

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعية والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de

L'Univers

Département de Biologie

MÉMOIRE

Présenté par

Melle LAKEHAL Zineb

Melle LAKEHALI IMANE

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Sciences biologiques

Option : Microbiologie et contrôle de qualité

Thème

**Activité antimicrobienne et anti biofilm des hydrolats d'huiles
essentielles : Application à la désinfection d'une surface
hospitalière.**

Soutenue le 20/06/2024, devant le jury composé de :

Présidente : Pr. Bekhechi Chahrazed Université de Tlemcen

Encadrant : Pr. MALEK Fadila Université de Tlemcen

Examinatrice : Dr. Kara Terki Ibtissem Université de Tlemcen

Année Universitaire 2023-2024



Remerciements

Nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, pour nous avoir prêté vie, aide, patience tout au long de notre cycle universitaire, de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce travail. En ce moment précis, toutes nos pensées vont vers nos enseignants en reconnaissance pour leurs sacrifices et dévouements ainsi que pour leur soutien constant aussi pour nous avoir soutenus et guidés vers la réussite.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à notre encadrante, Mme **MALEK Fadila**, pour son accompagnement exemplaire, son précieux conseil, et sa patience tout au long de ce travail de recherche. Son expertise et son professionnalisme ont été des piliers essentiels à l'élaboration et à la réussite de ce mémoire.

Nous souhaitons adresser un remerciement tout particulier à Mme **BEKHECHI Chahrazed**, qui a joué un rôle crucial dans le succès de nos travaux concernant l'hydrolat. Sa disponibilité, ses conseils avisés, et son soutien infailible ont été pour nous une source d'inspiration et une aide considérable.

Nous exprimons également nos chaleureux remerciements à Mme **Kara Terki Ibtissem**, maître de conférences classe A à l'université de Tlemcen, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements au Dr. **Saidi Mohamed**, médecin généraliste à Oudjlida (Tlemcen) pour nous avoir fourni gracieusement les hydrolats préparés par ses soins et nous avoir fait bénéficier de son savoir et son expérience dans le domaine médical. Nous sommes honorées de sa contribution à ce travail.

Nous ne saurions clore ces remerciements sans exprimer notre sincère gratitude au personnel des laboratoires de pédagogie de la faculté SNV-STU, qui a été d'un support inestimable. Un merci tout spécial à M. **Yazid** et M. **Loukil** pour leur aide technique, leur expertise, et leur bonne humeur au quotidien. Leur collaboration a grandement contribué à créer un environnement de travail à la fois stimulant et convivial.

Ces rencontres humaines et professionnelles ont marqué d'une pierre blanche l'élaboration de ce mémoire, et nous sommes profondément reconnaissants à chacun pour son apport précieux à notre parcours académique et personnel.



Dédicaces

À mes chers parents,

À vous qui avez été mes piliers tout au long de ma vie, je dédie ce travail avec une profonde gratitude et un immense amour. Votre soutien inconditionnel, vos encouragements constants et votre amour sans limite ont été ma source d'inspiration et de force à chaque étape de mon parcours. Merci pour votre présence indéfectible, vos sacrifices inestimables et votre confiance inébranlable en moi. Ce modeste accomplissement vous est dédié, en reconnaissance de tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Je vous aime infiniment.

À mes chers Frères Yassine , Kais et ma chère soeur Liela

Merci pour votre inébranlable soutien, votre amour constant et votre précieux encouragement tout au long de ce voyage. Vous êtes ma source d'inspiration et de joie, et votre présence à mes côtés m'a toujours donné la force d'avancer.

À ma chère binôme, Lakehali Imane,

Ta collaboration et ton soutien ont été inestimables tout au long de notre parcours. Je te remercie du fond du cœur pour ton engagement et ta précieuse amitié.

Zineb LAKEHAL



Dédicaces

À mes très chers parents,

Votre amour, votre soutien et vos sacrifices inestimables m'ont permis d'atteindre ce niveau d'études. Ce diplôme est le fruit de vos encouragements constants et de votre confiance en moi. Je vous serai éternellement reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi.

*À mes frères Youcef, Ibrahim et mes sœurs Rabia, Samira et Fatiha,
Merci d'avoir été à mes côtés durant toutes ces années, de m'avoir soutenu et cru en moi. Votre présence et vos mots chaleureux ont rendu ce parcours plus léger. Je suis fier de partager cette réussite avec vous.*

*À mes très chères cousines Ikram, Bouchra, Hafsa et Asma,
Vous avez toujours été bien plus que des cousines, de véritables sœurs et amies sur qui j'ai pu compter. Merci pour vos précieux conseils et votre réconfort dans les moments difficiles. Cette réussite est aussi un peu la vôtre.*

*À ma chère binôme, LAKEHAL Zineb
Merci d'être un si formidable binôme et collègue. Ton travail acharné, ton esprit d'équipe et ton soutien constant font de toi une personne indispensable. J'apprécie grandement ta contribution à nos projets communs et j'ai hâte de poursuivre notre collaboration fructueuse. Ensemble, nous formons une équipe imbattable.*

Je vous aime infiniment.

Imane LAKEHALI

Résumé

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité antimicrobienne des hydrolats d'huiles essentielles pour améliorer l'hygiène des surfaces hospitalières. Cette activité est testée sur des bactéries isolées de l'environnement d'un laboratoire d'analyse microbiologique et sur des souches de collections.

Le dénombrement de la microflore totale de l'air a été réalisée sur milieux PCA et PDA, révélant une contamination principalement fongique, dominée par un type morphologique de champignons. L'écouvillonnage des surfaces des paillasse a montré une flore riche composée de bactéries environnementales et de deux types de levures pigmentées et non pigmentées. Ces résultats indiquent une insuffisance ou une absence de nettoyage et de désinfection à l'endroit du prélèvement.

L'activité antimicrobienne des hydrolats a été testée sur des souches de collection identifiées au genre *Enterobacter* et aux espèces : *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. D'après les résultats de l'aromatogramme, les hydrolats n'ont exercé aucune activité antimicrobienne à l'égard des souches testées, mis à part une souche d'*Enterobacter*, dont la croissance a été inhibée par les hydrolats de romarin et de la lavande avec des diamètres d'inhibition de 30 et 32 mm respectivement. La combinaison des hydrolats avec des produits chimiques : un désinfectant industriel et l'hypochlorite de sodium n'a pas amélioré leur activité antimicrobienne. De même aucune activité antibiofilm n'a été attribuée aux hydrolats testés seuls. L'effet antibiofilm exercé par la formulation désinfectante à base de l'hydrolat de lavande est probablement le résultat de la forte action inhibitrice du désinfectant industriel utilisé en combinaison.

Mots-clés: hydrolats, huiles essentielles, activité antimicrobienne, antibiofilm, désinfection de surfaces.

Abstract

This work aims to evaluate the antimicrobial activity of essential oil hydrolates to improve the hygiene of hospital surfaces. This activity is tested on bacteria isolated from the environment of a microbiological analysis laboratory and on collections strains.

The total microflora count was carried out on PCA and PDA media, revealing a mainly fungal contamination, dominated by a morphological type of fungi. Swabbing the surfaces of the bench showed a rich flora composed of environmental bacteria and two types of pigmented and non-pigmented yeasts. These results indicate insufficient or no cleaning and disinfection at the sampling site.

The antimicrobial activity of hydrolates was tested on collection strains identified with the genus *Enterobacter* and species: *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. According to the results of the aromatogram, the hydrolates did not exert any antimicrobial activity with respect to the strains tested, apart from a strain of *Enterobacter*, whose growth has been inhibited by rosemary and lavender hydrolates with inhibition diameters of 30 and 32 mm respectively. The combination of hydrolates with chemicals: an industrial disinfectant and sodium hypochlorite did not improve the antimicrobial activity of hydrolates. Similarly, no antibiofilm activity was attributed to the hydrolates tested alone. The antibiofilm effect exerted by the disinfectant formulation based on lavender hydrosol is probably the result of the strong inhibitory action of the industrial disinfectant used in combination.

Keywords: hydrosols, essential oils, antimicrobial activity, antibiofilm, surface disinfection.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات للماء الزهري للزيوت العطرية لتحسين نظافة أسطح المستشفيات. يتم اختبار هذا النشاط على البكتيريا المعزولة من بيئة مختبر التحليل الميكروبيولوجي وعلى سلالات من المجموعات. تم إجراء تعداد إجمالي النباتات الدقيقة في الهواء على وسائط PCA و PDA، مما يكشف بشكل رئيسي عن التلوث الفطري، الذي يهيمن عليه النوع المورفولوجي من الفطريات. أظهر مسح أسطح المقاعد وجود نباتات غنية تتكون من البكتيريا البيئية ونوعين من الخمائر المصطبغة وغير المصطبغة. وتشير هذه النتائج إلى عدم كفاية أو غياب عمليات التنظيف والتطهير في موقع أخذ العينات. تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات للزيوت العطرية المائية على سلالات المجموعة التي تم تحديدها من جنس *Enterobacter* والأنواع *Staphylococcus aureus*، و *Pseudomonas aeruginosa*. وفقاً لنتائج المخطط العطري، لم تمارس المحاليل المائية أي نشاط مضاد للميكروبات ضد السلالات التي تم اختبارها، باستثناء سلالة واحدة من البكتيريا المعوية، والتي تم تثبيط نموها بواسطة المحاليل المائية لإكليل الجبل والخزامى بقطر تثبيط 30 و 32 ملم على التوالي. مزيج الماء الزهري مع المواد الكيميائية: المطهر الصناعي وهيبوكلوريت الصوديوم لم يحسن النشاط المضاد للميكروبات للماء الزهري. وبالمثل، لم يُعزى أي نشاط مضاد للأغشية الحيوية للماء الزهري التي تم اختبارها وحدها. من المحتمل أن يكون التأثير المضاد للأغشية الحيوية الناتج عن التركيبة المطهرة المعتمدة على الماء الزهري للخزامى نتيجة للعمل المثبط القوي للمطهر الصناعي المستخدم معاً.

