



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques
www.fst-usmba.ac.ma



Année Universitaire : 2014-2015

Master Sciences et Techniques : Biotechnologie microbienne
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

**Contribution à l'étude de l'activité antiadhésive
de la vapeur de composés majoritaires des huiles
essentielles contre les champignons dégradant le
bois de cèdre.**

Présenté par :
BAKKALI Halim

Encadré par :
-Pr. IBNSOUDA Saad Koraichi
-Pr. EL ABED Soumya

Soutenu le : 27 Juin 2015 à 9h00 Devant le jury composé de :

-Pr. IBNSOUDA Saad Koraichi
-Pr. EL ABED Soumya
-Pr. EL FARICHA Omar
-Pr. BOUKIR abdellatif

Stage réalisé au Laboratoire de Biotechnologie Microbienne
Faculté des Sciences et Techniques de Fès

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – **Fax** : 212 (35) 60 82 14

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, j'aimerais tout d'abord exprimer mes sincères remerciements au professeur IBNSOUDA Saad Koraichi et Madame le professeur EL ABED Soumya pour m'avoir accueilli au sein de laboratoire de biotechnologie microbienne, pour leur formation, leurs remarques et critiques et leur encadrement durant ce stage.

Merci également à Monsieur le professeur BOUKIR Abdellatif et Monsieur le professeur EL FARRICHA Omar d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer mon travail.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à mes chers parents et mes amis pour leur soutien et leur encouragement tout au long de mes études. J'espère qu'ils trouvent ici toute ma gratitude, ma reconnaissance et tout mon amour.

De même, je tiens à remercier vivement mes chers Professeurs et Collègues de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Pr. Abdellatif HAGGOU, Pr. Naima ELGHACHTOULI Pr. Kawtar FIKRI BENBRAHIM, Pr. Mohammed HOUSSAINI IRAQUI, Moulay SADIKI, Hassan BARKAI MAIDE, Sara LEBRAZI, Amal ELAABEDY, Meryem ASRI, Maroua CHRAÏBI, Oumaima AMINE, Mounir BALOUIRI, Yassir LEKBACH auprès desquelles j'ai trouvé l'appui nécessaire pour l'élaboration du présent travail.

Enfin, je tiens à remercier tous les enseignants et les intervenants au Master biotechnologie microbienne pour les efforts précieux et considérables qu'ils ont accomplis pour assurer notre formation universitaire.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

HE.....	Huile essentielle.
ESEM.....	Environmental Scanning Electronic Microscope.
MEBE.....	Microscope Electronique à Balayage Environnemental.
PEO.....	polyéthylène oxyde.
PEG.....	Polyéthylène glycol.
W.....	Water
F.....	Foramamide
D.....	Diiodométhane

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Différents traitements chimiques pour la lutte contre les biofilms	13
Tableau 2 : Revue des différents travaux concernant la lutte contre les biofilms par les huiles essentielles.....	15
Tableau 3 : Revue des différents travaux concernant la lutte contre les biofilms par les huiles essentielles et leurs composés majoritaires.....	16
Tableau 4 : Caractéristiques énergétiques des liquides utilisés pour la mesure des angles de contact.....	23
Tableau 5 : Résultats de la mesure des angles de contact de la surface du bois traités ainsi que le calcul des valeurs de ΔG_{iwi}	27
Tableau 6 : Résultat de la mesure du caractère donneur et accepteur d'électrons de la surface du bois de cèdre traité.....	30

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Exemple d'utilisation du bois de cèdre dans les monuments historiques.....	4
Figure 2 : Les pourritures du bois (a) pourriture brune /cubique (b) pourriture molle (c) pourriture blanche	6
Figure 3 : Schéma des étapes de la formation d'un biofilm.....	7
Figure 4 : Clichés MEB représentant a) une bactérie à l'état planctonique, b) l'adhésion permanente de microorganismes sur la surface sous forme sessile, c) le développement des microcolonies et d) le biofilm formé.....	8
Figure 5 : Photos du traitement des morceaux de bois par la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles.....	19
Figure 6 : Structure chimique des composés majoritaires des HE	20
Figure 7 : Appareil de mesure de l'angle de contact.....	20
Figure 8 : Angle de contact θ formé par une goutte d'eau sur une surface hydrophile (a) et hydrophobe (b).....	21
Figure 9 : Protocole de l'adhésion des micro-organismes au bois.....	24
Figure 10 : Microscope électronique à balayage environnemental.....	25
Figure 11 : Schéma des composants essentiels d'un microscope électronique à balayage.....	26
Figure 12 : Effet du temps de contact de la vapeur des composés majoritaires des HE sur l'hydrophobicité de surface du bois de cèdre.....	28
Figure 13 : Effet du temps de contact de la vapeur des composés majoritaires des HE sur le caractère donneur et accepteur d'électrons.....	31
Figure 14 : Observation par ESEM de l'adhésion de <i>Thielavia hyalocarpa</i> et <i>Pencillium commune</i> au bois de cèdre non traité.....	33

Figure 15 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur du carvone sur l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* et *Pencillium commune* à la surface du bois après 4h et 24h de contact.....34

Figure 16 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur d'Eucalyptol sur l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* et *Pencillium commune* à la surface du bois après 4h et 24h de contact.....35

Figure 17 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur du Carvacrol sur l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* et *Pencillium commune* à la surface du bois après 4h et 24h de contact.....36

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
--------------	---

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. DÉGRADATION DU BOIS PAR LES MICRO-ORGANISMES	4
1. Bois de cèdre : Exploitation et biodégradation	4
2. Biodétérioration du bois	5
3. Agents responsables de la dégradation du bois	5
a. Bactéries du bois	5
b. Champignons du bois	5
II. LES BIOFILMS	7
1. Qu'est-ce qu'un biofilm	7
2. Formation des biofilms	7
Transport	8
Conditionnement de la surface	8
Adhésion des microorganismes	8
Croissance et maturation du biofilm	9
Dispersion du biofilm	9
3. Mécanismes et interactions physico-chimiques responsables de l'adhésion microbienne	9
Interaction de van der Waals	10
Les interactions électrostatiques	10
Les interactions polaires	10
4. Facteurs influençant l'adhésion microbienne	11
Facteur liés aux microorganismes	11
Facteur liés au support	11
Facteur liés à l'environnement	11
III. AXE DE RECHERCHE DES BIOFILMS SUR LE BOIS	12
1. Préservation du bois	12
2. Moyens de lutte contre les biofilms	12
Traitement physique	12
Traitement chimiques	13
Traitement biologique	14

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Effet de la vapeur de trois composés majoritaires des huiles essentielles sur les caractéristiques physicochimiques du bois de cèdre. -----	19
a. Préparation de substrat -----	19
b. Traitement des morceaux de bois de cèdre par la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles.-----	19
c. Caractérisation physico-chimiques de la surface du bois traités -----	20
2. Effet de la vapeur de trois composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre. -----	23
a. Spores fongiques et condition de culture -----	23
b. Test de l'adhésion -----	23
c. Observation au microscope électronique à balayage environnemental -----	24

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. Caractérisation physico-chimiques de la surface du bois traités-----	27
a. Effet du temps de contact des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'hydrophobicité du bois de cèdre -----	27
b. Caractère donneur-accepteur d'électrons du bois de cèdre traité par la vapeur des composés majoritaire des HE. -----	30
2. Effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre.-----	33
a. Témoin (surface non-traitée)-----	33
b. Effet antiadhésif de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles. -----	33
3. Corrélation entre les caractéristiques physico-chimiques du bois de cèdre et l'adhésion des spores fongiques.-----	38
CONCLUSION ET PERSPECTIVES -----	39
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	40
ANNEXE -----	47

INTRODUCTION

Le bois de cèdre est un matériau composite naturel, utilisé depuis fort longtemps dans la construction et la décoration des maisons et des monuments historiques notamment dans les villes impériales : Fès, Marrakech, Rabat, Meknès, Tétouan...

Toutefois, en tant que matériau riche en sucre, le bois est sensible à de nombreux agents de dégradation abiotique et biotique comme les insectes et les champignons. En effet, toute surface plongée dans un milieu non stérile se recouvre de microorganismes qui forment des biofilms, ces derniers peuvent être définis comme étant des communautés microbiennes attachées de façon irréversible à une surface et présentant des caractéristiques phénotypiques qui les distinguent des microorganismes planctoniques, une des principales caractéristiques réside dans leur résistance accrue aux agents de désinfections, cette résistance a pour conséquence une difficulté de traitement.

Depuis leur découverte et jusqu'à ce jour, les recherches concernant les moyens de lutte contre les biofilms se multiplient. Pour lutter contre les biofilms, deux grandes stratégies sont envisageables. La première manière de procéder est d'éviter ou de contrôler la formation du biofilm. Elle correspond à la stratégie préventive. La seconde possibilité est de détruire ou de réduire le biofilm pendant ou après sa formation. C'est la stratégie curative.

L'exploitation des molécules antimicrobiennes naturelles contenues dans les plantes aromatiques essentielles a été reportée dans la littérature scientifique comme une nouvelle approche biologique de lutte contre la formation des biofilms aux surfaces. Effectivement, les huiles essentielles et leurs composés majoritaires sont des substances reconnues par leur activité antimicrobienne et antifongique, d'où l'intérêt potentiel de les utiliser comme un moyen de traitement des biofilms.

À notre connaissance, aucune étude scientifique n'a été publiée sur l'utilisation de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles comme moyen de lutte contre la formation des biofilms à la surface du bois de cèdre. De ce fait, le présent travail s'est fixé comme objectif d'étudier :

- L'effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur les propriétés physicochimiques de bois de cèdre.
- L'effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre.

A decorative border resembling a scroll, with a blue outline and grey scroll ends at the top-left, top-right, and bottom-left corners.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. DÉGRADATION DU BOIS PAR LES MICRO-ORGANISMES

1. Bois de cèdre : Exploitation et biodégradation

Le bois de cèdre est un matériau ancestral utilisé depuis des siècles dans la construction, l'ameublement, et la décoration des maisons et des monuments historiques dans plusieurs villes au Maroc (M'hirit et Benzyane 2006) (figure 1). Il est constitué généralement de quatre types de molécules particuliers :

- La cellulose : il s'agit d'un polysaccharide qui représente environ 40% du matériau.
- Les hémicelluloses : polysaccharides constitués de différents types de sucres (xylose, galactose, mannose) ils représentent environ 30% du bois.
- La lignine : molécule qui joue le rôle de liant entre la cellulose et l'hémicellulose.
- Les extractibles : molécules de diverses natures et de faible poids moléculaire.

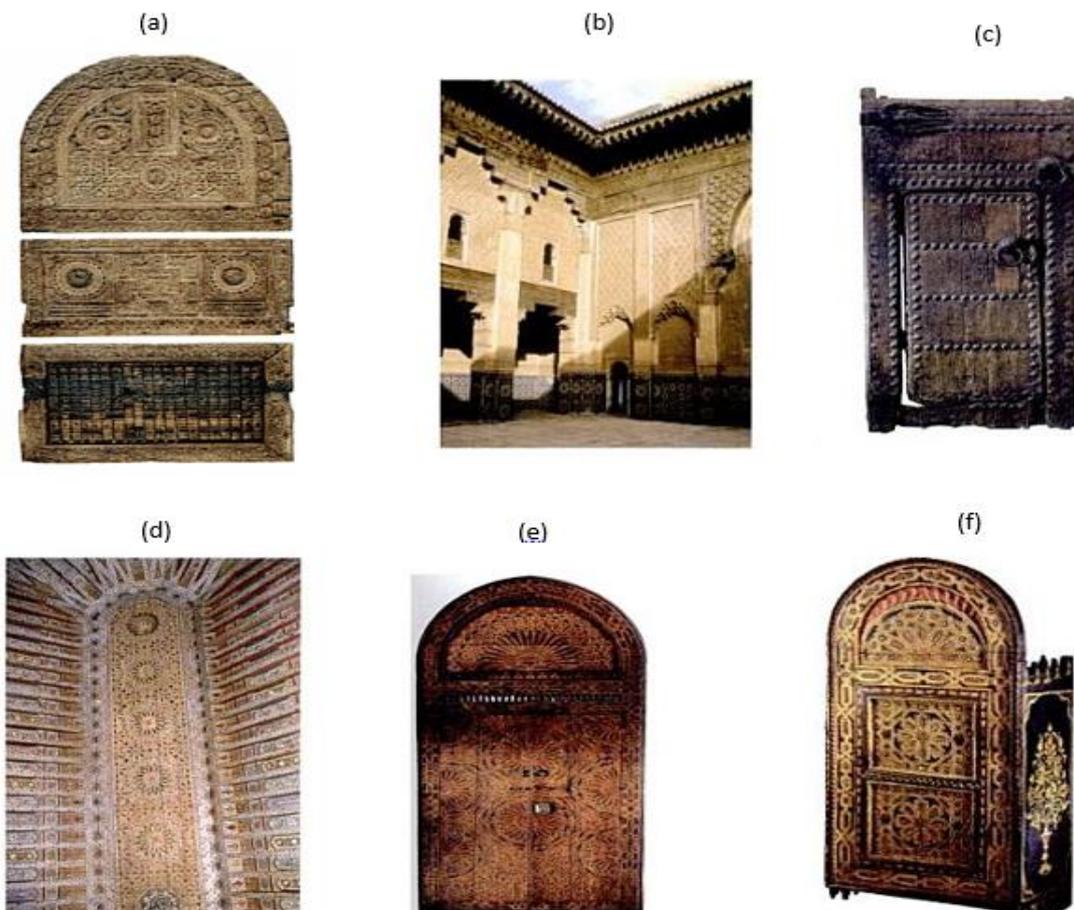


Figure 1 : Exemple d'utilisation du bois de cèdre dans les monuments historiques (a) Eléments du minbar (mosquée des Andalous), Fès (b) Medersa Ben Youssef, Marrakech (c) Porte d'extérieur musée des arts tradition Fès (d) Plafond en cèdre peint (e) Porte en cèdre sculpté et peint Meknès (f) Coffre à motif géométriques cèdre sculpté et peint

Cette composition complexe et riche en sucres fait du bois une source majeure de nourriture pour de nombreux prédateurs (insectes, champignons, bactéries), en effet, des individus microscopiques comme les bactéries et les champignons peuvent coloniser ce matériau pour s'en nourrir(SURINI 2012) ce qui entraîne des dégâts résultant des milliards de dollars dépensés chaque année pour la réparation et le remplacement des structures en bois(Goodell et al 2003).

