGAGGTTG	47

Figure 5 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARN 5,8S de l'isolat MC2 et celui de *Penicillium sp.*

Query	5	GTMACCTGAG-WAATTAAAGGTTGGGGGTCGGCTGGCGCCGGCCGGGCCTACTAGAGSGG	63
Sbjct	538	GTCACCTGAGATAATTAAAGGTTGGGGGTCGGCTGGCGCCGGCCGGGCCTACTAGAGCGG	479
Query	64	GTGACGAAGCCCCATACGCTCGAGGACCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTCGGGCCCCG	123
Sbjct	478	GTGACGAAGCCCCATACGCTCGAGGACCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTCGGGCCCCG	419
Query	124	TCCCCCGGCGGGGGGACSGGGCCCAACACACAAGCCGGGCTTGAGGGCAGCAATGACG	183
Sbjct	418	TCCCCCGGCGGGGGGACSGGGCCCAACACACAAGCCGGGCTTGAGGGCAGCAATGACG	359
Query	184	CTCGGACAGGCATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATG	243
Sbjct	358	CTCGGACAGGCATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATG	299
Query	244	ATTCACCTGAATTCTGCAATTCACATTAGTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGC	303
Sbjct	298	ATTCACCTGAATTCTGCAATTCACATTAGTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGC	239
Query	304	CGGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTAATTTTCGTTATAGGTCTCAGACTGC	363
Sbjct	238	CGGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTAATTTTCGTTATAGGTCTCAGACTGC	179
Query	364	AACTTCAGACRGCCTTCAGGGGGGCGTCGGCGGGCGCGGGGCCCGCCGAGGCWMCATAG	423
Sbjct	178	AACTTCAGACAGCGTTTCAGGGGGGCGTCGGCGGGCGCGGGGCCCGCCGAGGCAACATAG	119
Query	424	GTTTCGGGCAACACGGGTGGGAGGTTG	449
Sbjct	118	GTTTCGGGCAACACGGGTGGGAGGTTG	93

Figure 6 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARN 5,8S de l'isolat MC4 et celui de *Penicillium citrinum*.

```

Query 1   CTAACACTGTTGCTTCGGCGGGGAGCCCTCTCGGGGGCGAGCCGCCGGGGACTACTGAAC   60
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 102 CTAACACTGTTGCTTCGGCGGGGAGCCCTCTCGGGGGCGAGCCGCCGGGGACTACTGAAC   161

Query 61  TTCATGCCTGAGAGTGATGCAGTCTGAGTCTGAATATAAAATCAGTCAAAACTTTCAACA   120
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 162 TTCATGCCTGAGAGTGATGCAGTCTGAGTCTGAATATAAAATCAGTCAAAACTTTCAACA   221

Query 121 ATGGATCTCTTGGTTCGGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAACTGCGATAAGTAATGTGAA   180
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 222 ATGGATCTCTTGGTTCGGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAACTGCGATAAGTAATGTGAA   281

Query 181 TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGCATTCCGG   240
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 282 TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGCATTCCGG   341

Query 241 GGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGT   297
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 342 GGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCCCGGCTTGTGTGTTGGGT   398

```

Figure 7 : Alignement entre le segment du gène codant pour l'ARN 5,8S de l'isolat MC5 et celui d'*Aspergillus niger*.

Annexe 3 : Courbes d'étalonnage établies avec l'acide gallique comme référence pour les polyphénols et avec de la quercitrine pour les flavonoïdes (b)

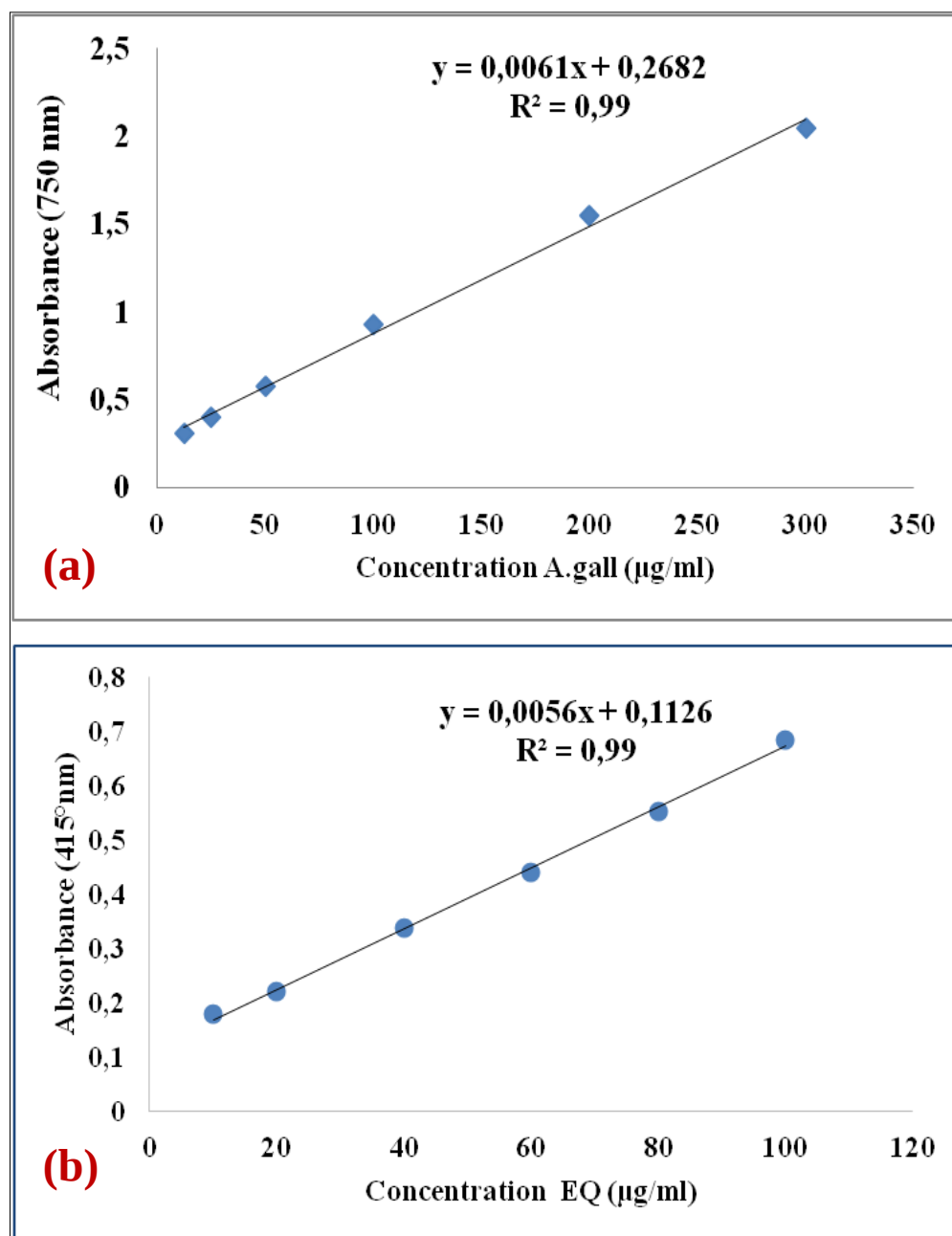


Figure 8 : Courbes d'étalonnage établies avec l'acide gallique (a) et la quercitrine (b).