الكلمات الرئيسية: الماء الزهري، الزيوت العطرية، النشاط المضاد للميكروبات، الأغشية الحيوية، تطهير الأسطح

Liste des abréviations

- **BHIB**:Brain Heart Infusion Broth
- **C**:Degré Celsius.
- **C1** :*Citrobacter*.
- **Cm**: centimètre .
- **D1**:Désinfectant.
- **E**: Surface nettoyé récemment.
- **E1**: *Enteococcus feacalis*.
- **E-coli**: *Escherichia coli*.
- **EPS**: Exopolymère.
- **G**: gramme.
- **GT**:Germes totaux.
- **H**:Heure.
- **H**:Hydrolat.
- **HC**:hydrolat Eucalyptus.
- **HSD** : Hydrolat obtenu par distillation à la vapeur.
- **HV**:hydrolat de lavande.
- **HV-DI**:Hydrolat lavande-Désinfectant.
- **HV-HS**:Hydrolat de lavande-Hypoclorite de sodium.
- **IAS**:Infection associée aux soins.
- **IN**: Infection nosocomiale.
- **MDR**:multi-drug resistance.
- **Min**:minute.
- **Ml**:millilitre.
- **M11**:*Micrococcus luteus*.
- **Mm**:millimètre.
- **PCA**: Plate Count Agar.
- **PDA** :Potato dextrose agar.
- **HC-DI**:hydrolat Eucalyptus-Désinfectant
- **HC-HS**:Hydrolat Eucalyptus-Hypoclorite de sodium.
- **HE**:Huile essentiel.
- **HEC**:Huile essentiel d'Eucalyptus.
- **HER**:Huile essentiel de romarin.
- **HEV**:Huile essentiel de lavande.
- **HHD** : Hydrolat obtenu par hydrodistillation.
- **HR**:Hydrolat romarin.
- **HR-DI**:Hydrolat romarin-désinfectant
- **HR-HS**:Hydrolat romarin-Hypoclorite de sodium.
- **PH** : Potentiel hydrogène.
- **R14**: *Enterobacter 14*.
- **R15**: *Enterobacter 15*.
- **RpoS**:Sous-unité sigma de protéine régulatrice.
- **S.aureus**: *Staphylococcus aureus*.
- **SFHH**: Société française d'hygiène hospitalière.
- **SM**:Solution mère.
- **SM**:Surface non nettoyé.
- **TSB**:Bouillon pryptone-soja.
- **TSE**: Tryptone-sel-eau
- **TSA** : tryptone soja agar
- **Ul**: microlitre.

Liste des figures :

Figure 1: Biofilm de staphylococcus observé au microscope électronique à balayage.....	6
Figure 2: Processus de formation du Biofilm.....	7
Figure 3: Mécanismes de résistance dans le biofilm bactérien	8
Figure 4: La lavande et ses composé majoritaires.....	12
Figure 5: Eucalyptus globulus et son composé majoritaire.....	12
Figure 6: Représentation schématique du procédé d'hydrodistillation	13
Figure 7 : Plantes utilisées pour la production d'hydrolat	21
Figure 8 : Photo représentant l'appareil d'hydrodistillation de type Clevenger, utilisé dans ce travail	22
Figure 9 : Les différentes étapes du procédé d'hydrodistillation et obtention des hydrolats	23
Figure 10 : Hydrolats à usage médical	23
Figure 11 : Prélèvement à partir de l'air ambiant et de la surface des pailles	25
Figure 12 : Représentation schématique de la préparation des dilutions des huiles essentielles	28
Figure 13 : Photo représentant l'adhésion et formation de biofilms sur les lames en verre.....	31
Figure 14 : L'effet antibactérien dû au désinfectant industriel testé seul.....	38
Figure 15 : L'effet antibactérien dû à l'hypochlorite de sodium testé seul	39
Figure 16 : L'effet antibactérien des hydrolats conservés à température ambiante	42
Figure 17 : Observation microscopique de biofilm après un traitement combinant l'hydrolat de lavande et le désinfectant industriel.....	44
Figure 18 : Aspect des cellules du biofilm traité par le mélange d'hydrolat de lavande et le désinfectant industriel.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle et de l'hydrolat de <i>Daphne gnidium</i>	15
Tableau 2 : Liste des composés des hydrolats extraits du fenouil par hydrodistillation et distillation à la vapeur	16
Tableau 3 : Analyse microbiologique de l'air ambiant, des paillasses et des hydrolats médicaux	24
Tableau 4 : Flore de contamination des paillasses non nettoyées	34
Tableau 5 : Flore de contamination des paillasses nettoyées	34
Tableau 6 : Flore de contamination de l'air ambiant	35
Tableau 7 : Activité antibactérienne des hydrolats et des huiles essentielles	36
Tableau 8 : Activité antimicrobienne des hydrolats mélangé à un désinfectant industriel	38
Tableau 9 : Activité antimicrobienne des hydrolats mélangé à l'hypoclorite de sodium	39
Tableau 10 : Activité antimicrobienne des hydrolats et des huiles essentielles conservés à 4°C	40
Tableau 11 : Activité antimicrobienne des hydrolats médicaux conservés à température ambiante ...	42

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abreviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Synthèse Bibliographique	3
Chapitre I : L'hygiène hospitalière	4
1. L'hygiène hospitalière	3
1.1. Définition	3
1.2. Les infections nosocomiales (IN)	3
1.3. La flore de contamination de l'environnement hospitalier	3
1.3.1. La contamination de l'air en milieu hospitalier	3
1.3.2. Contamination des dispositifs médicaux	4
1.3.2.1. Contamination des endoscopes	4
1.3.2.2. Contamination des sondes urinaires	5
1.3.3. Contamination des surfaces et des objets	5
2. Le problème du biofilm des dispositifs médicaux	5
2.1. Définition et caractéristiques des biofilms	6
2.2. Résistance des biofilms aux agents antimicrobiens	8
3. La désinfection en milieu hospitalier	8
3.1. Définition de la désinfection	8
4. Les méthodes de la désinfection hospitalière	9
4.1. La désinfection chimique	9
4.2. La désinfection thermique	9
4.3. La désinfection par ultrasons	9
5. Les effets rémanents de la désinfection hospitalière	9
5.1. Définition de la rémanence	9
5.2. Effet rémanent des désinfectants	10
Chapitre II : Effet des hydrolats dans la lutte contre les microorganismes et les biofilms	11
I. Généralités sur les huiles essentielles et leurs hydrolats	11
1.1. Les huiles essentielles	11
1.1.1. Définition	11

1.1.2.	Composition des huiles essentielles	11
1.2.	Les hydrolats.....	12
1.2.1.	Définition.....	12
1.2.2.	Production des hydrolats	13
1.2.2.1.	L'hydrodistillation.....	13
1.2.2.2.	La distillation à la vapeur	14
1.2.2.3.	Conservation des hydrolats.....	14
1.2.3.	Composition chimique.....	14
1.2.4.	Stockage et distribution des hydrolats.....	16
1.2.5.	Commercialisation des hydrolats en Algérie.....	16
1.2.6.	Les activités biologiques des hydrolats	17
1.2.6.1.	Activité antimicrobienne.....	17
1.2.6.2.	Activité antibiofilm.....	18
1.2.6.3.	Activité antivirale	18
1.2.6.4.	Activité antioxydante.....	18
1.2.7.	Applications des hydrolats.....	19
1.2.7.1.	En cosmétique	19
1.2.7.2.	En industrie alimentaire	19
1.2.7.3.	En aromathérapie	19
	Matériel Et Méthodes	11
I.	Obtention des huiles essentielles et des hydrolats.....	21
1.	Matériel végétal	21
2.	Récolte et séchage :.....	21
A.	Eucalyptus :.....	21
B.	Lavande :.....	21
3.	Extraction des huiles essentielles :	22
3.1.	Matériel d'extraction :	22
3.2.	Procédé d'extraction des huiles essentielles et l'obtention des hydrolats :.....	22
3.3.	Les hydrolats à usage médical	23
II.	Analyse microbiologique et isolement des souches bactériennes	24
1.	Prélèvement à partir de l'air ambiant :.....	24
2.	Prélèvement à partir des surfaces des pailles :	25
3.	Ensemencement :.....	25
3.1.	Ensemencement par étalement au râteau :	25
3.2.	Ensemencement par écouvillonnage :	25
4.	Contrôle microbiologique des hydrolats médicaux	26