La biodégradation désigne le processus de décomposition d'un substrat organique par des organismes vivants. Ce phénomène est influencé par de nombreux facteurs comme l'activité et la demande en nutriments, les conditions environnementales et la mobilité des éléments nutritifs(Gosz et al 1973).

2. Biodétérioration du bois

En tant que matériau naturel et riche en composés qui peuvent servir comme source d'alimentation à toute une variété d'organismes vivants, le bois est sensible à de nombreux agents de dégradation abiotique et biotique comme les insectes et les microorganismes (bactéries et champignons)(Lekounougou 2008). Cette biodégradation est nommée une biodétérioration lorsqu'il aboutit à une modification indésirable des propriétés physico-chimiques et mécaniques du matériau en question. Dans le cas du bois, les détériorations les plus importantes sont provoquées par les champignons qui ont une capacité à décomposer les polymères complexes qui constituent ce matériau(Eggins et Oxley 2001).

3. Agents responsables de la dégradation du bois

a. Bactéries du bois

Les bactéries sont parmi les premiers microorganismes à coloniser le bois et agissent souvent en synergie avec les champignons. Elles sont présentes dans les bois immergés ou en contact avec le sol, mais leurs rôles est relativement peu importants comparativement à celui des champignons sauf en milieu anaérobique où leur action devient prépondérante.

b. Champignons du bois

Les champignons sont les principaux acteurs de la dégradation de la matière organique, principalement les polymères structuraux tels que le bois. Ces champignons décomposeurs peuvent être classés selon la pourriture qu'elles engendrent en trois types :

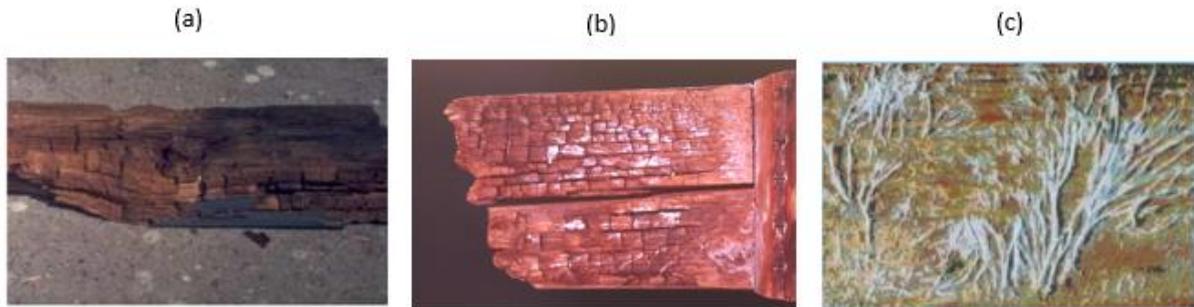


Figure 2 : Les pourritures du bois (a) pourriture brune /cubique (b) pourriture molle (c) pourriture blanche

- **Champignons de pourriture brune /cubique**

Ce sont des espèces fongiques généralement des basidiomycètes qui dépolymérisent et métabolisent les polysaccharides du bois en laissant qu'un résidu brun de lignine modifiée ou légèrement dépolymérisée. Le bois altéré prend une teinte foncée et se fragmente selon trois axes perpendiculaires donnant des cubes d'où le nom de pourriture cubique(Niemenmaa et al. 2008)(Yelle et al. 2011)(Yelle et al. 2008).

- **Champignons de pourriture molle**

Ce sont surtout les ascomycètes et les deutéromycètes. Cette pourriture est due à l'association de champignons microscopiques dégradant préférentiellement la cellulose, il en résulte un bois noirâtre et mou avec parfois même une pourriture cubique superficielle(Lyon 2007), mais les dégradations sont généralement moindres qu'avec une autre pourriture(Del Río et al. 2001).

La pourriture molle ne se développe que dans des conditions très humides et elle peut apparaître lorsque le bois est mis en contact avec le sol, là où l'oxygène est limité(Björdal et al. 1999).

- **Champignons de pourriture blanche**

Contrairement aux pourritures brunes, les espèces fongiques des pourritures blanches sont capables de se nourrir de la totalité du bois, il cause la dégradation aussi bien de la lignine que de la cellulose et l'hémicellulose, mais de façon moins intense pour ces deux derniers polysaccharides (Dumonceaux et al. 1998). Il existe deux types de pourritures blanches : la pourriture dite sélective, va dégrader préférentiellement la lignine et l'hémicellulose alors qu'une pourriture non sélective qui va s'attaquer à tous les constituants du bois y compris la cellulose (Blanchette et al. 1997)(Hwang et al. 2007).

II. LES BIOFILMS

1. Qu'est-ce qu'un biofilm ?

Les microorganismes constituent la majorité de la biomasse vivante sur terre. Bactéries, virus, champignons microscopiques micro-algues protozoaires tous sont invisibles à l'œil nu et pourtant ils sont plus nombreux que les organismes macroscopiques. Ces microorganismes existent généralement dans l'environnement sous l'un des deux états suivantes : planctonique, libre dans le milieu, ou en tant qu'unité attachée à une surface, on parle alors de communauté microbienne sessile (Garrett et al. 2008).

Un biofilm est défini comme étant une communauté microbienne adhérente à une surface et fréquemment incluse dans une matrice de polymères exocellulaires. La production de cette dernière est réalisée par les micro-organismes adhérents, elle est majoritairement constituée de polysaccharides et en moindre mesure de glycoprotéines, de glycolipides et d'acides nucléiques (Flemming et al. 2007) (La Barre et Haras 2007).

2. Formation des biofilms

La formation d'un biofilm est dépendante de nombreux paramètres environnementaux, l'étude de ce phénomène d'agrégation est donc complexe et révèle de l'interdisciplinarité : microbiologie, biologie moléculaire, génétique, physicochimie de surface (La Barre et Haras 2007) (Kolter et Greenberg 2006) (Filloux et Vallet 2003). La constitution d'un biofilm se déroule selon les étapes suivantes :

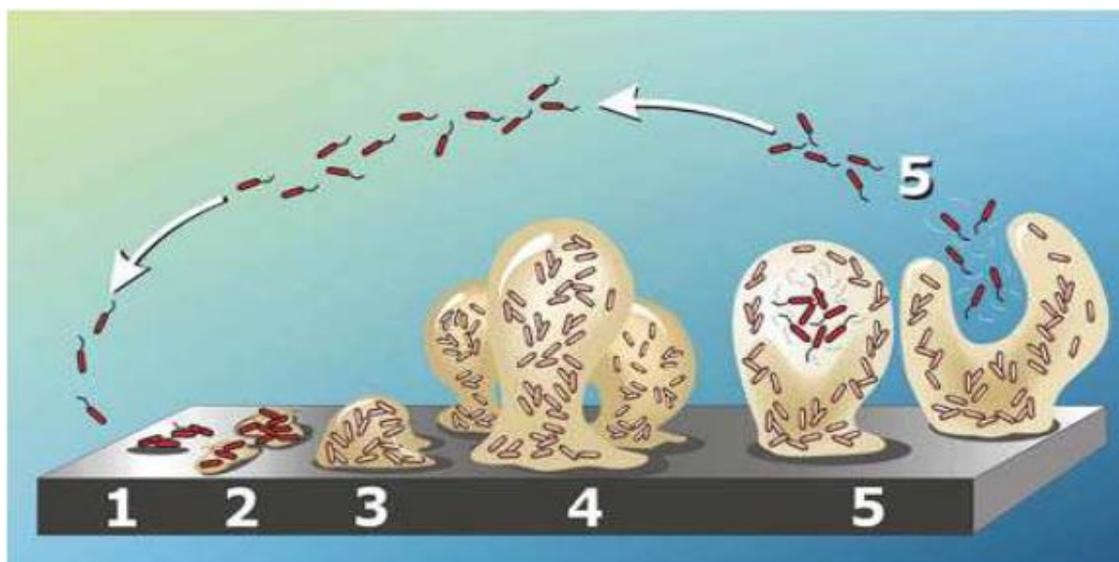


Figure 3 : Schéma des étapes de la formation d'un biofilm.



Figure 4 : Clichés MEB représentant a) une bactérie à l'état planctonique, b) l'adhésion permanente de microorganismes sur la surface sous forme sessile, c) le développement des microcolonies et d) le biofilm formé

Transport

Le transport des microorganismes vers le support dépend de divers signaux environnementaux et nutritionnels qui vont attirer ou repousser les cellules planctoniques, ces dernières peuvent alors être déposées sur la surface à coloniser par gravitation, diffusion, turbulence du liquide, ou encore par la mobilité intrinsèque des microorganismes (Donlan et Costerton 2002) (Thomas et al. 2002).

Conditionnement de la surface

La surface d'un support est le siège d'une absorption spontanée de molécules organiques (protéines, lipides, nutriments) et d'ions conduisant à la formation d'un film primaire. Ce film confère de nouvelles propriétés physicochimiques à la surface en question, ce qui a pour conséquence soit, de prévenir l'approche des microorganismes ou à l'inverse, de créer un environnement idéal à l'adhésion et la croissance des microorganismes.

Adhésion des microorganismes

La présence du film conditionnant sur la surface conduit à des interactions de différentes natures entre les cellules planctoniques et le support récepteur. Cette étape est liée à de nombreux facteurs dépendant des trois principaux acteurs qui sont la surface, le milieu, et les microorganismes.

Adhésion réversible

L'adhésion réversible est considérée comme un attachement faible des cellules microbiennes à la surface. Au cours de cette étape, les microorganismes établissent un premier contact avec le support et interagissent avec le film conditionnant, cette adsorption ne fait intervenir que des processus physiques (interaction électrostatiques et électrodynamiques) et des liaisons chimiques non covalentes faibles, les microorganismes peuvent alors facilement être détachés de la surface et retrouver son état planctonique.

Adhésion irréversible

L'attachement réversible est suivi d'une association stable avec la surface appelée « adhésion irréversible » cette étape est plus lente que la précédente, elle est rendue possible par l'expression d'un certain nombre de protéines d'adhérences comme les pilis, les fimbriaes et les curlis. Ainsi la sécrétion d'exopolymère abouti à la formation des ponts de fixation permettant de consolider l'attachement des cellules sur le support(Abed et al. 2008).

Croissance et maturation du biofilm

La maturation du biofilm est caractérisée par la multiplication des cellules microbiennes adhérees irréversiblement à la surface, elle conduit à la formation des colonies qui vont couvrir toute une partie du support, ces microorganismes vont continuer à sécréter la matrice exocellulaire qui va leur permettre une protection contre les stress.

La structure de l'ensemble va évoluer vers une structure tridimensionnelle dans laquelle se forment des canaux permettant la circulation des nutriments, de l'oxygène et l'évacuation des produits issus du métabolisme microbienne.

Dispersion du biofilm

La dernière étape du cycle de vie d'un biofilm est la phase de détachement. Les stress physiques, chimiques et biologiques sont les facteurs responsables de la dispersion des biofilms dans le milieu ambiant, ce phénomène va permettre aux microorganismes de retrouver son état planctonique et de coloniser de nouvelles surfaces afin de réinitialiser un nouveau biofilm(Parsek et Greenberg 2005).

3. Mécanismes et interactions physico-chimiques responsables de l'adhésion microbienne

Le processus d'adhésion microbienne aux surfaces est conditionné par un certain nombre de facteur, y compris les interactions physicochimiques, ces interactions comprennent essentiellement :

- Les interactions de van der Waals.
- Les interactions électrostatiques.
- Les interactions polaire ou acido-basique.

Interaction de van der Waals

Les forces de van der Waals correspondent à des phénomènes complexes et universels qui interviennent quels que soit le corps considérés. Ces forces peuvent se décrire brièvement comme une interaction attractive entre deux atomes neutres.

Les interactions électrostatiques

Toute particule immergée dans un fluide porte une charge par le fait de l'adsorption ou l'ionisation des groupements de sa paroi externe. Pour un pH neutre, la plupart des particules solides sont chargées négativement. Ces interactions électrostatiques dépendent de la charge des particules, de leurs géométries, de la distance de séparation et de la force ionique du milieu.

Les interactions polaires

Parmi les interactions fondamentales impliquées dans les phénomènes d'adhésion des microorganismes aux supports on trouve Les interactions polaires ou aussi nommées interaction acide base de Lewis, ces interactions sont dues aux caractères électron-donneur et électron-accepteur des espèces dans milieu aqueux, et décroissent de façon exponentielle en fonction de la distance.

Liaison hydrogène : un composé donné peut être caractérisé comme hydrophile (capable d'intervenir dans la formation des liaisons hydrogènes) ou hydrophobe (incapable d'intervenir dans la formation des liaisons hydrogènes) une liaison hydrogène est définie comme étant une interaction électrique entre un atome électronégatif et un atome d'hydrogène liée à un atome électronégatif.

Répulsion hydrophile : dans le cas des surfaces polaires ou chargées, les groupements fonctionnels de ces surfaces s'associent avec des molécules d'eau ce qui aboutit à la formation des surfaces hydratées. La présence de cette eau liée induit une énergie de répulsion hydrophile lorsque deux surfaces hydratées se rapprochent.

Interaction hydrophobe : dans le cas des surfaces non polaires, l'eau va tendre à se dissocier de ce type de surface ce qui se traduit par une énergie d'attraction hydrophobe.

4. Facteurs influençant l'adhésion microbienne

L'adhésion microbienne sur un support est l'une des principales étapes du développement d'un biofilm. Ce processus est influencé par un certain nombre de paramètres physiques, chimiques, et biologiques susceptibles de modifier les interactions entre les trois acteurs de ce phénomène qui sont la surface, les microorganismes et l'environnement aqueux.

Facteur liés aux microorganismes

Les biofilms sont des communautés bactériennes aux seins des quelle on peut trouver de nombreux espèces différentes. Toute modification des caractéristiques physicochimiques de la surface ou encore la concentration microbienne de microorganismes peuvent entrainer une augmentation ou une diminution de l'adhésion microbienne(Grivet et al. 2000).