5.	Identification des isolats.....	26
5.1.	Examen macroscopique	26
5.2.	Examen microscopique	26
5.2.1.	Coloration de Gram :	26
5.2.2.	Coloration au bleu de coton :.....	27
III.	Évaluation de l'activité antimicrobienne des hydrolats :.....	27
1.	Repiquage des souches de la collection :.....	27
2.	Préparation des précultures :	28
3.	Préparation des dilutions des huiles essentielles :.....	28
4.	Aromatogramme des huiles essentielles et des hydrolats :	29
5.	Dépôt des disques imprégnés de substances antimicrobiennes	29
6.	Aromatogramme des hydrolats mélangés aux désinfectants chimiques	29
IV.	Détermination de l'activité anti biofilm des hydrolats.....	30
1.	Obtention des biofilms <i>in -vitro</i> :.....	30
1.1.	Préparation des cultures bactériennes.....	30
1.2.	Préparation des lames en verre	30
1.3.	Adhésion et formation de biofilms sur les lames en verre	30
2.	Traitement des biofilms avec les formulations à base d'hydrolats :.....	31
3.	Dénombrement des bactéries sessiles :	31
4.	Caractérisation microscopique de l'effet antibiofilm	32
	Résultats Et Discussion	20
I.	Résultats de l'analyse microbiologique de l'environnement des laboratoires	33
1.	La flore de contamination des surfaces	33
2.	La flore de contamination de l'air ambiant	34
II.	Résultats de l'aromatogramme des hydrolats et des huiles essentielles	35
1.	Résultats de l'aromatogramme des formulations désinfectantes à base d'hydrolats....	37
1.1.	Combinaison avec un désinfectant industriel	37
1.2.	Combinaison avec l'hypchlorite de sodium.....	38
III.	Effet de la conservation sur l'activité antimicrobienne des hydrolats.....	40
1.	Résultats de l'aromatogramme des hydrolats et des huiles essentielles conservés à 4°C	40
2.	Résultats de l'aromatogramme des hydrolats médicaux conservés à la température ambiante.....	41
	➤ Absence d'activité initiale dès l'extraction	41
	➤ Perte d'activité durant le stockage.....	43
IV.	Détermination de l'activité anti biofilm des formulations désinfectantes à base d'hydrolats	43

1. Caractérisation microscopique des biofilms non traités (témoins)	43
2. Caractérisation microscopique des biofilms traités	44
3. Dénombrement des bactéries sessiles survivant au traitement	45
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	48
Les annexes	46

Introduction

Introduction

L'établissement hospitalier, tout en étant un lieu de traitement, présente un risque notable d'infection, d'autant plus préoccupant que les agents pathogènes développent une résistance croissante. Ainsi, les infections contractées à l'hôpital ou infections nosocomiales constituent un enjeu majeur de santé publique, de par leur fréquence, leur coût et leur gravité, touchant aussi bien les patients et leurs proches que l'ensemble des professionnels de la santé (**Chibi, 2015**).

En effet, l'environnement hospitalier est significativement soumis à la présence de micro-organismes d'origines diverses, qu'ils proviennent de l'activité humaine ou de l'environnement propre à l'établissement. Cette contamination varie en termes de qualité et de quantité, tant d'un établissement à un autre qu'au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, ainsi que des soins et des techniques appliqués (**Carrère, 2017**).

Parmi les diverses sources de contamination, les surfaces environnementales peuvent héberger des micro-organismes pathogènes, favorisant ainsi leur propagation et la transmission d'infections. Par conséquent, il est essentiel de mettre en place des méthodes de désinfection appropriées en prévention de ces infections.

Les plantes médicinales et aromatiques jouent un rôle crucial dans ce contexte. Elles sont devenues une ressource précieuse pour la production de nombreuses substances, notamment de diverses molécules chimiques complexes utilisées dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. Les hydrolats, tout comme les huiles essentielles, constituent une excellente source d'une variété de produits chimiques qui présentent des propriétés et des activités biologiques (**Rao, 2013 ; Poli, 2018**). L'activité antimicrobienne joue un rôle déterminant dans la qualité de ces hydrolats dans leur capacité à lutter contre les contaminations microbiennes. Leur utilisation soulève de nombreuses questions et fait l'objet de recherches approfondies.

Notre travail porte sur la détermination de l'activité antimicrobienne des hydrolats d'huiles essentielles ainsi que sur leur application à la désinfection d'une surface contaminée par le biofilm. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité des hydrolats et des huiles essentielles en tant qu'agents antimicrobiens et anti biofilm pour la désinfection des surfaces dans les établissements de santé.

Introduction

Dans ce projet de fin d'études, nous allons dans un premier temps parler de l'hygiène et de la désinfection hospitalière. Ensuite, nous développerons la nécessité de lutter contre les microorganismes.

Enfin, la contribution potentielle des hydrolats dans la lutte contre les microorganismes et les biofilms est évaluée via l'approche expérimentale suivante :

- Extraction des huiles essentielles de quelques plantes médicinales et récupération de leurs hydrolats.
- Analyse de la contamination aéroportée ainsi que celle des surfaces dans un laboratoire d'analyses microbiologiques et isolement des souches bactériennes.
- Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des hydrolats par la technique de l'aromatogramme.
- Application des hydrolats à la désinfection de surfaces contaminées par le biofilm.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I

L'hygiène hospitalière

1. L'hygiène hospitalière

1.1. Définition

L'hygiène hospitalière fait référence à l'ensemble des mesures et des pratiques mises en place dans un établissement de santé (hôpitaux, cliniques, centre de soins, etc.) pour prévenir et contrôler les infections nosocomiales, c'est-à-dire les infections contractées par les patients lors de leur séjour à l'hôpital (**Diarra et Tra, 2022**). Il est essentiel que l'environnement hospitalier soit bien organisé, propre, sûr et adapté aux besoins des patients et du personnel de santé afin de garantir des soins efficaces et de qualité. Cela inclut également la mise en place de mesures d'hygiène, de sécurité et de gestion des risques pour prévenir les infections nosocomiales et assurer la sécurité des patients et du personnel (**Chedia et al., 2008**).

L'hygiène hospitalière englobe ainsi divers aspects tels que la propreté et la désinfection des locaux et des équipements, la gestion des déchets, le lavage des mains, le contrôle des infections, et d'autres mesures visant à assurer un environnement sûr et sain pour les patients, le personnel de santé et les visiteurs (**Ripaqs - Pronalin, 2009**). Elle joue un rôle crucial dans la sécurité des patients et contribue à réduire le risque d'infections associées aux soins de santé, ce qui est essentiel pour la qualité des soins dispensés en milieu hospitalier (**Alain, 2004**).

1.2. Les infections nosocomiales (IN)

Une infection nosocomiale (IN), également connue sous le nom d'infection associée aux soins de santé (IAS) est une infection qui se développe chez un patient pendant ou après son séjour dans un établissement de santé, tels qu'un hôpital, une clinique ou un centre de soins. Celle-ci n'était donc pas présente au moment de l'admission ni même en période d'incubation à ce moment-là (**Verinsa, 2021**).

1.3. La flore de contamination de l'environnement hospitalier

1.3.1. La contamination de l'air en milieu hospitalier

Dans des conditions normales de fonctionnement de l'hôpital, l'air agit comme un transporteur des germes.

Nous distinguons deux groupes de germes qui sont les suivants :

➤ Les micro-organismes de l'air extérieur

Ils sont rarement pathogènes et leur quantité et leur qualité varient selon les lieux et les conditions atmosphériques.

La plupart des espèces bactériennes sont Gram positives telles que *Bacillus*, *Micrococcus* et *Staphylococcus* mais il est également possible d'isoler d'autres espèces comme les bactéries Gram (-) et les micro-organismes anaérobies tels que *Clostridium perfringens*.

Cette flore de base peut également contenir des levures et des champignons (Havet, 2019).

➤ Les micro-organismes présents dans l'air intérieur des hôpitaux

Ils reflètent souvent la flore commensale humaine des patients et des soignants. Les bactéries les plus fréquemment isolées sont d'origine cutanée. Il y a les bactéries aérobies, comme les *Staphylococcus* à coagulase (-), les genres *Corynebacterium* et *Bacillus* ainsi que les bactéries anaérobies, telles que les *Propionibacterium* acnés (coques anaérobies) (Lionel, 2003).

1.3.2. Contamination des dispositifs médicaux

La contamination des dispositifs médicaux tels les cathéters, les sondes et les appareils d'exploration fonctionnelle sont responsables de la transmission des infections dues à flore endogène d'un patient à l'autre. De nombreuses bactéries Gram (-) (Entérobactéries, *Pseudomonas*) ou Gram (+) (Entérocoques, *Staphylococcus aureus*) sont impliquées dans ces problèmes de contamination.

D'autres appareils médicaux peuvent être également impliqués. En réanimation, il y a le risque de pneumonie associée à la ventilation mécanique continue (Infections à *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*...) ce qui nécessite un contrôle précis et continu. Les petits appareils doivent également être surveillés et, dans certains cas, les patients hospitalisés doivent bénéficier d'une attribution personnelle (Lionel, 2003).

1.3.2.1. Contamination des endoscopes

Les principales voies de contamination des endoscopes sont soit par des microorganismes du patient durant l'examen, soit par des microorganismes de l'environnement lors d'une mauvaise prise en charge de l'endoscope après examen. Les microorganismes impliqués sont : *Pseudomonas*, *Salmonella*, mycobactéries, *Clostridium difficile*, *Helicobacter pylori*.

L'agent pathogène le plus redouté en endoscopie gastro-intestinale est *Salmonella* ou *Pseudomonas*. En bronchoscopie, des mycobactéries sont ajoutées ainsi que l'importance de mettre en œuvre des protocoles efficaces pour désinfecter ces équipements. La majorité des contaminations décrites découlent du non-respect des protocoles de retraitement des endoscopes (nettoyage, désinfection, stockage) (Petignat et al., 2008)

1.3.2.2. Contamination des sondes urinaires

La contamination des sondes urinaires est un problème majeur dans les établissements de santé, car elle peut entraîner des infections nosocomiales graves, augmentant ainsi la morbidité et la mortalité des patients. Les biofilms bactériens qui se forment sur les cathéters urinaires constituent un facteur clé dans le développement de ces infections. Ces biofilms offrent un environnement protecteur aux bactéries, les rendant plus résistantes aux antibiotiques et aux défenses immunitaires de l'hôte. Des études ont montré que jusqu'à 25% des patients cathétérisés développent une infection urinaire associée au cathéter. Pour réduire ce risque, des stratégies telles que l'utilisation appropriée des cathéters, la prévention des traumatismes urétraux lors de la pose, et la promotion des bonnes pratiques d'hygiène sont essentielles (Saint et Chenoweth, 2003)

1.3.3. Contamination des surfaces et des objets

Les surfaces fréquemment touchées sont souvent les plus contaminées comme les poignées, les portes, le téléphone ou encore les claviers d'ordinateur.