Facteur liés au support

Le type du matériau, l'hydrophobicité, la rugosité de surface, la charge de surface et la présence ou non d'un film conditionnant tous sont des paramètres importants qui peuvent influencer l'adhésion microbienne sur un support solide(Boulané-Petermann 1996).

Facteur liés à l'environnement

Les facteurs environnementaux tel que la température, le pH, la composition du milieu et les conditions hydrodynamiques peuvent également influencer le processus d'adhésion microbienne. En effet, plusieurs études ont montré que la modification de ces paramètres va conduire à une adhésion différente des microorganismes sur le support(Stanley 1983)(Pembrey et al. 1999).

III. AXE DE RECHERCHE DES BIOFILMS SUR LE BOIS

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 fait, le bois non durable par nature utilisé dans des milieux humides ou en contact avec le sol nécessite un traitement préalable contre les attaques fongiques et bactériennes, c'est pourquoi de nombreux produits et techniques ont été développés pour lutter contre cette dégradation indésirable de ce matériau.

2. Moyens 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, il est donc nécessaire de le traiter pour qu'il conserve toutes ses propriétés mécaniques et esthétiques.

L'élimination complète des biofilms après leurs formations est très difficile, c'est pourquoi plusieurs méthodes ont été utilisées dernièrement comme moyens de lutte contre ces communautés microbiennes afin d'empêcher le premier stade de leurs formations qu'est l'adhésion. Ces techniques sont soit de nature physique, chimique ou biologique.

Traitement physique

La réduction des interactions entre les cellules planctoniques et le support par la modification physique de surface est considérée parmi les méthodes les plus utilisées et les plus simples pour lutter contre la formation des biofilms. Effectivement, les caractéristiques physicochimiques du support tel que la rugosité, la charge de surface et l'hydrophobicité peuvent jouer un rôle important dans l'adhésion microbienne (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 et dont l'ensemble est électriquement neutre. Le processus d'ionisation peut se produire quand par exemple 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).

Une autre technique consiste à immobiliser en surface des matériaux des polymères comme le polyéthylène oxyde (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).

Une diminution de la colonisation microbienne a également été obtenue avec la technique de polissage électrique, des niveaux élevés de douceur peuvent être atteints en utilisant cette technique sur la surface d'acier inoxydable ce qui permet de protéger ce matériau contre l'adhésion des microorganismes et la formation ainsi des biofilms (Awad et al. 2012).

Traitement chimiques

Le tableau ci-dessous représente quelques traitements chimiques utilisés pour lutter contre la formation des biofilms

Tableau 1 : Différents traitements chimiques pour la lutte contre les biofilms

Souche	Surface	Traitement par	Référence
<i>Bacillus cereus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Matériaux d'industries agroalimentaires	Acide salicylique et acide férulique	(Lemos et al. 2014)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilms	surfaces de polystyrène	acide peracétique	(Martín-Espada et al. 2014)
<i>Bacillus sp</i>	Acier au carbone	4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one	(Moradi et al. 2013)
<i>Desulfovibrio vulgaris</i> Et <i>Desulfovibrio gigas</i> <i>Acinetobacter</i> ,	Les pipelines d'acheminement du pétrole et du gaz Chimiques	biocides de nature chimique	(Lavana et al. 2011)

Biofilms de détérioration du bois	Le bois	Biocides chimiques	(Kirkpatrick et Barnes 2006)
Biofilms	Surface plane	Ammoniums quaternaires et polymères cationiques	(Lin et al. 2002)

Traitement biologique

L'utilisation des produits chimiques pour lutter contre la formation des biofilms peut avoir des effets nocifs sur la biodiversité, c'est pourquoi les chercheurs ont orientés leurs recherches vers les produits biologiques naturels capables d'éviter l'adhésion indésirable des cellules planctoniques sur différents supports. En fait, différentes techniques basées sur l'utilisation des agents antimicrobiennes des plantes, de produits animaux ou encore de microorganismes peuvent être utilisées dans les traitements de surface, parmi ces méthodes on trouve : L'élaboration des surfaces à revêtement antimicrobienne, Cette technique permet non seulement de repousser les microorganismes du support en question mais aussi de les tués ces molécules antimicrobiennes (antibiotiques, antiseptiques ou enzyme) peut être soit, immobilisées sur le surfaces soit, incorporé dans le polymère.

Compte tenu de l'émergence des résistances aux antibiotiques et de la toxicité des molécules (métaux lourds) une nouvelle approche biologique de lutte contre la formation des biofilms a été rapporté dans la littérature scientifique, cette approche consiste a exploité les agents antimicrobienne naturelle contenue dans les plantes aromatiques que ça soit par les extraits brutes ou par les huiles essentielles.

Tableau 2 : Revue des différents travaux concernant la lutte contre les biofilms par les huiles essentielles.

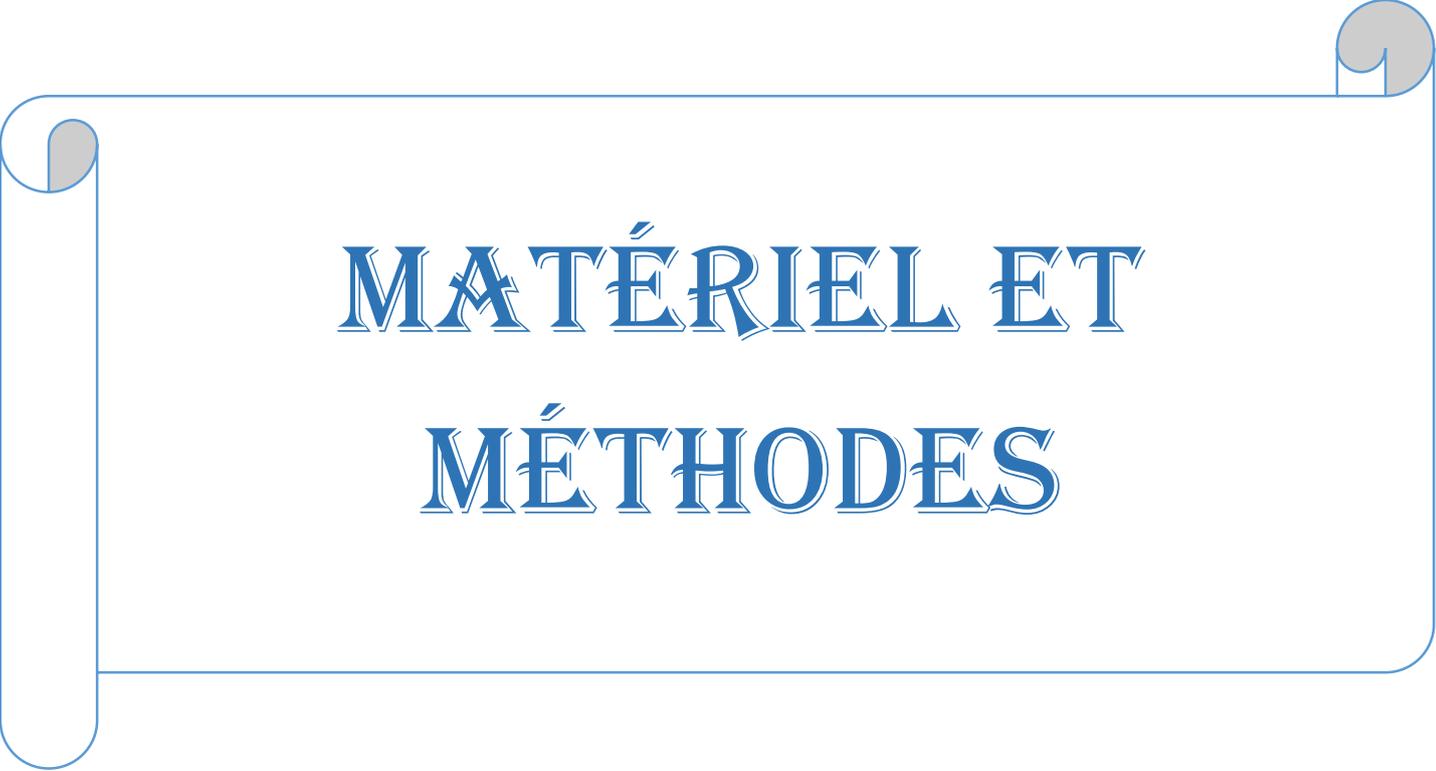
Souche	Huile essentielle ou composé majoritaire	surface	Référence
<i>Streptococcus pyogene</i>	Huile essentielle de <i>Patchouli modulate</i>		(Nithyanand et al. 2015)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Huiles essentielles de clou de girofle et de thym		(Manganyi et al. 2015)
<i>Streptococcus mutans</i>	Huiles essentielles de <i>Eucalyptus globulus et De Eucalyptus urograndis</i>		(Goldbeck et al. 2014)
<i>Listeria monocytogenes et Listeria innocua</i>	Huile essentielle de yarrow (<i>Achillea millefolium</i>)	Surface de polystyrène et de polyéthylène	(Jadhav et al. 2013)
<i>Gloeophyllum trabeum, Poria placenta, Coniophora puteana, Coriolus versicolor</i>	Huiles essentielles de <i>Piper capense, Piper borbonense et Vetiveria zizanoides</i>	Surface du bois	(Soirou et al. 2013)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Huile essentielle de <i>Mutellina purpurea</i>	Surface des matériaux médicaux	(Sieniawska et al. 2013)

Une huile essentielle ou huile aromatique est un mélange complexe de substances organiques aromatiques et liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des plantes aromatiques. Elles sont composées d'un mélange hétérogène complexe pouvant contenir plusieurs dizaines voire des centaines de constituants dont les teneurs relatives peuvent varier de l'état de trace à plus de 90%. Les composés majoritaires peuvent représenter, à eux seuls, plus de 85%, c'est pourquoi de nombreux chercheurs s'intéressent à étudier l'activité antifongique, antibactérienne et anti biofilms de ces composés

Tableau 3 : Revue des différents travaux concernant la lutte contre les biofilms par les huiles essentielles et leurs composés majoritaires.

Souche	Huile essentielle et/ ou composé majoritaire	surface	Référence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Escherichia coli</i> O157: H7 (EHEC). biofilms	Huile essentielle et composés majoritaires de l'écorce de cannelle	Surface solide	(Kim et al. 2015)
<i>Candida</i> biofilms	Huile essentielle et composés majoritaires de lemongrass	Surface des biomatériaux	(Taweechaisupapong 2012)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilms	Eugénol, carvéol, carvone et ionone	Surface de polystyrène	(El Abed et al. 2011b)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilms	Carvacrol et thymol		(El Abed et al. 2011c)

<i>Staphylococcus aureus</i>	Huile essentielle et composés majoritaires de citronnelle		(Aiensaard et al. 2011)
<i>Listeria monocytogenes</i> biofilms	Huile essentielle et composés majoritaires de <i>Syzygium aromaticum</i> (clove), <i>Mentha spicata</i> (spearmint), <i>Lippia rehmannii</i> et <i>Cymbopogon citratus</i> (lemongrass)	Surface des aliments	(Leonard et al. 2010)

A decorative border resembling a scroll, with a blue outline and grey shaded scroll ends at the top-left, top-right, and bottom-left corners.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Effet de la vapeur de trois composés majoritaires des huiles essentielles sur les caractéristiques physicochimiques du bois de cèdre.

a. Préparation de substrat

Pour faciliter leurs incubations dans les boîtes de pétri, les échantillons du bois de cèdre sont coupés en petits morceaux selon les dimensions suivantes : longueur 3.2 cm, largeur 1cm, épaisseur 0.3 cm. Ces morceaux ont subi ensuite un polissage mécanique à l'aide de papier abrasif de 600 et 1500 g/cm afin que les tests réalisés ne soient pas affectés par l'irrégularité de la surface du bois. Enfin les morceaux de bois de cèdre dimensionnés et polis sont lavés à 6 reprises avec de l'eau distillée puis séchés, emballés dans du papier aluminium et stérilisés par autoclavage pendant 20 min à 120 °C.

b. Traitement des morceaux de bois de cèdre par la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles.

Après avoir mis les morceaux de bois de cèdre dans les boîtes de pétri, des disques de papier whatman imbibés avec 50 µl d'un composé majoritaire sont fixés sur le couvercle de la boîte, cette dernière est fermée puis scellée immédiatement avec du parafilm (figure 5).

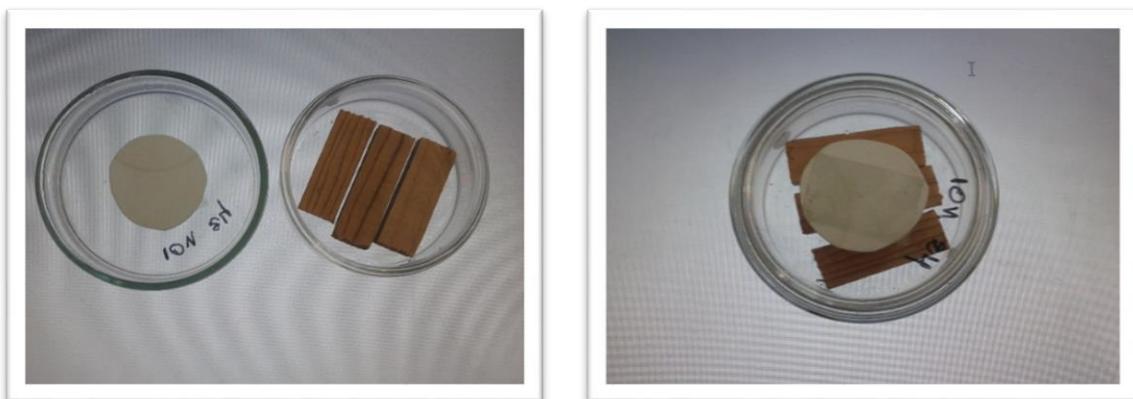


Figure 5 : Photos du traitement des morceaux de bois par la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles

Chaque morceaux est incubé pendant un certain temps (4h, 8h, 10h, 24h) à 30°C afin d'évaluer ensuite les modifications physico-chimiques de la surface en fonction du temps par la méthode d'angle de contact.

L'expérience est réalisée pour trois composés majoritaires qui sont carvacrol, carvone et eucalyptol (figure 6) .

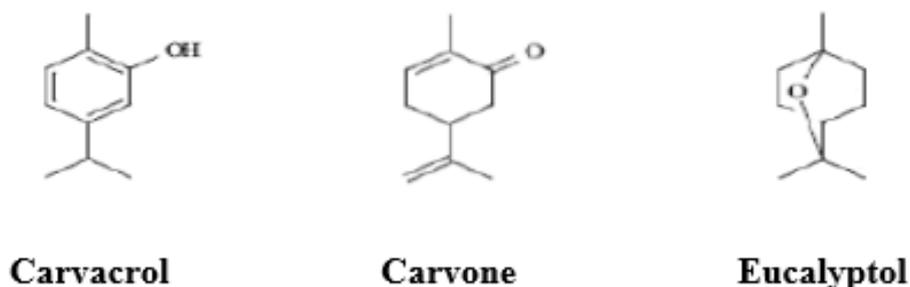


Figure 6 : Structure chimique des composés majoritaires des HE testés.

c. Caractérisation physico-chimiques de la surface du bois traités

La première partie de ce travail consiste à une caractérisation physicochimique de la surface du bois traité par la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles par la méthode d'angle de contact (figure 7).



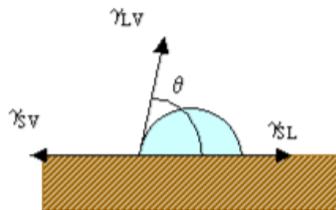
Figure 7 : Appareil de mesure de l'angle de contact

La mesure d'angle de contact rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte déposée sur le substrat, avec la surface du substrat. Elle permet de mesurer l'énergie de surface du liquide ou du solide.

La mesure de l'angle de contact permet d'accéder à l'énergie libre d'une surface. Elle permet aussi la discrimination de la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide solide. On peut ainsi déduire le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une surface.

Principe

Lorsqu'une goutte de liquide est déposée sur une surface solide plane, l'angle entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé angle de contact (θ).



- Si l'on utilise l'eau comme liquide de mesure d'angle de contact, on peut déduire le caractère hydrophobe (grand angle, faible énergie de surface) ou hydrophile (petit angle, grande énergie de surface) de la surface.

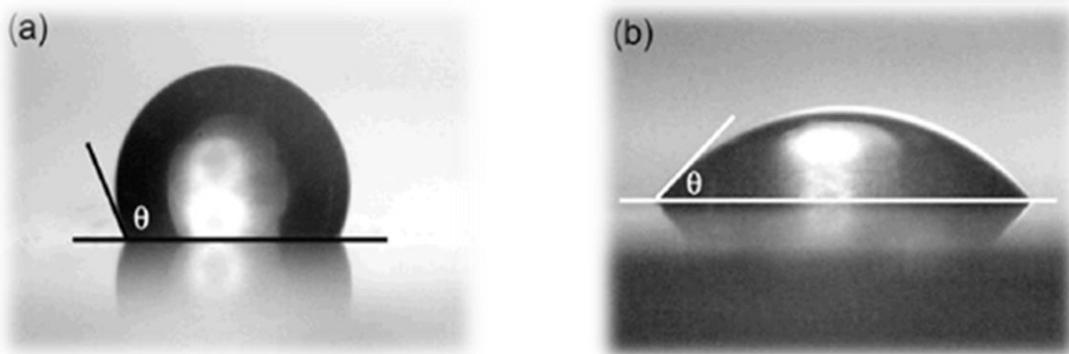


Figure 8 : Angle de contact θ formé par une goutte d'eau sur une surface hydrophobe (a) et hydrophile (b)

- Si l'on utilise d'autres liquides comme le formamide et le diiodométhane, on peut accéder à l'énergie libre de la surface, tout en discriminant les composantes polaires ou apolaires de cette énergie en utilisant le modèle de Van Oss (Van Oss et al. 1988).

La mesure de l'angle se fait à partir d'images capturées par un PC via une caméra. Le logiciel WINDROP installé dans l'ordinateur permet de mesurer les angles de chaque côté de la goutte (à Droite et à Gauche) par traitement de l'image.

D'après Vogler (1998), L'angle de contact vis-à-vis de l'eau (θ_w) peut être utilisé comme une méthode pour estimer l'hydrophobicité de la surface, cette dernière est considérée

hydrophobe si θ_w est supérieur à 65° et hydrophile si θ_w est inférieur à 65° . (Oliveira et al. 2001)

Il est possible aussi de déterminer le degré d'hydrophobicité d'une substance vis-à-vis de l'eau selon l'approche de Van Oss, la surface peut être classée hydrophile quand le ΔG_{iwi} est positive et hydrophobe quand le ΔG_{iwi} est négative. L'énergie libre interfaciale (ΔG_{iwi}) est déterminée par l'équation suivante :

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

γ^{LW} : Composantes de Lifshitz-Van der waals de la surface (i).

γ^+ : Composantes d'accepteurs d'électrons

γ^- : Composantes de donneurs d'électrons.

Les autres paramètres comme l'énergie libre de la surface du substrat, les composants de van der Waals et les paramètres électron donneur (ou base de Lewis) et électron accepteur (ou acide de Lewis) sont calculés par l'équation de Young- van Oss (Absolom et al. 1983).

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

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) accepteurs d'électrons de la surface.

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

γ_s^- : Composante(s) donneurs d'électrons de la surface.

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

Les mesures d'angles de contact ont été réalisées avec trois liquides purs de caractéristiques énergétiques connues (Tableau 4) : Eau, Formamide et Diiodométhane. Trois gouttes de solvants, sont déposées pour chaque échantillon.

Tableau 4 : Caractéristiques énergétiques des liquides utilisés pour la mesure des angles de contact (Van Oss. 1996)

Liquide utilisé	γ^{LW} (mJ/m ²)	γ^+ (mJ/m ²)	γ^- (mJ/m ²)
Eau H ₂ O	21.8	25.5	25.5
Formamide CH ₃ NO	39	2.3	39.6
Diiodométhane (CH ₂ I ₂)	50.5	0.0	0.0

2. Effet de la vapeur de trois composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre.

a. Spores fongiques et condition de culture

L'étude de l'activité antiadhésive de la vapeur de composés majoritaires des huiles essentielles testés (carvacrol, carvone et eucalyptol) a été menée sur deux souches fongiques qui sont:

- ✓ *Pencillium commune*
- ✓ *Thielavia hyalocarpa*

Ces souches fongiques ont été isolées à partir d'un échantillon dégradé (pourri) de bois de cèdre prélevé d'une vieille maison de l'ancienne médina de Fès. Dans le cadre de la présente étude, elles ont étéensemencées sur le milieu d'Extrait de Malt 2% et incubée pendant 7 à 10 jours à 30 °C. Au terme de ce temps d'incubation, la forme mycélienne ayant poussée épuise les nutriments du milieu et induisent la formation des spores qui seront récoltées par raclage à l'aide d'un étaloir en verre dans une solution de KNO₃ à 0.1M.

Enfin, Les suspensions de spores fongiques sont transférées dans un tube stérile et centrifugées à 10.000 t/min pendant 10 min afin d'ajuster la densité qui doit être de 10⁷ à 10⁸ spores. ml⁻¹, l'évaluation de la densité des spores est réalisée avec un hématimètre (Malassez) et un microscope optique (Zeiss, grossissement x 40).

b. Test de l'adhésion

Les morceaux de bois lavés, séchés et stérilisés sont d'abord traités par la vapeur de composés majoritaires des huiles essentielles pendant 4h et 24h afin d'évaluer l'effet de ces composés sur l'adhésion des spores fongiques à une surface de bois de cèdre traités durant 4h et une autre traités durant 24h. Ces morceaux sont ensuite disposés et collés dans les petites

boites de pétri, Puis la suspension de spores réalisée précédemment est coulée dans ces boites de pétri jusqu'à immersion totale des morceaux de bois. L'adhésion des spores sur la surface s'opère par le phénomène sédimentation sous l'effet de la gravité.

Après 10h d'incubation, Les cellules non adhérentes sont éliminées en rinçant manuellement et délicatement le substrat trois fois avec de l'eau distillée stérile.

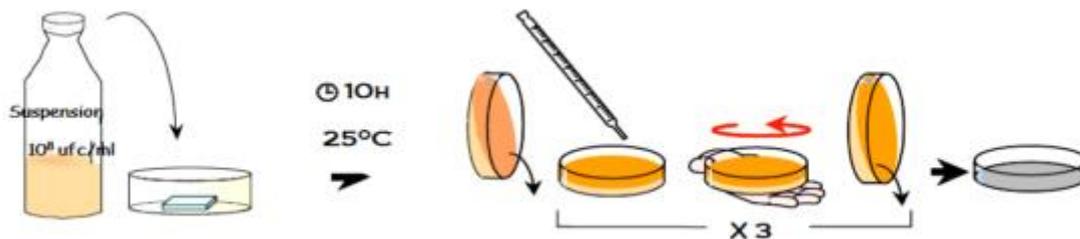


Figure 9 : Protocole de l'adhésion des micro-organismes au bois

c. Observation au microscope électronique à balayage environnemental

Pour évaluer le comportement adhésif des spores fongiques sur la surface du bois traité par la vapeur de composés majoritaires des huiles essentielles, les échantillons de bois de cèdre sont analysés par le Microscope Electronique à Balayage Environnemental (M.E.B.E) de type Quanta 200 (FEI company) équipé d'un canon à électrons à filament de tungstène (Figure 10) à la Cité de l'Innovation de Fès. Les analyses effectuées sont menées sous une pression partielle de vapeur d'eau. La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour 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.

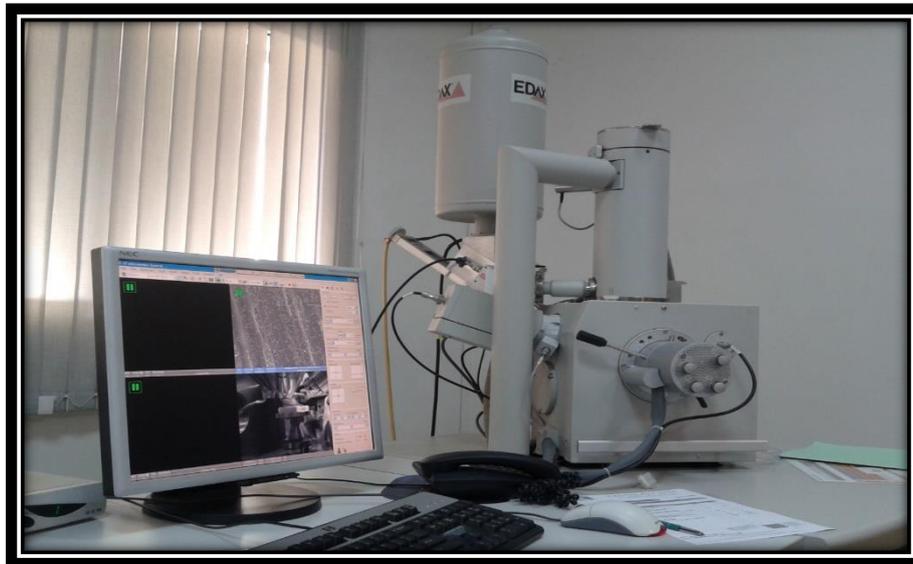


Figure 10 : Microscope électronique à balayage environnemental

Principe de fonctionnement du M.E.B.E

Un faisceau d'électrons fin produit par un canon à électrons est projeté 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.

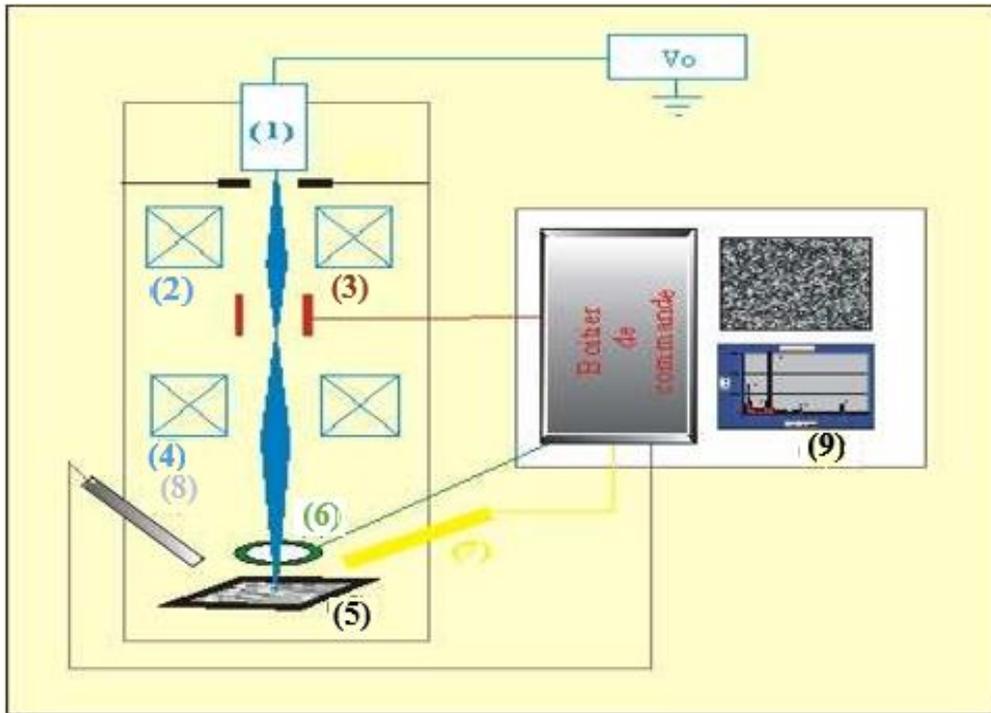


Figure 11 : Schéma des composants essentiels d'un microscope électronique à balayage.