Le sol est un réservoir important de micro-organismes (par exemple *Clostridium tetani*, qui cause le tétanos). Les bactéries anaérobies sporulées peuvent persister sur les objets contaminés par le sol, mais les infections en milieu de soins y sont rarement associées.

En revanche, les environnements secs et poussiéreux (sols, surfaces) peuvent conserver les micro-organismes Gram (+) tels que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* pendant des jours ou des semaines (Lionel, 2003).

2. Le problème du biofilm des dispositifs médicaux

Les microorganismes qui contaminent les dispositifs médicaux peuvent former des biofilms qui posent un grand problème à l'hygiène hospitalière. En effet les biofilms sont présents partout dans les établissements de santé et peuvent affecter l'efficacité des traitements antimicrobiens.

Les dispositifs médicaux comme les cathéters urinaires, les valvules cardiaques mécaniques, les prothèses articulaires et les implants mammaires peuvent présenter un risque d'agents pathogènes résistants aux médicaments en raison de la formation des biofilms sur ces appareils.

De plus, les biofilms présents dans les tubes endotrachéaux des patients ventilés mécaniquement agissent comme un bouclier protecteur contre l'immunité de l'hôte, entraînant des infections chroniques et récurrentes résistantes aux médicaments couramment prescrits. Les inserts dentaires, les cathéters veineux centraux, les cathéters intravasculaires, les prothèses vocales, les stimulateurs cardiaques, les cathéters de dialyse péritonéale et les inserts orthopédiques contribuent également à ce risque potentiel (**Muluneh et Azanaw, 2022**). La mise en évidence des biofilms et leur caractérisation posent également un problème à cause du manque de tests standardisés permettant leur détection.

2.1. Définition et caractéristiques des biofilms

Le biofilm est une communauté microbienne sessile caractérisée par des cellules qui sont irréversiblement attachées, à un substratum, ou une interface ou les unes aux autres, emprisonnées dans une matrice de substances polymériques extracellulaires autoproduites et exhibant un phénotype altéré par rapport au taux de croissance et à la transcription des gènes. (**In Malek, 2021**).

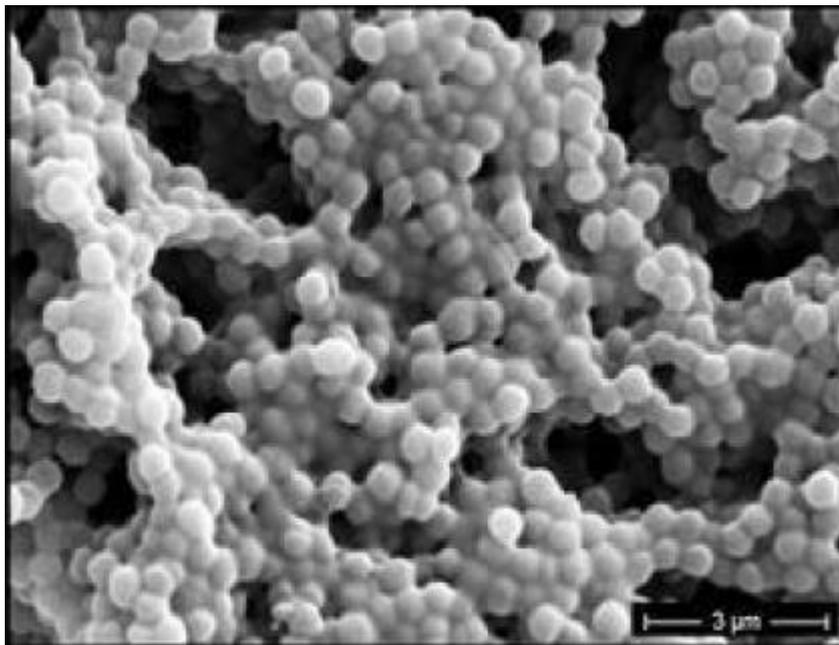


Figure 1: Biofilm de staphylococcus observé au microscope électronique à balayage (**In Malek, 2021**)

La formation de biofilm est un processus séquentiel qui se déroule en plusieurs étapes telles que décrites dans la figure 02.

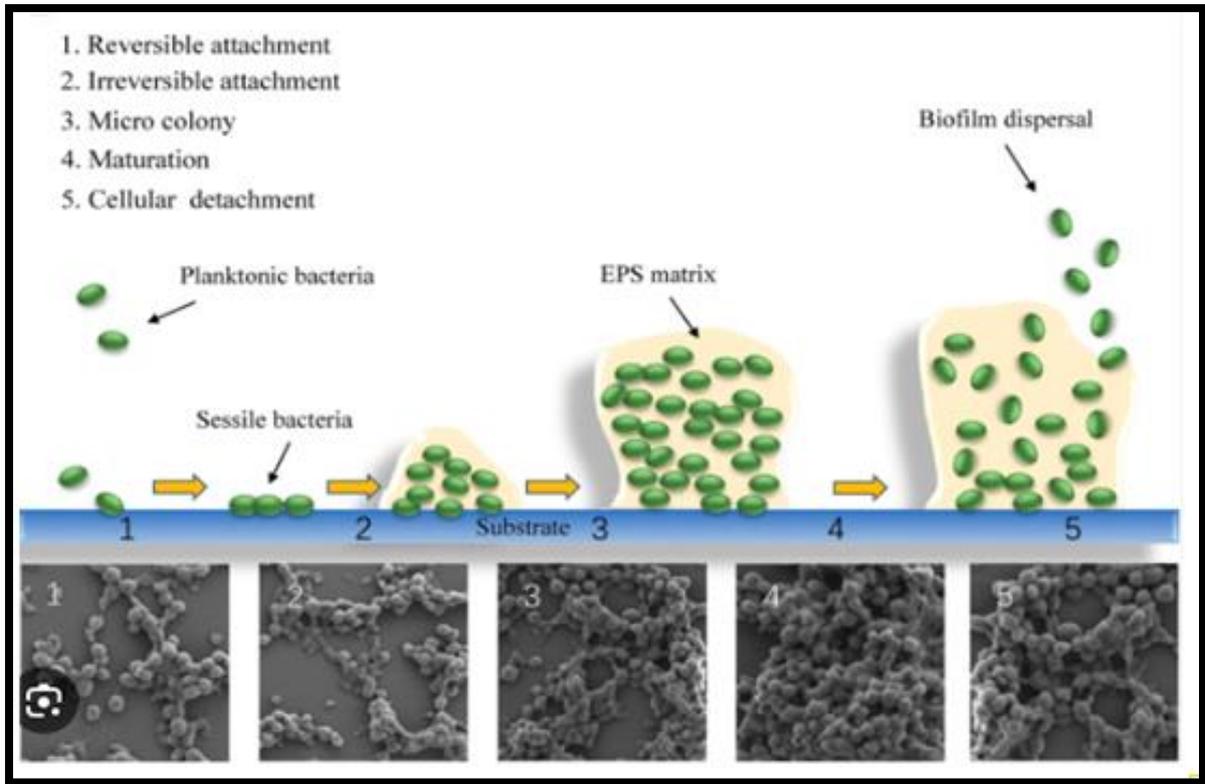


Figure 2: processus de formation du Biofilm

(Yi *et al.*, 2020).

1. Reversible attachment : adhésion réversible
2. Irreversible attachment : adhésion irréversible
3. Micro colony : microcolonies
4. Maturation
5. Cellular detachment : dispersion / détachement cellulaire
6. Planktonic bacteria : bactéries planctoniques
7. Sessile bacteria : bactéries sessiles
8. EPS matrix : matrice extracellulaire
9. Biofilms dispersal : dispersion des biofilms
10. Substrate : substrat

2.2. Résistance des biofilms aux agents antimicrobiens

Les mécanismes de lutte contre les biofilms sont essentiellement basés sur l'action des agents antimicrobiens, antibiotiques ou biocides, et se heurtent toujours au problème crucial de la résistance sessile (Malek ,2019). En effet les bactéries ont développé plusieurs stratégies pour résister aux antibiotiques, à la fois physiques et génétiques. Au niveau physique, les pompes d'efflux expulsent les antibiotiques des cellules, tandis que les biofilms bactériens offrent une matrice protectrice qui réduit la concentration en antibiotiques et modifie leur sensibilité en raison des variations de nutriments et d'oxygène. Sur le plan génétique, le système de communication intercellulaire (quorum sensing) régule l'expression des gènes de résistance, et le régulateur de stress RpoS permet aux bactéries d'entrer en dormance, les rendant moins

vulnérables aux antimicrobiens (Figure 03) (Singh *et al.*, 2017)

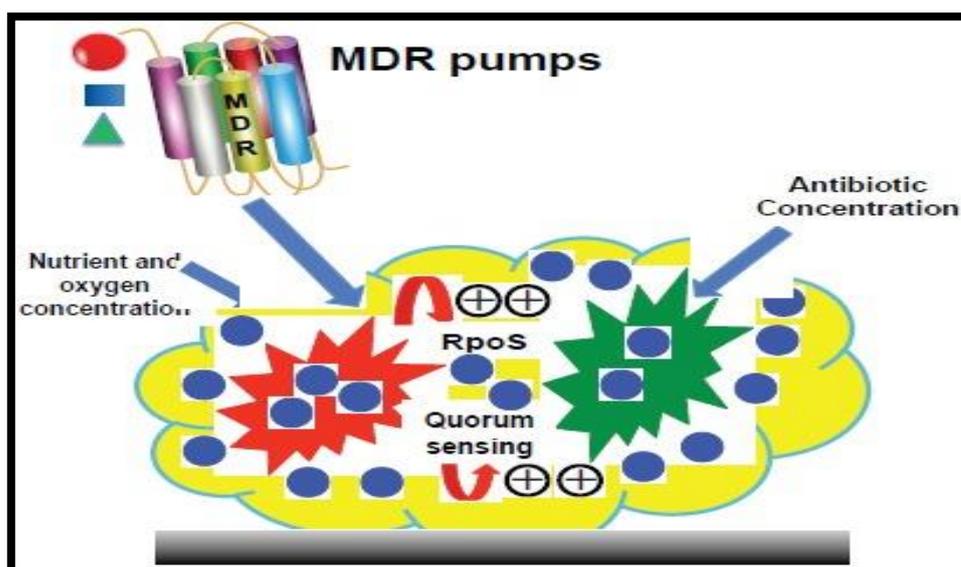


Figure 3: Mécanismes de résistance dans le biofilm bactérien (Singh *et al.*, 2017)

3. La désinfection en milieu hospitalier

3.1. Définition de la désinfection

La désinfection est une opération au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes (bactéries et champignons) ou d'inactiver les virus indésirables portés par les milieux inertes contaminés. Elle a pour but de détruire chimiquement tous les germes restés après le nettoyage : la flore microbienne résiduelle. Un désinfectant a pour objectif de

s'attaquer aux constituants d'un organisme en vue d'obtenir un effet antimicrobien (**In Malek, 2021**)

La désinfection dans les hôpitaux consiste en un ensemble crucial de méthodes et de protocoles visant à maintenir un environnement sûr et sain. Son but est de limiter la propagation des infections nosocomiales en éliminant les germes pathogènes sur les diverses surfaces, les équipements et les instruments médicaux (**Rutala et weber,2019**).

4. Les méthodes de la désinfection hospitalière

4.1. La désinfection chimique

Les établissements de santé utilisent couramment des désinfectants chimiques pour assurer la propreté des surfaces, des équipements et des instruments médicaux. Ces produits incluent des solutions contenant du chlore (hypochlorite de sodium), des composés d'ammonium quaternaire, des alcools tels que l'éthanol et l'isopropanol, des aldéhydes comme le glutaraldéhyde et l'ortho-phthalaldéhyde, de l'acide peracétique et du peroxyde d'hydrogène (**Rutala et weber, 2008**).

4.2. La désinfection thermique

L'utilisation de chaleur sèche ou humide est une méthode courante pour désinfecter les instruments médicaux résistants à la chaleur, tels que les instruments métalliques ou en verre (**Dancer, 2014**). Cette approche est efficace contre un large éventail de micro-organismes, mais moins efficace contre les spores bactériennes. En outre, le lavage désinfectant à l'eau chaude est souvent une étape préliminaire avant une désinfection approfondie ou une stérilisation (**Dixon et Malik, 2021**).

4.3. La désinfection par ultrasons

Les ultrasons sont une technique efficace pour le nettoyage et la désinfection d'instruments médicaux complexes comme les endoscopes. En utilisant des ondes sonores à haute fréquence, les ultrasons peuvent éliminer les impuretés des zones difficiles à atteindre.

5. Les effets rémanents de la désinfection hospitalière

5.1. Définition de la rémanence

L'effet résiduel de l'hygiène des surfaces hospitalières ou effet rémanent se réfère à la durabilité de la propreté et de la désinfection des surfaces après leur nettoyage initial dans un

établissement de santé. Cela mesure la capacité des procédures de nettoyage et de désinfection à maintenir un environnement dépourvu de micro-organismes pathogènes sur une période prolongée, réduisant ainsi le risque de transmission d'infections nosocomiales. L'effet rémanent des produits désinfectants est une innovation dans le domaine de l'hygiène hospitalière, qui n'était pas prise en compte dans les recommandations de la société française d'hygiène hospitalière (SFHH). Certaines bactéries Gram (-) peuvent persister huit jours, comme *Acinetobacter* qui peut être isolée des matelas, des têtes de lit, des tablettes, des téléphones, des machines à café, des rebords de fenêtres, des lampes et des chemises. Par conséquent, la sensibilisation et la formation du personnel de santé sont essentielles pour optimiser l'effet résiduel et prévenir les infections nosocomiales (**Schmitt et al, 2008**)

5.2. Effet rémanent des désinfectants

Les produits chimiques utilisés pour la désinfection des surfaces hospitalières diffèrent dans leurs effets rémanents. Certains désinfectants sont plus efficaces que d'autres comme le montre certains travaux. L'étude **de Schmitt et al., (2009)** a porté sur la comparaison de l'effet rémanent antibactérien d'un détergent/désinfectant pour surfaces (D1) avec d'autres produits commercialisés en France. Les résultats obtenus montrent que le produit (D1), sous ses différentes formes, présente une activité bactéricide rémanente sur *E. coli* pendant au moins 10 jours, contrairement aux autres produits testés qui n'ont qu'un effet bactériostatique au-delà de 2 jours. Cet effet bactéricide rémanent du (D1) serait particulièrement intéressant en hygiène hospitalière pour limiter le rôle de réservoir bactérien de certaines surfaces manipulées fréquemment.

Chapitre II

Effet des hydrolats dans la lutte contre les microorganismes et les biofilms

I. Généralités sur les huiles essentielles et leurs hydrolats

1.1. Les huiles essentielles

1.1.1. Définition

Les essences des plantes aromatiques, également appelées huiles essentielles, sont des substances huileuses produites par des plantes qui possèdent une nature volatile et parfumée. Bien que la plupart des huiles essentielles soient liquides à température ambiante, il existe quelques exceptions sous forme solide ou résineuse. Ces huiles sont disponibles dans une gamme de couleurs, notamment le jaune pâle, le vert émeraude, le bleu et le rouge brunâtre foncé (**Bassolé et Juliani, 2012**).

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes des composés volatils, principalement des terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes) et des composés aromatiques (phénylpropanoïdes). Ces substances concentrées sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes et possèdent diverses propriétés biologiques (antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, etc.) qui leur confèrent de nombreuses applications en aromathérapie, en cosmétique, en agroalimentaire et en médecine alternative (**Edris, 2007**).

1.1.2. Composition des huiles essentielles

La composition chimique et précise des huiles essentielles varie grandement selon l'espèce végétale, l'organe de la plante, les conditions environnementales et le mode d'extraction. Les huiles essentielles naturelles contiennent plus de 300 types de molécules distinctes (**Bakkali et al., 2008**). Leur large gamme de propriétés biologiques découle de la complexité de leur composition (**Burt, 2004**). Les terpènes représentent généralement la fraction majoritaire des huiles essentielles (**Bakkali et al., 2008**).

Comme le montrent les figures (4 et 5), certains composés majoritaires caractérisent une huile essentielle :

- Huile essentielle de tea tree : terpinène-4-ol, γ -terpinène
- Huile essentielle de girofle : eugénol
- Huile essentielle de lavande : linalol, acétate de linalyl (figures 4).
- Huile essentielle d'*eucalyptus globulus* : eucalyptol (1,8 – cinéole) (figures 5).

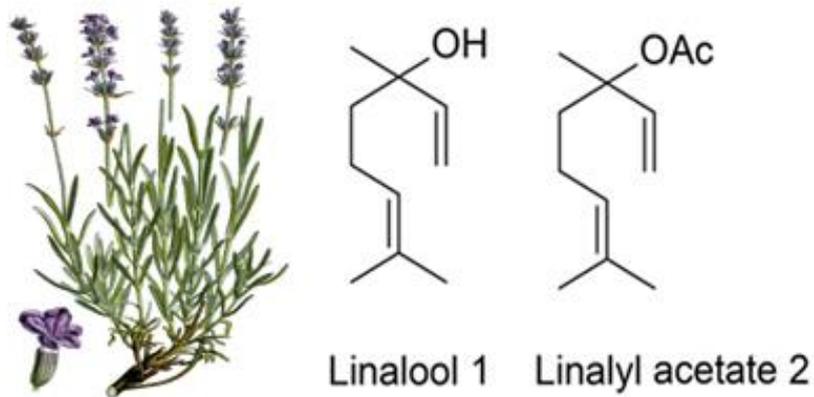


Figure 4: La lavande et ses composés majoritaires

(Elsharif *et al.*, 2015).

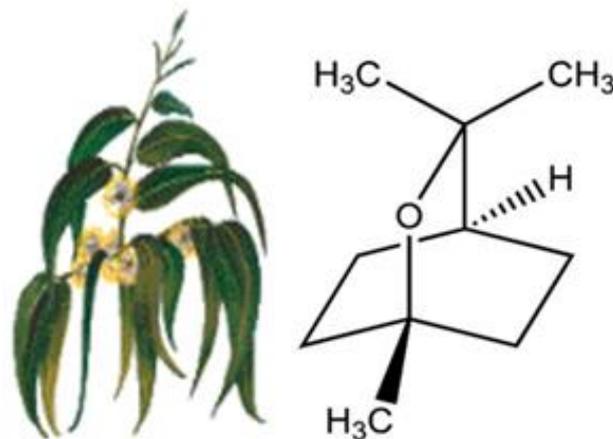


Figure 5: *Eucalyptus globulus* et son composé majoritaire

(Naudé *et al.*, 2016).