- (1) Le canon à électrons** qui produit le faisceau électronique
- (2) Le système des condenseurs** Ces condenseurs permettent d'agir sur l'ouverture du faisceau et donc la taille de la sonde d'analyse
- (3) Le système de balayage** formé par les bobines de déflexion permet de déplacer la sonde sur l'objet
- (4) une lentille électromagnétique finale** appelée «objectif» qui permet de focaliser le faisceau sur la surface à examiner
- (5) un platine porte-objet mobile**
- (6) (7) (8) des détecteurs** permettant de capter les différents signaux émis par l'échantillon
- (9) un système de visualisation d'image**

A decorative border resembling a scroll, with a blue outline and grey shaded areas at the corners, framing the central text.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1. Caractérisation physico-chimiques de la surface du bois traités

Comme nous l'avons mentionné dans la partie précédente, la méthode de l'angle de contact qui est une méthode simple et rapide a été utilisée pour évaluer l'effet de la vapeur de composés majoritaires des huiles essentielles sur les propriétés physico-chimiques du bois de cèdre en utilisant trois solvant qui sont l'eau (solvant polaire protique), formamide (solvant polaire protique) et diiodométhane (solvant apolaire aprotique).

a. Effet du temps de contact des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'hydrophobicité du bois de cèdre

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats de la mesure des angles de contact de la surface du bois traités ainsi que le calcul des valeurs de $\Delta Giwi$.

Tableau 5 : Résultats de la mesure des angles de contact de la surface du bois traités ainsi que le calcul des valeurs de $\Delta Giwi$

Composés majoritaires	Temps de traitement en heure	Angles de Contact (°)			$\Delta Giwi$
		θ_w	θ_F	θ_D	
Témoin	0	73.4 ±0.61	36.2 ±0.92	25.8 ±0.16	-58,53
Carvacrol	4	81.4 ±0.77	48.3 ±0.66	18.0 ±0.35	-77,42
	8	74.9 ±0.50	34.3 ±1.05	29.6 ±0.23	-59,39
	10	75.6 ±0.33	36.2 ±0.13	22.4 ±0.0	-64,89
	24	52.1 ±0.55	12.7 ±0.44	16.5 ±0.18	-27,58
Carvone	4	74.9 ±0.42	39.2 ±0.38	23.3 ±0.85	-62,55
	8	63.5 ±0.16	13.3 ±0.58	20.6 ±0.81	-46,27
	10	46.0 ±0.16	10.9 ±0.55	10.2 ±0.23	-17,45
	24	49.7 ±0.09	11.2 ±0.24	12.5 ±0.03	-24,16
Eucalyptol	4	87,7±0,55	46,9±1,25	14,1±0,95	-93,38
	8	80.5 ±0.45	45.4 ±0.57	24.6 ±0.09	-72,61
	10	84.4 ±0.66	43.0 ±0.45	19.1 ±0.13	-84,14
	24	80.0 ±1.08	28.0 ±0.30	21.6 ±1.09	-71,58

L'angle de contact vis-à-vis de l'eau (θ_w) peut être utilisé comme une méthode qualitative pour mesurer l'hydrophobicité de la surface (Oliveira et al. 2001), d'après Vogler (1988) la surface est considérée hydrophobe si θ_w est supérieur à 65° et hydrophile si θ_w est inférieur à 65° . Il est possible aussi de déterminer quantitativement le degré d'hydrophobicité d'une surface vis-à-vis de l'eau (w) en se basant sur l'approche de van Oss (Van Oss et al. 1989; Van Oss and Chaudhury. 1988; Van Oss . 1995)

D'après les résultats présentés dans le tableau 5 et la figure 12 et en se basant sur l'approche de vogler et van oss on peut dire que la surface du bois de cèdre non traité (témoin) présente un caractère qualitativement et quantitativement hydrophobe avec des valeurs de $\theta_w = 73.4^\circ \pm 0.61 > 65^\circ$ et $\Delta G_{iwi} = -58.53 \text{ mJ.m}^{-2} < 0$. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sadiki et al. (2014) qui ont trouvés une valeur d'angle de contact de l'ordre de $86.0^\circ \pm 0.2 > 65^\circ$ et $\Delta G_{iwi} = -81.98 \text{ mJ.m}^{-2} < 0$ pour le même matériau. Des propriétés similaires sont démontrées dans d'autres travaux (El Abed et al. 2011 ; Barkai et al. 2014) en évaluant le caractère hydrophobe du bois de cèdre.

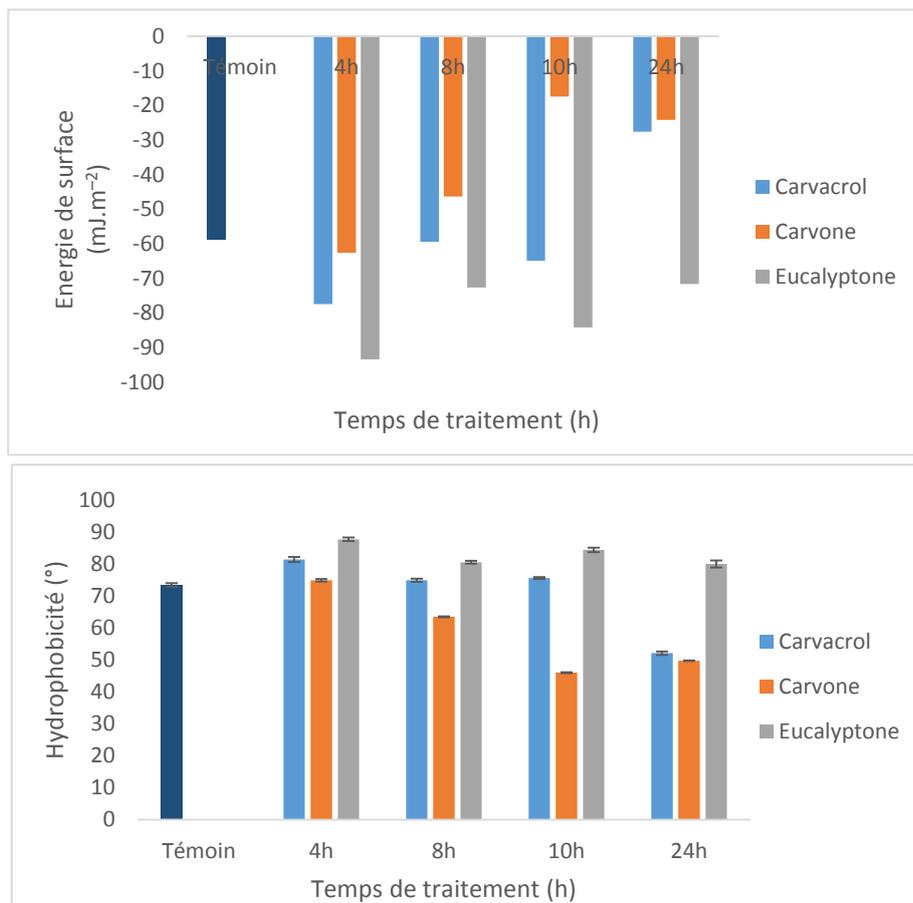


Figure 12 : Effet du temps de contact de la vapeur des composés majoritaires des HE sur l'hydrophobicité de surface du bois de cèdre.

A la lumière des résultats obtenus (figure 12 et tableau 5), l'hydrophobicité du bois de cèdre reste relativement stable après 4h, 8h et 10h de contact avec la vapeur du carvacrol, en présentant toujours le caractère hydrophobe de point de vue qualitative et quantitative. En revanche, l'échantillon mis en contact pendant 24h avec la vapeur du même composé majoritaire présente un caractère qualitativement hydrophile ($\theta_w = 52.1^\circ \pm 0.55 < 65^\circ$) et quantitativement hydrophobe ($\Delta G_{iwi} = -27.58 \text{ mJ.m}^{-2} < 0$).

Pour les échantillons traités avec la vapeur du carvone, un changement qualitatif du caractère hydrophobe du bois de cèdre est observé après 8h, 10h et 24h de contact ($\theta_w < 65^\circ$), alors qu'aucune modification n'a eu lieu de point de vue quantitative puisque les valeurs de ΔG_{iwi} restent inférieures à 0. Les résultats obtenus montrent aussi une légère augmentation qualitative et quantitative du caractère hydrophobe de la surface des échantillons traités par la vapeur du troisième composé majoritaire des huiles essentielles testées qui est l'eucalyptol.

Ces résultats montrent également que les trois composés majoritaires des huiles essentielles testées n'ont aucun effet de point de vue quantitative sur le caractère hydrophobe du bois de cèdre par contre ce caractère devient qualitativement hydrophile après 24 h de contact avec la vapeur du carvacrol et 8h de contact avec la vapeur du carvone. Cette modification corrèle seulement de point de vue qualitative avec les résultats obtenus par Sadiki et al. (2014) en évaluant le caractère hydrophobe du bois de cèdre traités par des extraits de *Thymus vulgaris*.

Un effet similaire a été observé par Wei et al. (2012) qui ont rapporté que le caractère qualitativement hydrophobe de bois de bouleau ($\theta_w = 115^\circ$) a diminué après une modification de la surface de ce dernier avec un colorant acide et un agent de fixation, les échantillons modifiés devient qualitativement hydrophile avec des valeurs de θ_w qui varie entre 29.5° et 40.5° .

En revanche, ces résultats ne concordent pas de point de vue qualitative avec ceux obtenus par El Abed Soumya. (2012) qui a montré que la vapeur du carvone n'a aucun effet sur l'angle de contact par rapport à l'eau pour le bois de cèdre et que les échantillons traitées par le carvacrol présentent une hydrophobicité plus marqué par rapport au témoin.

Ces modifications qualitatives ne corroborent pas avec celle obtenues par une modification générée du bois de chêne rouge avec une solution éthanoïque de cuivre. Effectivement, Haihong et Kamdem. (2010) ont rapporté que le résultat de la mesure de l'angle de contact vis-à-vis de

l'eau de la surface du bois de chêne rouge traité montre qu'elle est plus hydrophobe que la surface du bois non traité (témoin).

Enfin, on pourrait déduire d'après ces résultats que la surface des échantillons de bois traité par la vapeur des trois composés majoritaires présentent un caractère hydrophobe ($\Delta G_{wi} < 0$) selon l'approche de Van Oss (1995).

b. Caractère donneur-accepteur d'électrons du bois de cèdre traité par la vapeur des composés majoritaire des HE.

Le caractère donneur et accepteur d'électrons de la surface du bois de cèdre traité par la vapeur des composés majoritaires des HE est résumé dans le Tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Résultat de la mesure du caractère donneur et accepteur d'électrons de la surface du bois de cèdre traité.

Composés majoritaires	Temps de traitement en heure	Tension de Surface: composantes et paramètres (mJ.m^{-2})		
		γ^{LW}	γ^+	γ^-
Témoin	0	45.9 ± 0.06	1.4 ± 0.09	3.4 ± 0.24
Carvacrol	4	48.3 ± 0.09	0.2 ± 0.06	2.0 ± 0.46
	8	44.4 ± 0.09	2.1 ± 0.19	2.2 ± 0.33
	10	47.0 ± 0.0	1.3 ± 0.05	2.3 ± 0.17
	24	48.7 ± 0.04	1.5 ± 0.03	15.6 ± 0.5
Carvone	4	46.8 ± 0.29	0.9 ± 0.1	3.3 ± 0.31
	8	47.6 ± 0.24	2.8 ± 0.08	5.6 ± 0.09
	10	50.0 ± 0.03	1.0 ± 0.03	22.0 ± 0.23
	24	49.6 ± 0.01	1.3 ± 0.01	17.9 ± 0.14
Eucalyptol	4	46.4 ± 0.24	1.9 ± 0.09	10.3 ± 0.13
	8	42.8 ± 0.35	2.6 ± 0.1	17.5 ± 0.17
	10	49.3 ± 0.06	0.8 ± 0.04	4.3 ± 0.42
	24	48.5 ± 0.0	0.2 ± 0.04	23.8 ± 0.35

Selon les résultats illustrés dans le tableau 6 et la figure 13, on constate que la surface du bois de cèdre non-traité (témoin) présente un caractère électrons-accepteur faible $\gamma^+ = 1.4 \pm 0.09$ mJ.m^{-2} qu'électrons-donneur $\gamma^- = 3.4 \pm 0.24$ mJ.m^{-2} . Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par El Abed al. (2011, 2013) qui ont rapportés que la surface du bois de cèdre avait des valeurs de $\gamma^+ = 0$ mJ.m^{-2} et $\gamma^- = 5.5$ mJ.m^{-2} .

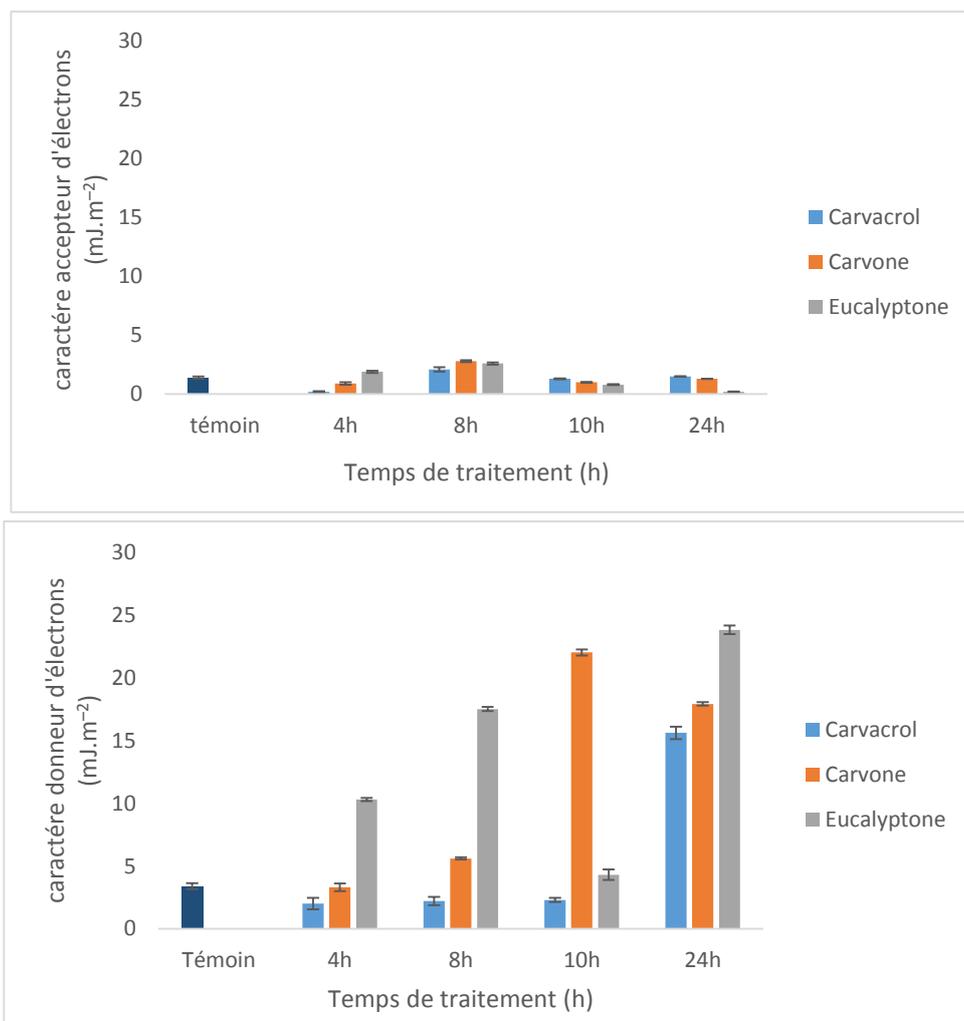


Figure 13 : Effet du temps de contact de la vapeur des composés majoritaires des HE sur le caractère donneur et accepteur d'électrons.