1.2. Les hydrolats

1.2.1. Définition

Un hydrolat est un liquide obtenu par distillation dans un alambic, similaire aux huiles essentielles. Il est récupéré à partir de la phase aqueuse séparée de l'huile essentielle lors du processus de distillation. Cette eau chargée en molécules actives de la plante distillée ou eau aromatisée porte différentes appellations selon les auteurs : hydrolat, hydrosol, eau florale, eau aromatique (Rajeswara Rao, 2013). On la qualifie généralement d'"eau aromatique" ou d'"eau distillée de..." suivi du nom de la plante. Les fleurs distillées donnent des "eaux florales".

Les différentes parties de la plante, telles que les écorces, les fleurs, les feuilles et les plantes entières, peuvent être utilisées pour produire des hydrolats aromatiques. La phase hydrodistillée, contient principalement les composés volatils, et la phase hydrosol, est constituée d'eau condensée et d'une faible quantité d'huile essentielle dissoute (généralement moins de 1 g/L), conférant ainsi les propriétés organoleptiques (Labadie *et al.*, 2015).

1.2.2. Production des hydrolats

Le processus d'obtention de ces aromatiques ou hydrolats implique soit une **distillation à la vapeur d'eau**, soit une **hydro distillation** des matières végétales (Labadie *et al.*, 2015). Les hydrolats sont ainsi produits de manière simple et peu coûteuse, et ils semblent être moins toxiques pour la santé humaine que les huiles essentielles (D'Amato *et al.*, 2018).

1.2.2.1. L'hydrodistillation

L'hydro distillation est un processus d'extraction des composés volatils des plantes aromatiques (Figure 06). Dans ce processus, les plantes sont immergées dans de l'eau, puis chauffées. La vapeur d'eau entraîne les composés volatils hors des plantes, et cette vapeur est ensuite refroidie pour se condenser, produisant ainsi l'hydrolat et l'huile essentielle. Ce procédé est souvent utilisé pour obtenir des hydrolats de haute qualité car il permet de conserver les propriétés aromatiques et les bienfaits des plantes (Tboukoyout, 2013).

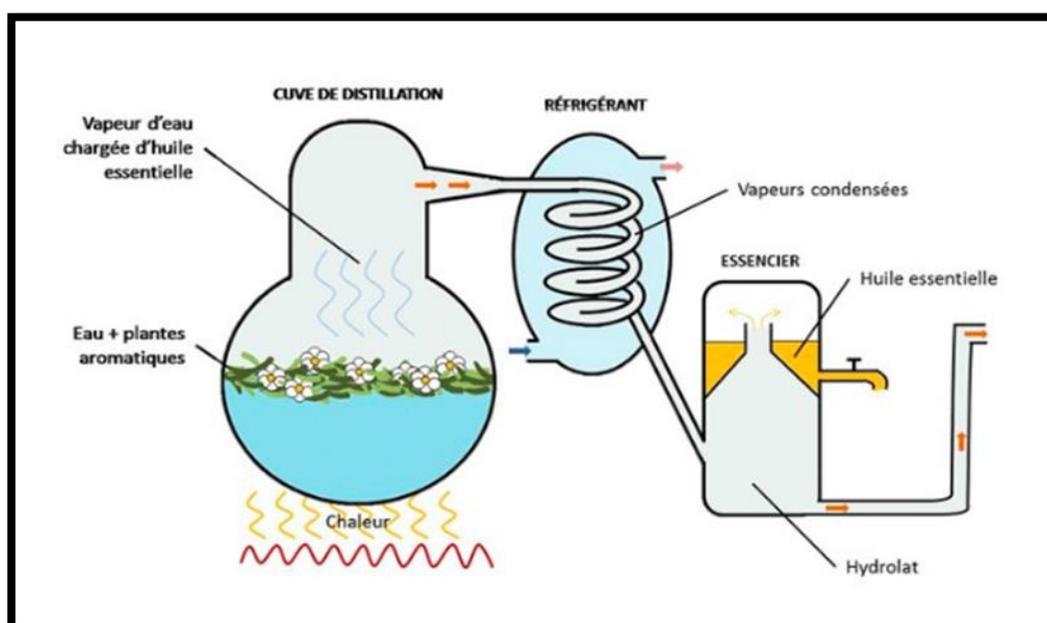


Figure 6: Représentation schématique du procédé d'hydrodistillation

(Labadie *et al.*, 2015).

1.2.2.2. La distillation à la vapeur

Ce procédé de distillation est le moyen le plus courant pour produire des hydrolats. La vapeur transporte les substances aromatiques volatiles, solubles dans l'eau, provenant de la matière végétale. Pour y parvenir, après condensation de la vapeur, on obtient un mélange d'eau et d'huile essentielle. L'huile essentielle est ensuite séparée de l'hydrolat soit par décantation, soit par centrifugation (**Boukhatem et al., 2019**).

1.2.2.3. Conservation des hydrolats

Une fois obtenus, il est essentiel de stocker correctement ces hydrolats ou eaux florales pour préserver leurs propriétés. Ils doivent être transvasés dans des contenants stériles, opaques et hermétiquement fermés afin d'éviter toute contamination et dégradation. De plus, un lieu frais et sombre représente les conditions idéales pour leur conservation à long terme. Un mauvais conditionnement ou une exposition à la chaleur et à la lumière pourrait altérer la composition de ces eaux aromatiques issues de plantes (**D'Amato et al., 2018**).

1.2.3. Composition chimique

L'hydrolat ne contient que des traces de certains composés volatils similaires à ceux présents dans l'huile essentielle, ainsi que quelques molécules hydrophiles introuvables dans l'huile. Les molécules d'oxygène, également hydrophiles, en constituent la majorité (géraniol, dioxyde de carbone). D'un autre côté, les composés tels que les hydrocarbures terpéniques sont largement lipophiles, ce qui les rend absents des systèmes d'eau (**Bouhenni et Benslimane, 2021**).

Telle que montrée par le tableau 1 la composition chimique des huiles essentielles et de leurs hydrolats diffèrent quantitativement et qualitativement. Certains composés présents dans les hydrolats sont totalement absents dans l'huile essentielle correspondante et vice-versa. À titre d'exemple dans le cas de l'espèce végétale *Daphne gnidium*, sur les 30 composants chimiques répertoriés dans le tableau 1, l'huile essentielle contient 25, tandis que l'hydrolat n'en contient que 12. Cela indique une différence significative dans la composition des deux produits.

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Daphne gnidium*
(Adapté d'Allal *et al.*, 2019).

No.	Compound ^a	Essential oil ^a	Hydrosol ^b
1	3-Methyl-3-pentanol ⁶	-	3.6
2	Benzaldehyde ⁶	0.1	-
3	β -Pinene ¹	tr	-
4	Myrcene ¹	tr	-
5	p-Cymene ¹	0.3	-
6	Benzyl alcohol ⁶	-	0.9
7	Limonene ¹	0.2	-
8	<i>trans</i> -Sabinene hydrate ²	tr	-
9	<i>trans</i> -linalol oxide ²	0.1	0.4
10	Octanol ⁶	tr	-
11	6-Methyl-3,5-heptadien-2-one ⁶	-	0.8
12	Nonanal ⁶	0.2	0.6
13	Linalool ²	0.7	2.9
14	Phenyl ethanol ⁶	-	0.6
15	Phenyl acetaldehyde ⁶	0.3	-
16	Camphor ²	0.5	tr
17	Isophorone ²	0.1	-
18	Cryptone ²	0.9	-
19	Terpinen-4-ol ²	0.8	-
20	α -Terpineol ²	-	2.6
21	Estragol ²	2.1	0.9
22	Decanal ⁶	0.4	0.9
23	<i>trans</i> -Carveol ²	0.2	-
24	Nerol ²	0.6	-
25	Cuminaldehyde ²	0.6	5.6
26	Carvone ²	12.7	10.9
27	Geraniol ²	0.1	-
28	E-Myrtenol ²	0.1	-
29	(E)-2-Decanal ⁶	0.2	-
30	Phellandral ²	0.6	-

La composition des hydrolats est également influencée par le procédé de distillation (Tableau 2). Certains composés des hydrolats obtenus par entrainement à la vapeur ne sont pas présents dans les hydrolats extraits par hydrodistillation de la même plante (Tableau 2).

Tableau 2 : Liste des composés des hydrolats extraits du fenouil par hydrodistillation et distillation à la vapeur (Adapté de **Silha et al., 2020**).

Compound	% of Total Peak Area	
	H _{SD_SPE}	H _{HD_SPE}
Capronic acid	0.2	n.i.
1,8-Cineol	2.8	3.8
Phenylacetaldehyde	0.1	n.i.
Fenchone	22.5	26.5
Linalool	0.3	0.2
Camphor	0.7	0.9
Estragole	37.4	33.0
Carveol	2.6	2.3
Carvone	2.2	2.3
<i>p</i> -Anisaldehyde	5.2	5.5
Eugenol	2.5	5.6
Eugenyl acetate	0.8	1.0
<i>p</i> -Methoxy Cinnamaldehyde	7.1	4.0

H_{SD} : Hydrolat obtenu par distillation à la vapeur, H_{HD} : Hydrolat obtenu par hydrodistillation

1.2.4. Stockage et distribution des hydrolats

Après leur production, la gestion des hydrolats ou eaux florales aromatiques varie considérablement selon les producteurs et les conditions d'expédition. Ils peuvent être stockés dans de grands conteneurs de plus de 200 litres, en attente d'être exportés ou utilisés localement. Les lieux de stockage sont diversifiés : hangars extérieurs, chambres froides, cuves enterrées, etc. En conséquence, les températures auxquelles sont soumis ces hydrolats oscillent grandement, de 5°C en chambre froide jusqu'à 40-50°C à l'air libre, en particulier lors du transport maritime, routier ou aérien. De plus, les étapes de production, stockage et distribution s'effectuent souvent dans des environnements ouverts et ventilés. Durant leur cycle de vie, les hydrolats font donc face à des conditions de température et de conservation très variables et difficilement contrôlables de manière optimale (**Labadie, 2015**).