Les résultats montrent aussi une augmentation du caractère donneur d'électrons après 24 h de contact avec le carvacrol et 10 h de contact avec le carvone, en effet, les valeurs de γ^- passent de 3.4 à 15.6 mJ.m^{-2} pour le carvacrol et de 3.4 à 22 mJ.m^{-2} pour le carvone alors que les valeurs de γ^+ (électrons-accepteur) restent sans modification significative. Pour les échantillons de bois traités par la vapeur d'eucalyptol, il semble clairement que la surface du bois présente un caractère donneur d'électrons relativement élevé. Ce caractère est plus exprimé après 4 heures de contact en comparaison avec les autres composés majoritaires. Ces résultats corrélerent avec ceux obtenus par El Abed Soumya, (2012) qui a montré que la surface du bois de cèdre présente

un caractère donneur d'électrons relativement élevées après traitement par la vapeur du carvacrol et du carvone.

En comparaison avec d'autres études effectuées sur le même matériau, on constate que nos résultats sont en accord avec celui de Sadiki et al. (2014) qui ont trouvés que le caractère électrons-donneur de la surface du bois de cèdre traité par l'extrait de *thymus vulgaris* est élevé par rapport au témoin. Des propriétés similaire ont été observées par Haihong et Kamdem (2010) en évaluant le caractère électrons donneur électrons accepteur de la surface du bois de chêne rouge traité par PVC- cuivre-amine.

Cependant, nos résultats ne corroborent pas avec ceux trouvé par Gérardin et al. (2007) qui ont rapportés qu'un traitement thermique de la surface du bois de pin et de l'hêtre entraine une diminution significative du caractère électrons-donneur de ce matériau par rapport aux témoins (surface du bois de pin et de l'hêtre non traité).

En résumé et d'après tout les résultats obtenus, on peut conclure que le traitement de la surface du bois de cèdre par la vapeur des composés majoritaires des HE testées entraine seulement une augmentation du caractère donneur d'électrons alors que les autres propriétés physico-chimiques restent sans modifications significative.

2. Effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre.

La deuxième partie de cette étude consiste à évaluer la capacité de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles à inhiber l'adhésion des spores de *Pencillium commune* et *Thielavia hyalocarpa* à la surface du bois de cèdre en utilisant la Microscopie Electronique à Balayage Environnemental.

a. Témoin (surface non-traitée)

Les images ci-dessous représentent les résultats de l'adhésion des spores de *Pencillium commune* et *Thielavia hyalocarpa* sur le bois de cèdre non-traité.

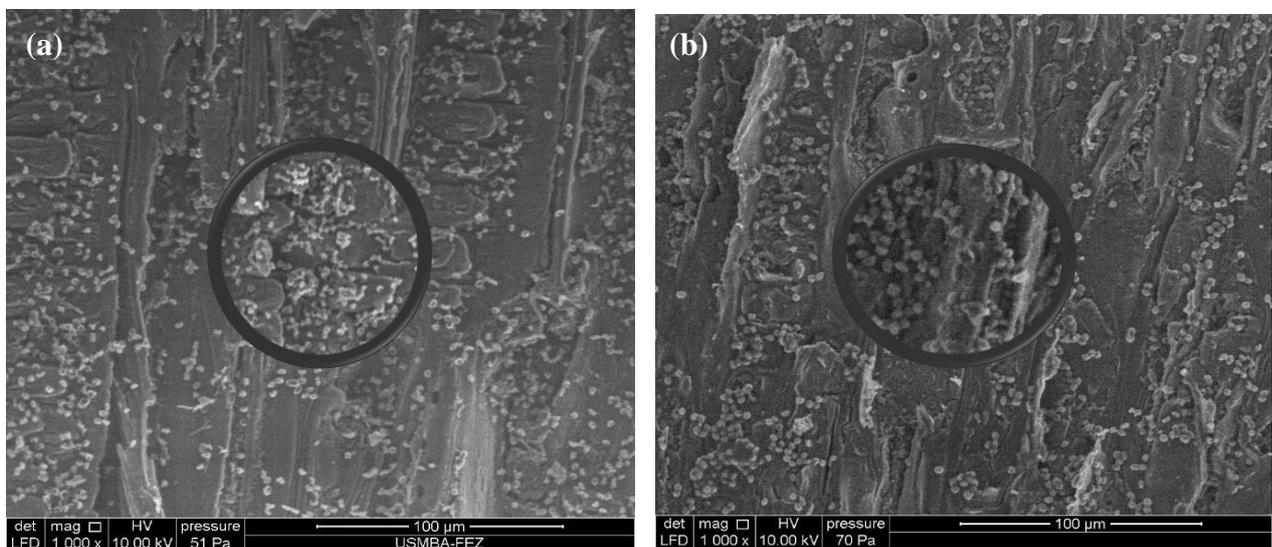


Figure 14 : Observation par ESEM de l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* (a) et *Pencillium commune* (b) au bois de cèdre non traité

D'après la figure 14, on constate que l'adhésion des spores de *Pencillium commune* et *Thielavia hyalocarpa* sur le bois de cèdre non-traité est importante et relativement similaire. Ces résultats corrélerent avec ceux trouvés par (Sadiki et al. 2015; El Abed et al. 2011) qui ont montrés un fort comportement adhésif des spores fongiques de *Pencillium commune*, *Aspergillus niger* et *Penicillium expansum* sur la surface du bois de cèdre.

b. Effet antiadhésif de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles.

Dans la littérature scientifique, plusieurs auteurs ont évalué l'activité antimicrobienne en phase vapeur d'un grand nombre des HE et de leurs principaux constituants(López et al. 2005; López et al. 2007; Nedorostova et al. 2009; Goñi et al. 2009; Nostro et al. 2004, 2007, 2009;

Peretto et al. 2014). Cependant, peu sont les travaux qui expliquent l'inhibition de l'adhésion d'un biofilm en se basant sur la modification de la surface des supports utilisés par la vapeur des huiles essentielles ou de leurs composés majoritaires. De ce fait, ce travail s'est focalisé sur une modification de la surface du bois de cèdre par la vapeur de ces composés volatils afin d'évaluer ensuite leurs effets antiadhésifs contre des spores fongiques dégradant ce matériau.

Les figures ci-dessous représentent les résultats donnés par microscopie électronique à balayage environnemental, de l'adhésion des spores de *Pencillium commune* et *Thielavia hyalocarpa* sur le bois de cèdre traité par la vapeur des trois composés majoritaires des huiles essentielles testés.

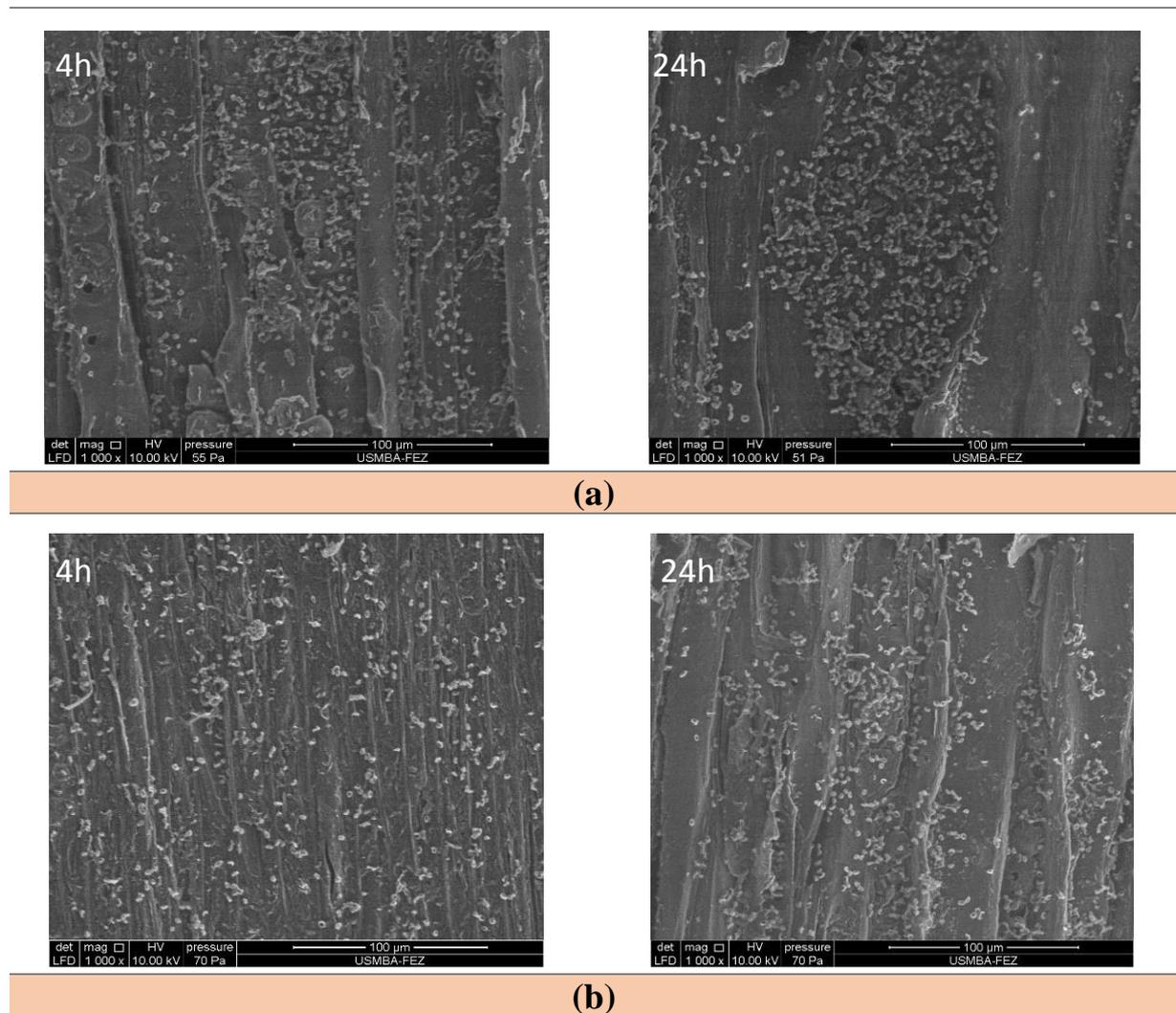
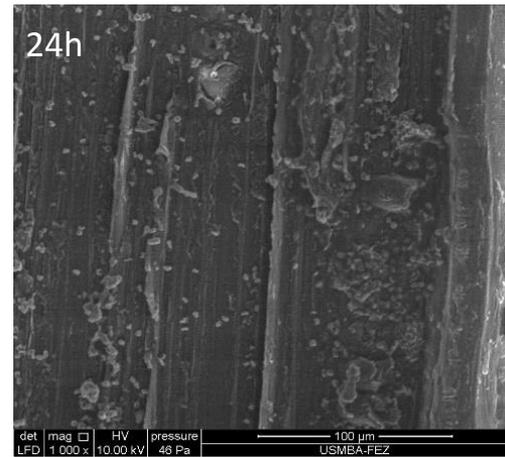
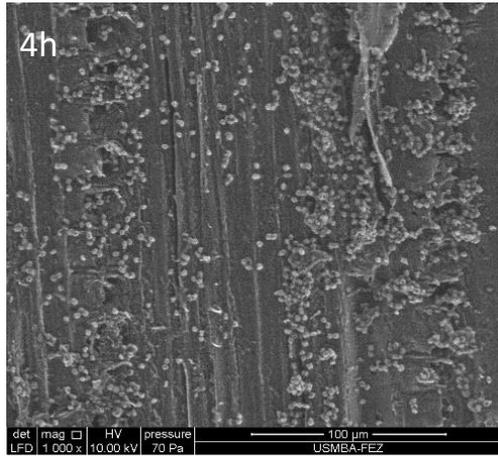
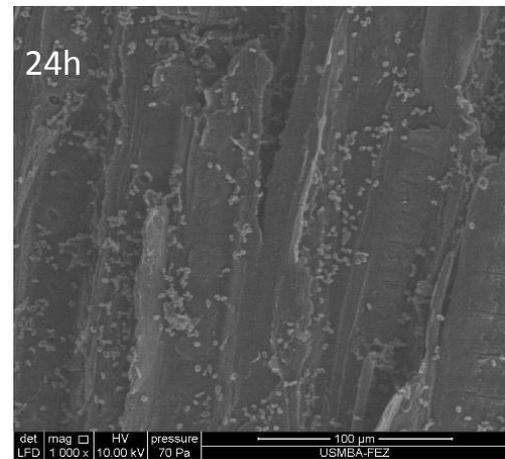
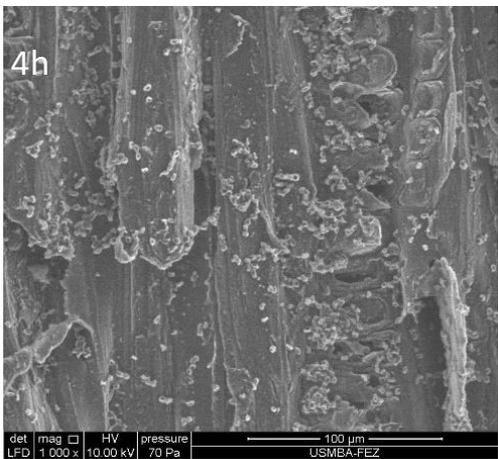


Figure 15 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur du carvone sur l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* (a) et *Pencillium commune* (b) à la surface du bois après 4h et 24h de contact.



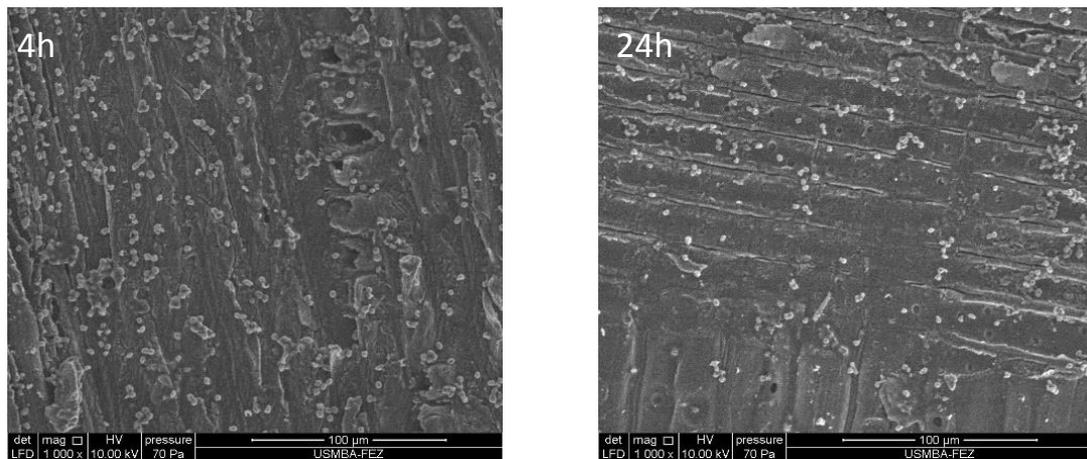
(a)



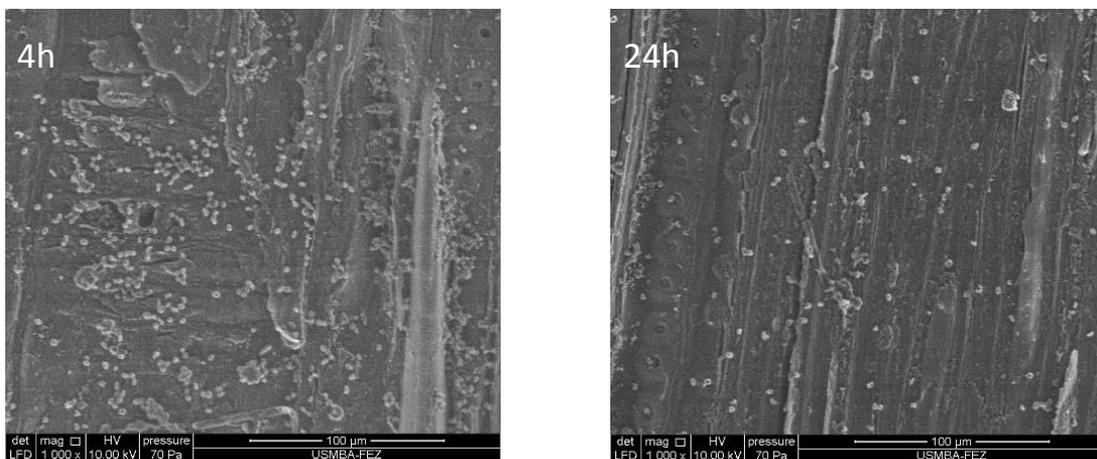
(b)

Figure 16 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur d'eucalyptol sur l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* (a) et *Pencillium commune* (b) à la surface du bois après 4h et 24h de contact.

D'après les résultats des figures 15 et 16, il semble clairement que le traitement de la surface du bois de cèdre avec la vapeur du carvone et de l'eucalyptol n'empêche pas l'adhésion des spores de *Thielavia hyalocarpa* et *Pencillium commune*. Effectivement, les images obtenues par microscopie électronique à balayage montrent que l'adhésion de ces spores fongique reste toujours importante et presque semblable en comparaison avec le témoin (surface con-traitée).



(a)



(b)

Figure 17 : Clichés microscopiques de l'effet de la vapeur du carvacrol sur l'adhésion de *Thielavia hyalocarpa* (a) et *Pencillium commune* (b) à la surface du bois après 4h et 24h de contact.

D'après la figure 17, on voit clairement une diminution du nombre des spores adhérents sur la surface du bois de cèdre traitée durant 24 h, ceci nous amène à dire que la vapeur du carvacrol exerce un pouvoir antiadhésif contre les spores de *Thielavia hyalocarpa* et *Pencillium commune*. Cette activité peut être expliquée à la fois par le changement des propriétés physico-chimiques du bois de cèdre et par le pouvoir antifongique de la vapeur du carvacrol.

L'effet d'inhibition des HE et de leurs composés majoritaires à l'état vapeur par rapport à l'état liquide a été récemment signalée, mais seulement sur les cellules planctoniques (Inouye

et al., 2000 ; Ben Arfa et al. 2006; Tullio et al., 2007 ; Goñi et al., 2009). En fait, Certains travaux ont démontré la plus grande efficacité du carvacrol à l'état vapeur qu'à l'état liquide. Cette efficacité peut être due à l'effet combiné de dépôt direct du carvacrol sur les micro-organismes avec un effet indirect via l'adsorption par la gélose (Inouye et al 2001) ou à la composition chimique de ce composé (Inouye et al. 2006). A l'inverse de ces constatations, Burt et al. (2007) ont montré que l'effet inhibiteur du carvacrol à l'état vapeur contre *Salmonella enterica* est dû principalement à l'accumulation de la vapeur de ce composé dans le milieu plutôt que dans l'air, avec un pouvoir antibactérien important lorsque le temps d'exposition est long.

Un pouvoir antiadhésif similaire à celui trouvé au cours de cette étude a été rapporté par Nostro et al. (2009) en évaluant l'effet de la vapeur du carvacrol sur les biofilms des deux souches *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* sur des plaques de polystyrène. Effectivement, cette étude a montré que l'efficacité de la vapeur du carvacrol est dépendante du temps d'exposition et que La population de biofilm a diminué seulement après un traitement prolongé de 24 h.

Dans une étude comparative sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles à l'état vapeur, Inouye et al (2003) ont démontré que la concentration de la vapeur de thym sauvage (composés principalement de 80% de carvacrol) dans l'air était maximale après 1h de traitement, cette concentration diminue progressivement en fonction du temps et s'accumule dans le milieu. Ceci nous amène à dire que l'effet antiadhésif obtenu dans le présent travail peut être dû à l'accumulation importante du carvacrol à la surface du bois de cèdre traité durant 24h par la vapeur de ce composé majoritaire.

En revanche, Inouye et al. (2006) ont démontré que les huiles essentielles ayants un phénol en tant qu'un composé majoritaire présentes une activité de la vapeur plus puissante, ce qui peut expliquer le pouvoir antiadhésif du carvacrol sachant que ce dernier est un phénol alors que le carvone et l'Eucalyptol ne le sont pas (le carvone est un cétone et l'eucalyptol est un éther). En effet, Bakkali et al, (2008) ont démontré que la carvacrol en tant qu'un composé majoritaire hydrophobe et lipophile est capable de s'insérer entre les chaînes d'acide gras de la membrane plasmique des cellules. Le groupement hydroxyle du carvacrol joue aussi un rôle important en augmentant la capacité de cette molécule à pénétrer dans la membrane de sorte à la perturber (Nostro et al., 2009 ; Ahmad et al., 2011).

3. Corrélation entre les caractéristiques physico-chimiques du bois de cèdre et l'adhésion des spores fongiques.

Les propriétés antibiofilm des huiles essentielles sont souvent attribuées à leurs principaux composants et leurs mécanismes d'actions (Dalleau et al, 2008; Nostro et al., 2004), cependant, peu sont les travaux qui expliquent l'effet des modifications physicochimiques de la surface des supports utilisés sur l'adhésion primaire d'un biofilm. De ce fait, ce travail s'est focalisé sur la corrélation entre les caractéristiques physico-chimique du bois de cèdre après traitement par la vapeur des composés majoritaires des HE et l'inhibition de l'adhésion microbienne.

Des travaux précédents ont montré que l'hydrophobicité de plusieurs microorganismes est bien corrélée avec l'adhésion à une surface solide hydrophobe et que les cellules hydrophobes adhèrent mieux sur les surfaces hydrophobes que les surfaces hydrophiles (van Loosdrecht et al, 1987). Or, les résultats de test d'anti-adhésion montrent un fort comportement adhésif des spores de *Thielavia hyalocarpa* et *Pencillium commune* qui sont des souches hydrophiles (El Abed et al. 2011) sur la surface du bois de cèdre qui présente toujours un caractère hydrophobe, donc le caractère hydrophobicité ne peut pas expliquer le phénomène d'adhésion microbienne dans le cas de notre étude.

Cependant plusieurs autres travaux ont rapporté que les interactions acide-bases jouent un rôle important dans l'adhésion des microorganismes sur la surface d'un support (Hamadi et Latrache 2008; Henriques et al 2004). Les résultats obtenus au cours de cette étude concernant ces interactions montrent que le bois de cèdre traité durant 24h avec la vapeur du carvacrol devient plus donneur qu'accepteur d'électrons, donc les interactions avec les spores fongiques vont devenir plus faibles vu qu'elles ont un caractère donneur d'électron important, ce qui est confirmé par les images obtenues par le MEBE. Or, un fort comportement adhésif des spores fongiques est observé aussi sur la surface du bois traitée par la vapeur du carvone et d'eucalyptol même si ces deux composés majoritaire exercent un effet similaire à celui de la vapeur du carvacrol, ceci nous amène à conclure que l'effet antiadhésif de la vapeur du carvacrol est due principalement au pouvoir antifongique très connus de ce composés et non à la modification physico-chimique de la surface du bois de cèdre.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans la littérature scientifique, très peu d'étude ont été réalisées sur les interactions entre les microorganismes et le bois, en particulier, le bois de cèdre qui reflète en tant que marocains et citoyens de la ville de Fès notre patrimoine culturel et notre histoire.

De ce fait, nous nous sommes focalisés dans cette étude sur l'efficacité antiadhésive et antimicrobienne de la vapeur des composés majoritaires dans la première étape de l'adhésion microbienne à la surface du bois de cèdre. Dans un premier temps, nous avons utilisé la méthode d'angle de contact afin d'évaluer les caractéristiques physicochimiques en terme d'hydrophobicité et les composants accepteur/donneur d'électrons de la surface du bois de cèdre avant et après traitement par la vapeur des composés majoritaire des huiles essentielles. Les résultats montrent que les propriétés physicochimiques du bois de cèdre dépendent du temps de contact et de type de composé majoritaire testé.

La deuxième partie de ce travail a été consacré à une visualisation par la microscopie électronique à balayage environnemental de l'effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur le comportement adhésif des spores fongiques. Les images obtenus par le MEBE montrent clairement que la vapeur du Carvacrol exerce une activité antiadhésive contre les spores fongiques et que le temps de traitement est un paramètre déterminant lors de l'étude de ce phénomène.

Le traitement des surfaces du bois de cèdre, par vapeur des composés majoritaires conjuguant à la fois une efficacité antiadhésive et activité antimicrobienne, constitue une approche pertinente dans le cadre de lutte contre les biofilms et la préservation du bois. Un certain nombre de perspectives sont donc envisageables à l'issue de ce travail :

- Effet de concentration de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur les propriétés physicochimiques de la surface du bois de cèdre
- Effet de concentration de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des microorganismes au bois de cèdre
- étude de la stabilité des caractéristiques du bois de cèdre traité avec le temps
- Comparaison entre un traitement direct et indirect (à l'état vapeur) de la surface du bois de cèdre par les composés majoritaires des huiles essentielles.
- Etude du mécanisme d'inhibition d'adhésion des microorganismes par le Carvacrol.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Absolom, D. R., Lamberti, F. V, Policova, Z., Zingg, W., Oss, C. J. Van, & Neumann, a W. (1983). Surface thermodynamics of bacterial adhesion . *Appl Environ Microbiol.*, *46*(1), 90–97.
- Ahmad, a., Khan, a., Akhtar, F., Yousuf, S., Xess, I., Khan, L. a., & Manzoor, N. (2011). Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *30*(1), 41–50.
- Aiemsraad, J., Aiumlamai, S., Aromdee, C., Taweechaisupapong, S., & Khunkitti, W. (2011). The effect of lemongrass oil and its major components on clinical isolate mastitis pathogens and their mechanisms of action on *Staphylococcus aureus* DMST 4745. *Research in Veterinary Science*, *91*(3), e31–e37.
- Awad, A. M., Ghazy, E. A., El-enin, S. A. A., & Mahmoud, M. G. (2012). Surface & Coatings Technology Electropolishing of AISI-304 stainless steel for protection against SRB biofilm. *Surface & Coatings Technology*, *206*(14), 3165–3172.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(2), 446–475.
- Barkai, H., El Abed, S., Sadiki, M., Iraqui, H. M., & Ibsouda, K. 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*, 1072954, 37-41
- 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.
- Ben Arfa, a., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N., & Chalier, P. (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology*, *43*(2), 149–154.
- Björdal, C. G., Nilsson, T., & Daniel, G. (1999). Microbial decay of waterlogged archaeological wood found in Sweden. Applicable to archaeology and conservation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *43*, 63–73.
- Blanchette, R. A., Krueger, E. W., Haight, J. E., Akhtar, M., & Akin, D. E. (1997). Cell wall alterations in loblolly pine wood decayed by the white-rot fungus , *Ceriporiopsis subvermispora*. *Journal of Biotechnology*, *53*, 203–213.
- Boulané, P. L. (1996). Processes of bioadhesion on stainless steel surfaces and cleanability: A review with special reference to the food industry. *Biofouling*, *10*(November 2013), 275–300.