1.2.5. Commercialisation des hydrolats en Algérie

La commercialisation des hydrolats en Algérie est un aspect innovant dans le contexte des huiles essentielles et des produits parapharmaceutiques. La toute première startup spécialisée dans l'extraction et la commercialisation d'hydrolats et d'huiles essentielles à partir de plantes

locales a été créée dans l'est de l'Algérie (**Hadjadj et Nouri, 2022**). L'innovation réside dans l'utilisation de méthodes d'extraction modernes comme l'hydrodistillation assistée par ohmique, permettant d'obtenir des hydrolats de haute qualité aux propriétés biologiques variées (**Hadjadj et Nouri, 2022**).

Les produits seront mis en vente dans les pharmacies et les magasins de produits parapharmaceutiques, offrant ainsi une large couverture géographique et une bonne visibilité auprès des consommateurs (**Laiche et Mecheri, 2023**). Les consommateurs ciblés sont ceux intéressés par les produits naturels et leurs bienfaits pour la santé, ainsi que les professionnels de la santé et de la beauté à la recherche d'alternatives naturelles efficaces (**Hadjadj et Nouri, 2022**).

1.2.6. Les activités biologiques des hydrolats

Les hydrolats présentent de nombreuses propriétés biologiques intéressantes comme des activités antibactériennes, antifongiques et antioxydantes (**D'amato et al., 2018**). Cependant, les études sur la bioactivité des hydrolats sont peu nombreuses comparées à celles sur les huiles essentielles (HE). Bien que les hydrolats et leurs HE correspondantes partagent des similitudes chimiques, leurs effets peuvent différer. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre et exploiter le potentiel biologique des hydrolats (**Hay, 2015**).

1.2.6.1. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des hydrolats a été prouvée contre de nombreux pathogènes bactériens et fongiques (**Marino et al., 2020, Silha et al., 2020 ; Di Vito et al., 2021**). Les hydrolats d'espèces végétales aussi variées que *Pimpinella anisum* (anis), *Cuminum cyminum* (cumin) et *Origanum vulgare* (origan) se sont révélées efficaces contre des bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**D'amato et al., 2018**). Les hydrolats montrent des propriétés antibactériennes significatives grâce aux composés bioactifs qu'ils contiennent. Ces molécules bioactives perturbent les membranes cellulaires des bactéries, entraînant la fuite de leurs composants internes et leur mort. Les phénols et les terpénoïdes présents dans ces hydrolats sont particulièrement actifs et responsables de cette action antibactérienne. (**D'amato et al., 2018**).

1.2.6.2. Activité antibiofilm

Les produits naturels font partie des nouvelles stratégies de lutte contre les biofilms, sachant la résistance notable de ces derniers aux agents antimicrobiens conventionnels tels que les antiseptiques, les désinfectants et les antibiotiques (Malek, 2019). Parmi les produits naturels issus des plantes, les effets antibiofilms sont attribués aux huiles essentielles plutôt qu'aux extraits végétaux ou aux hydrolats. En effet, de nombreux travaux ont montré l'efficacité des huiles essentielles dans l'inhibition de la formation de biofilms ainsi que dans leur éradication (Niu et Gilbert, 2004 ; Benaissa et al., 2024).

Contrairement aux huiles essentielles, l'activité antibiofilm des hydrolats est peu documentée et même controversée. En effet, une réduction significative de la formation de biofilms a été observée avec l'hydrolat du clou de girofle, non concentré alors que le même hydrolat concentré augmente leur formation chez les souches bactériennes testées (Silha et al., 2020).

1.2.6.3. Activité antivirale

Un effet virucide a été récemment décrit chez des hydrolats de *Citrus Limon*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* à l'égard du norovirus murin (Cozzi et al., 2023). De même une activité antivirale a été constatée chez divers hydrolats issus de la distillation des plantes aromatiques récolées dans la région de Tlemcen, à savoir, le thym, la lavande, et l'eucalyptus. Ces hydrolats, utilisés en spray se sont révélés efficaces dans la protection contre la transmission de l'infection COVID 19, lorsqu'ils étaient pulvérisés sur les mains et les visages du médecin et des patients traités (Dr. Saidi, Communication personnelle).

Un effet inhibiteur de virus phytopathogènes a été également attribué aux hydrolats des espèces végétales *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, et *Rosmarinus officinalis*. Ces hydrolats ont pu inhiber le développement du virus de la mosaïque jaune de la courgette et celui de la courbure des feuilles de tomate ou virus de New Delhi (Taglienti et al., 2022).

1.2.6.4. Activité antioxydante

Les hydrolats possèdent également des propriétés antioxydantes intéressantes. Plusieurs études ont démontré le potentiel antioxydant d'hydrolats issus de différentes plantes aromatiques. Les hydrolats de romarin (*Rosmarinus officinalis*), de thym (*Thymus vulgaris*) de lavande (*Lavandula angustifolia*), de menthe poivrée (*Mentha piperita*) et de sauge (*Salvia officinalis*) ont exhibés une forte activité antioxydante, parfois supérieure même à celle de l'huile essentielle correspondante. Cette propriété des hydrolats pourrait être exploitée dans

des applications en agroalimentaire, cosmétique ou encore en médecine complémentaire comme agents protecteurs contre le stress oxydatif. (Jakubczyk et al., 2021).

1.2.7. Applications des hydrolats

Les hydrolats trouvent des applications variées, notamment en cosmétique, agroalimentaire et aromathérapie, grâce à leur innocuité et leurs vertus apaisantes. Ils sont souvent utilisés en vaporisation pour créer une ambiance apaisante dans l'environnement (D'amato et al., 2018).

1.2.7.1. En cosmétique

Les hydrolats sont polyvalents et peuvent être utilisés seuls ou intégrés dans des produits cosmétiques. Leur douceur pour la peau les rend plus simples à utiliser que les huiles essentielles et les rend adaptés à diverses applications. Ils sont souvent présents dans les toniques pour le visage et le corps, les lotions, les produits après-rasage, ainsi que dans les soins thérapeutiques pour le visage. Ces extraits de plantes contribuent à rétablir le pH naturel de la peau, généralement acide à neutre, favorisant ainsi son équilibre (Fernandez et André, 2014).

1.2.7.2. En industrie alimentaire

Dans l'industrie alimentaire à travers le monde, les hydrolats sont largement employés comme agents aromatisants dans diverses pâtisseries et boissons, notamment dans les cuisines méditerranéennes et du Moyen-Orient. En plus de leur utilisation comme arômes, ces extraits jouent un rôle crucial dans la préservation des aliments. Ils aident à inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes, à éliminer les biofilms, à réduire la dépendance aux antibiotiques et à combattre la résistance aux antibiotiques. Des hydrolats comme l'eau de rose, l'eau de lavande, l'eau de mélisse et l'eau de sauge sont souvent employés pour aromatiser et conserver les aliments frais (Jakubczyk et al., 2021).

1.2.7.3. En aromathérapie

Les hydrolats sont également largement utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques. Ils peuvent être appliqués directement sur la peau, parfois dilués dans de l'eau, pour traiter divers problèmes cutanés tels que les irritations, les rougeurs ou les inflammations. (Jakubczyk et al., 2021). Certains hydrolats sont connus pour leurs propriétés calmantes, relaxantes ou revitalisantes, et sont utilisés en inhalation ou en vaporisation pour aider à gérer le stress,

l'anxiété ou les troubles du sommeil (**Moravej et al., 2016**). Les hydrolats offrent une alternative douce et polyvalente aux huiles essentielles, conservant néanmoins certaines des propriétés thérapeutiques des plantes, et peuvent être utilisés de différentes manières pour bénéficier de leurs nombreux avantages.

Matériel

Et

Méthodes

Matériel et Méthodes

Nos recherches ont été menées dans des laboratoires pédagogiques en particulier ceux des pôles de Génétique et de Microbiologie de la Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen. L'extraction des huiles essentielles et l'obtention des hydrolats ont été réalisées au laboratoire de recherche (LAPRONA), sous la direction du Pr. Bekhechi.

L'objectif de ce travail expérimental est de déterminer les effets antimicrobiens et anti biofilm des hydrolats d'huiles essentielles et leur efficacité dans le processus de nettoyage des surfaces hospitalières.

I. Obtention des huiles essentielles et des hydrolats

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est représenté par deux plantes de la flore Algérienne, eucalyptus et lavande.

2. Récolte et séchage :

A. Eucalyptus :

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont été récoltées en deux périodes différentes (Janvier et Février 2024) à partir de deux régions différentes : Maghnia et lycée polyvalent à Tlemcen (Figure 7).

B. Lavande :

Les parties aériennes (feuilles et sommités fleuries) de Lavande ont été récoltés en Février 2024 dans la région de Ghazaouet (Figure 7).



Figure 7 : Plantes utilisées pour la production d'hydrolat

Matériel et Méthodes

Dans un endroit sec et aéré, les feuilles d'eucalyptus et parties aériennes de lavande ont été séchées à température ambiante, les protégeant ainsi du soleil, durant une semaine, ensuite elles sont stockées dans des sacs en papier. Après l'opération de séchage, la matière sèche a été réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique pour faciliter l'extraction des huiles essentielles et les hydrolats.