- Burt, S. a., Fledderman, M. J., Haagsman, H. P., van Knapen, F., & Veldhuizen, E. J. a. (2007). Inhibition of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapour. *International Journal of Food Microbiology*, *119*(3), 346–350.
- Dalleau, S., Cateau, E., Bergès, T., Berjeaud, J. M., & Imbert, C. (2008). In vitro activity of terpenes against *Candida* biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *31*, 572–576.
- Del Río, J. C., Gutiérrez, a., Martínez, M. J., & Martínez, a. T. (2001). Py-GC/MS study of *Eucalyptus globulus* wood treated with different fungi. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, *58-59*, 441–452.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, *15*(2), 167–193.
- Dumonceaux, T. J., Bartholomew, K. A., Charles, T. C., Moukha, S. M., & Archibald, F. S. (1998). Cloning and sequencing of a gene encoding cellobiose dehydrogenase from *Trametes versicolor*. *Gene*, *210*, 211–219.
- Eggin, H. O. W., & Oxley, T. a. (2001). Biodeterioration and biodegradation. *International Biodeterioration and Biodegradation*.
- El Abed, S., Houari, A., Latrache, H., Remmal, A., & Ibsouda, K. S. (2011b). In vitro activity of Four Common Essential Oil Components Against Biofilm-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Research Journal of Microbiology*, *6*, 394–401.
- El Abed, S., Ibsouda, S. K., Houari, A., & Latrache, H. (2013). Experimental and theoretical investigations of the adhesion time of *Penicillium* spores to cedar wood surface. *Materials Science and Engineering C*, *33*(3), 1276–1281.
- El Abed, S., Ibsouda, S. K., Latrache, H., & Hamadi, F. (2008). Scanning Electron Microscopy (SEM) and Environmental SEM : Suitable Tools for Study of Adhesion Stage and Biofilm Formation.
- El Abed, S., Mostakim, M., Berguadi, F., Latrache, H., Houari, A., Hamadi, F., & Ibsouda, S. K. (2011e). Study of microbial adhesion on some wood species: theoretical prediction. *Microbiology*, *80*(1), 47–52.
- El Abed, S., Saad, I., Hassan, L., Ghizlane, Z., Hind, M., & Adnane, R. (2011c). Carvacrol and thymol components inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* adherence and biofilm formation. *African Journal of Microbiology Research*, *5*(20), 3229–3232.
- El Abed Soumya. (2012). Approche microbiologique et physico-chimique de la biocontamination du bois de cedre. developpement de strategies de prevention par les huiles essentielles. Thèse de La Faculté Des Sciences et Techniques, *6*, 325–327.
- Filloux, A., & Vallet, I. (2003). Biofilm : mise en place et d ' une communauté. *Médecine/science*, *19*(March), 77–83.

- Flemming, H. C., Neu, T. R., & Wozniak, D. J. (2007). The EPS matrix: The “House of Biofilm Cells.” *Journal of Bacteriology*, *189*(22), 7945–7947.
- Garrett, T. R., Bhakoo, M., & Zhang, Z. (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*, *18*, 1049–1056.
- 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*(4), 653–657.
- Goldbeck, J. C., do Nascimento, J. E., Jacob, R. G., Fiorentini, Â. M., & da Silva, W. P. (2014). Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. *Industrial Crops and Products*, *60*, 304–309.
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., & Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, *116*(4), 982–989.
- Goodell, B., Nicholas, D. D., & Schultz, T. P. (2003). Introduction to Wood Deterioration and Preservation. *Wood Deterioration and Preservation*, *845*, 2–7.
- Gosz, J. R., Likens, G. E., & Bormann, F. H. (1973). Nutrient release from decomposing leaf and branch litter in the Hubbard Brook Forest, New Hampshire. *Ecological Monographs*, *43*(2), 173–191.
- 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.
- Haihong, & Kamdem, D. P. (2010). Characterization of the surface and the interphase of PVC-copper amine-treated wood composites. *Applied Surface Science*, *256*(14), 4559–4563.
- 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.
- Henriques, M., Azeredo, J., & Oliveira, R. (2004). Adhesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrylic and hydroxyapatite. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *33*(3-4), 235–241.
- 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, W. J., Kartal, S. N., Imamura, Y., Tsunoda, K., & Shinoda, K. (2007). Comparative effectiveness of two alkylammonium compounds as wood preservatives. *Journal of Wood Science*, *53*, 332–338.

- Inouye, S., Abe, S., Yamaguchi, H., & Asakura, M. (2003). Comparative study of antimicrobial and cytotoxic effects of selected essential oils by gaseous and solution contacts. *The International Journal of Aromatherapy*, *13*(01).
- Inouye, S., Tsuruoka, T., Watanabe, M., Takeo, K., Akao, M., Nishiyama, Y., & Yamaguchi, H. (2000). Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses*, *43*(1-2), 17–23.
- Inouye, S., Uchida, & Abe. (2006). Vapor activity of 72 essential oils against a *Trichophyton mentagrophytes*. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *12*(4), 210–216.
- Inouye, S Takizawa, T., & Yamaguchi, H. (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *47*(5), 565–573.
- Jadhav, S., Shah, R., Bhawe, M., & Palombo, E. a. (2013). Inhibitory activity of yarrow essential oil on *Listeria* planktonic cells and biofilms. *Food Control*, *29*(1), 125–130.
- Kim, Y.-G., Lee, J.-H., Kim, S.-I., Baek, K.-H., & Lee, J. (2015). *Cinnamon bark* oil and its components inhibit biofilm formation and toxin production. *International Journal of Food Microbiology*, *195*, 30–39.
- Kirkpatrick, J. W., & Barnes, H. M. (2006). Biocide Treatments for Wood Composites—A Review. The International Research Group on Wood Protection.
- Kolter, R., & Greenberg, E. P. (2006). Microbial sciences: the superficial life of microbes. *Nature*, *441*(May), 300–302.
- La Barre, S., & Haras, D. (2007). Rencontres avec les bactéries marines . *Journal de La Société de Biologie*, *201*(3), 281–289.
- Lavania, M., Sarma, P. M., Mandal, A. K., Cheema, S., & Lai, B. (2011). Efficacy of natural biocide on control of microbial induced corrosion in oil pipelines mediated by *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio gigas*. *Journal of Environmental Sciences*, *23*(8), 1394–1402.
- Lekounougou, S.-T. (2008). Evaluation et Compréhension des Mécanismes fongiques impliqués dans la dégradation du bois. *Sciences-New York*, 186.
- Lemos, M., Borges, A., Teodósio, J., Araújo, P., Mergulhão, F., Melo, L., & Simões, M. (2014). The effects of ferulic and salicylic acids on *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens* single- and dual-species biofilms. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *86*, 42–51.
- 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*(4), 676–680.

- Lin, J., Qiu, S., Lewis, K., & Klibanov, A. M. (2002). Bactericidal properties of flat surfaces and nanoparticles derivatized with alkylated polyethylenimines. *Biotechnology Progress*, *18*, 1082–1086.
- Liu, J., Zhou, X. H., & Shi, H. C. (2012). Inhibitory effects of pentachlorophenol on wastewater biofilms as determined by phospholipid analysis and microelectrode. *Biochemical Engineering Journal*, *66*, 8–13.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín, C. (2005). Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(17), 6939–6946.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(11), 4348–4356.
- Lyon, F. (2007). Amélioration de durée de vie d'essence de bois peu durable a l'aide d'un traitement combiné borates/huiles végétales. Université Montpellier - Sciences et Techniques Du Languedoc, 18.
- M'hirit et Benzyane. (2006). Le cèdre de l'Atlas : Mémoire du temps, Éd. Mardaga., 245.
- Manganyi, M. C., Regnier, T., & Olivier, E. I. (2015). Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. *South African Journal of Botany*, *99*, 115–121.
- Martín-Espada, M. C., D'ors, a., Bartolomé, M. C., Pereira, M., & Sánchez-Fortún, S. (2014). Peracetic acid disinfectant efficacy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms on polystyrene surfaces and comparison between methods to measure it. *LWT - Food Science and Technology*, *56*(1), 58–61.
- Merzougui, S., Lkhider, M., & Cohen, N. (2013). *Bacillus cereus* , un réel problème pour l'industrie agro alimentaire ? *Bacillus cereus* , a real problem for food industry ? *Science Lib*, *5*.
- Moradi, M., Duan, J., & Du, X. (2013). Investigation of the effect of 4,5-dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one inhibition on the corrosion of carbon steel in *Bacillus sp.* inoculated artificial seawater. *Corrosion Science*, *69*, 338–345.
- Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M., & Pulkrabek, J. (2009). Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*, *20*(2), 157–160.
- 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., Mohmed, R., & Shafreen, B. (2015). Essential oils from commercial and wild Patchouli modulate Group A Streptococcal biofilms. *Industrial Crops & Products*, *69*, 180–186.

- Nostro, A., Blanco, A. R., Cannatelli, M. a., Enea, V., Flamini, G., Morelli, I., ... Alonzo, V. (2004). Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters*, *230*(2), 191–195.
- Nostro, A., Marino, A., Blanco, A. R., Cellini, L., Di Giulio, M., Pizzimenti, F., ... Bisignano, G. (2009). In vitro activity of carvacrol against staphylococcal preformed biofilm by liquid and vapour contact. *Journal of Medical Microbiology*, *58*(6), 791–797.
- Nostro, A., Roccaro, A. S., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. a., Pizzimenti, F. C., ... Blanco, A. R. (2007). Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, *56*(4), 519–523.
- Oliveira, R., Azeredo, J., Teixeira, P., & Fonseca, A. (2001). The role of hydrophobicity in bacterial adhesion. *Bioline*, 11–22.
- Parsek, M. R., & Greenberg, E. P. (2005). Sociomicrobiology: The connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in Microbiology*, *13*(1), 27–33.
- Pembrey, R. S., Marshall, K. C., & Schneider, R. P. (1999). Cell surface analysis techniques: What do cell preparation protocols do to cell surface properties? *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(7), 2877–2894.
- Peretto, G., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. J., Sarreal, S. B. L., Hua, S. S. T., Sambo, P., & McHugh, T. H. (2014). Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. *Postharvest Biology and Technology*, *89*, 11–18.
- Sadiki, M., Barkai, H., Elabed, A., Asri, M., Moustakim, M., Ibsouda, S. K., & Elabed, S. (2015). The Anti-Adherent Activity of Plant Extracts on *Penicillium commune* Spores Causing Cedar Wood Decay: An ESEM Analysis. *The Journal of Adhesion*, (April), 150415124608003.
- Sadiki, M., Barkai, H., Ibsouda Koraichi, S., & Elabed, S. (2014). The effect of the *Thymus vulgaris* extracts on the physicochemical characteristics of cedar wood using angle contact measurement. *Journal of Adhesion Science and Technology*, *28*(August), 1925–1934.
- Sieniawska, E., Los, R., Baj, T., Malm, A., & Glowniak, K. (2013). Antimicrobial efficacy of *Mutellina purpurea* essential oil and ??-pinene against *Staphylococcus epidermidis* grown in planktonic and biofilm cultures. *Industrial Crops and Products*, *51*, 152–157.
- Soidrou, S. H., Farah, a., Satrani, B., Ghanmi, M., Jennan, S., Hassane, S. O. S., ... Boust, D. (2013). Fungicidal activity of four essential oils from *Piper capense*, *Piper borbonense* and *Vetiveria zizanioides* growing in Comoros against fungi decay wood. *Journal of Essential Oil Research*, *25*(3), 216–223.
- Stanley, P. M. (1983). Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel. *Canadian Journal of Microbiology*, *29*, 1493–1499.

- SURINI, T. (2012). Analyse dynamique de la biodegradation du bois et des composites a base de bois et fibres vegetales. L'universite Bordeaux 1 Ecole Doctorale Des Sciences Physiques Et De L'ingenieur.
- Taweechaisupapong, S. (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.
- Thomas, W. E., Trintchina, E., Forero, M., Vogel, V., & Sokurenko, E. V. (2002). Bacterial adhesion to target cells enhanced by shear force. *Cell*, *109*, 913–23.
- Tullio, V., Nostro, a., Mandras, N., Dugo, P., Banche, G., Cannatelli, M. a., ... Carlone, N. a. (2007). Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. *Journal of Applied Microbiology*, *102*(6), 1544–1550.
- Valt, A. (2009). 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 Loosdrecht, M. C., Lyklema, J., Norde, W., Schraa, G., & Zehnder, a J. (1987). The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.*, *53*(8), 1893–1897.
- 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*(6), 927–941.
- Van Oss CJ, Chaudhury, M., & Good, R.J (1989). Estimation of the polar parameters of the surface tension of liquids by contact angle measurements on gels. *Journal of Colloid and Interface Science*, *128*(2), 313–319.
- an Oss, C. J. (1995). Hydrophobicity of biosurfaces — Origin, quantitative determination and interaction energies. *Colloids and Surfaces B*, *5*(3-4), 91–110.
- Van Oss, C.J.,(1996) *Interfacial Forces in Aqueous Media*, New York: Dekker.
- 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*(6), 1995–1999.
- Yelle, D. J., Ralph, J., Lu, F., & Hammel, K. E. (2008). Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete. *Environmental Microbiology*, *10*, 1844–1849.
- 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.

ANNEXE

Tableau 1 : Composition du milieu Extrait de Malt solide (1L)

Constituants	Quantité
Extrait de Malt	30g
Agar	15-20g
Eau distillée	1000 ml

Tableau 2 : composition de la solution de KNO_3 0,1 M (0,5 L)

Constituants	Quantité
KNO_3 (poudre)	5.055
Eau distillée	500 ml

RÉSUMÉ

Le bois de cèdre est un biomatériau sensible aux agents biologique de dégradation en particulier les microorganismes ce qui impose l'application de traitement pour le préserver et le stabiliser. Dans ce cadre, le présent travail propose d'étudier l'effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre.

Le premier objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur les caractéristiques physicochimiques de la surface du bois de cèdre. Les résultats montrent que les propriétés physicochimiques du bois de cèdre dépendent du temps de contact et de type de composé majoritaire testé.

Le deuxième objectif de ce travail est de visualiser l'effet de la vapeur des composés majoritaires des huiles essentielles sur l'adhésion des spores fongiques à la surface du bois de cèdre par la microscopie électronique à balayage. Ce traitement de la surface du bois a mis en évidence une efficacité antiadhésive et une activité antimicrobienne de la vapeur du carvacrol contre les spores de *Pencillium commune* et *Thielavia hyalocarpa*.

Mots clés : Bois de cèdre, biofilm, adhésion, antiadhésive, caractérisation physico-chimique, MEBE, vapeur des composes majoritaires des HE, angle de contact.