3. Extraction des huiles essentielles :

3.1. Matériel d'extraction :

Le matériel d'extraction est composé d'un appareil d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, un bain marie de l'eau distillée, du papier aluminium et de la prise d'essai (200 grammes de la plante sèche).

L'extraction a été effectuée à l'aide d'un montage d'hydrodistillation de type Clevenger (figure 8).



Figure 8 : Photo représentant l'appareil d'hydrodistillation de type Clevenger, utilisé dans ce travail

3.2. Procédé d'extraction des huiles essentielles et l'obtention des hydrolats :

La technique d'hydro-distillation, a été utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Nous avons soigneusement immergés 200 grammes de feuilles séchées dans un ballon rempli d'eau. Ensuite, l'ensemble du mélange est chauffé jusqu'à atteindre son point d'ébullition.

La chaleur libère des molécules émettrices d'odeurs contenues dans les cellules des plantes et il se forme un mélange d'eau et d'huiles essentielles, qui est refroidi et concentré dans une ampoule à décanter. En raison des différentes densités d'eau et de molécules aromatiques, le mélange est séparé en phases aqueuse (hydrolat) et organique (huiles essentielles).

Matériel et Méthodes

Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans un tube en verre et les hydrolats dans un flacon en verre ombré au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leurs utilisations. La figure 9 résume les étapes de ce procédé d'extraction.

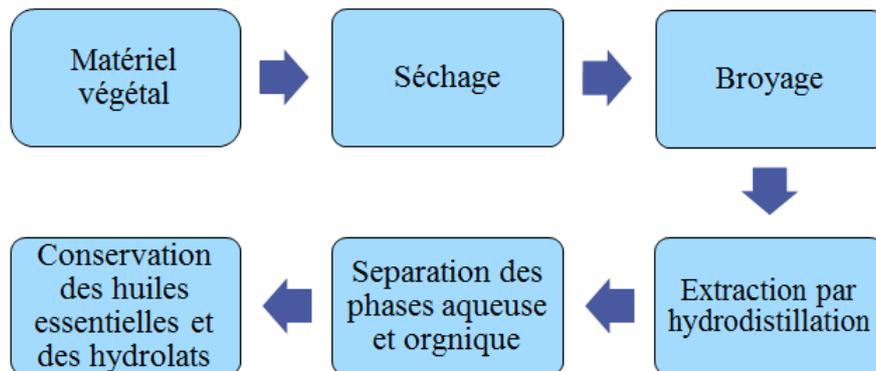


Figure 9 : Les différentes étapes du procédé d'hydrodistillation et obtention des hydrolats

3.3. Les hydrolats à usage médical

En plus des hydrolats obtenus par extraction au laboratoire, l'étude porte également sur la détermination de l'activité antimicrobienne d'hydrolats de lavande et de thym, obtenus par Dr. Saidi (médecin généraliste). Ces hydrolats conditionnés en des flacons de 100 ml (Figure 10) et conservés à température ambiante pendant plus d'une année, ont fait l'objet de divers usages thérapeutiques. Ils nous ont été gracieusement fournis par Dr. Saidi.



Figure 10 : Hydrolats à usage médical fournis par Dr. Saidi

II. Analyse microbiologique et isolement des souches bactériennes

L'analyse microbiologique de l'environnement du laboratoire de génétique a pour but la détermination de leurs flores de contamination et l'isolement des souches bactériennes destinées à l'étude de l'activité antimicrobienne et antibiofilm des hydrolats. Elle porte sur la recherche de la flore aérobie mésophile totale ou germes totaux (GT), des levures et des moisissures. L'échantillonnage est effectué à partir de l'air ambiant et de la surface de pailles. Dans ce dernier cas, les entérobactéries et les staphylocoques sont également recherchés.

Les mêmes flores microbiennes sont recherchées dans les deux échantillons d'hydrolats médicaux en guise de contrôle de leur qualité microbiologique après plus d'une année de conservation à température ambiante. Le tableau 3 présente les différents germes recherchés par l'analyse microbiologique.

Tableau 3 : Analyse microbiologique de l'air ambiant, des pailles et des hydrolats médicaux

	Germes totaux	Entérobactéries	Staphylocoques	Levures et moisissures
Air ambiant	x			x
Surface des pailles	x	x	x	x
Hydrolats médicaux	x	x	x	x
Milieux de cultures	PCA	MacConkey	Chapman	PDA
Température d'incubation	30°C	37°C	37°C	25°C

1. Prélèvement à partir de l'air ambiant :

Des boîtes de pétri avec milieux PCA (Plate Count Agar) et PDA (Potato dextrose agar) sont placées à différents endroits de ces laboratoires de pédagogie pendant 30 minutes d'exposition à l'air ambiant puis incubées à 30°C pendant une durée allant de 24 à 72 heures et à 25°C pendant 5 jours. La figure 11 montre un site de prélèvement à partir de l'air ambiant.

2. Prélèvement à partir des surfaces des pailles :

Une solution de 5 ml de sérum physiologique peptoné (TSE) a été préparée pour chaque tube à essai avec un agent neutralisant : le Tween 80 à une concentration de 0,3 %. Comme le montre la figure 11, la surface à prélever est essuyée par un écouvillon imbibé de TSE. Les sites d'écouvillonnage comprennent des surfaces récemment nettoyées (E) et des surfaces non nettoyées (SM).

En mouillant l'écouvillon avec la solution préparée, gratter aseptiquement une zone définie à l'aide d'un guide stérile de 4 cm² pour garantir que le prélèvement sera effectué sur une zone équivalente d'un point de prélèvement à un autre. Placer l'écouvillon dans un tube contenant du TSE, casser la tige de l'écouvillon, puis agiter au vortex pour détacher les germes enfin retiré la tige.



Figure 11 : Prélèvement à partir de l'air ambiant et de la surface des pailles

3. Ensemencement :

3.1. Ensemencement par étalement au râteau :

Dans les boîtes qui contiennent les milieux PDA, PCA, Chapman et MacConkey en dispose 0,1 ml de SM à la surface du chaque milieu et constituer un râteau à l'aide d'une pipette pasteur. Étaler la goutte de suspension par ce râteau. Les boîtes de PCAensemencées sont incubées à 30°C pendant 24h à 72 h et de PDA à 25° pendant 3 à 5 jours et pour Chapman et MacConkey à 37°C pendant 24 h à 48 h.

3.2. Ensemencement par écouvillonnage :

Imprégner un écouvillon stérile dans un tube contenu 1ml de TSE. Essorer l'écouvillon la paroi du tube et en réalisant des stries serrées dans la boîte de pétri contenant le milieu PCA

Matériel et Méthodes

par 3 passages en faisant pivoter la boîte de pétri 60°. Puis incuber à 30°C pendant 24 h à 72 h.

4. Contrôle microbiologique des hydrolats médicaux

Utiliser une pipette pasteur pour prélever 0,1 ml d'hydrolat, puis le transférer dans la boîte contenant le milieu PDA. Répéter cette opération pour chaque prélèvement d'hydrolat de lavande et de thymus, en déposant à chaque fois 0,1 ml sur la boîte contenant le milieu Chapman. Procéder de même pour le milieu Maconkey et le milieu PCA, en prélevant 0,1 ml d'hydrolat de lavande à chaque fois et en l'appliquant sur les milieux respectifs.

5. Identification des isolats

Les isolats bactériens obtenus sur les différents milieux de cultures utilisés sont d'abord identifiés par l'observation de leurs caractéristiques culturales sur ces milieux puis par l'examen de leur morphologie au microscope après coloration de Gram, et enfin par la recherche des enzymes respiratoires : le test de catalase et le test d'oxydase.

5.1.Examen macroscopique

Au départ, l'examen au niveau macroscopique des cultures constitue le test primaire réalisé après l'isolement et après 48 à 72 heures d'incubation. Une observation directe à l'œil nu des boîtes de pétri où l'on observe l'apparence morphologique des colonies issues du milieu de culture, déterminée par la taille, la forme, la couleur, le nombre de colonies et le type de colonies.

5.2.Examen microscopique

5.2.1. Coloration de Gram :

Les différentes colonies choisies des boîtes de pétri retenues font l'objet de la coloration de Gram. Celle-ci est réalisée selon les étapes suivantes :

- La préparation d'un frottis : à l'aide d'une anse de platine stérile, prélever un fragment de colonies à partir d'une culture bactérienne et l'étaler sur une lame de verre.
- Fixation : séchage du frottis à l'air ou en le chauffant légèrement.
- Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.
- Jeter le colorant et finir de le chasser par la solution de Lugol ; laisser agir le Lugol environ 1 min.
- Jeter le Lugol et faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau.

Matériel et Méthodes

- Recouvrir la préparation de Safranine, laisser agir environ 1 min. Laver abondamment.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet et celles à Gram négatif, en rose.

5.2.2. Coloration au bleu de coton :

Pour effectuer des observations microscopiques des moisissures, il convient d'abord de préparer un montage entre lame et lamelle en appliquant d'abord un liquide de montage appelé « bleu coton ». Le prélèvement du matériel fongique peut se faire de diverses manières :

- a. Utiliser une pince stérile pour récolter un fragment de mycélium.
- b. Prélever un petit carré de gélose contenant le mycélium.
- c. Utiliser un morceau de ruban adhésif (Scotch) pour récupérer le mycélium.

Cette méthode consiste à :

- Utiliser un morceau de scotch transparent pour prélever le mycélium directement dans la boîte de Pétri.
- Appliquer ce morceau de scotch sur une lame de microscope.
- Les différents montages réalisés entre la lame et la lamelle sont ensuite observés au microscope optique avec un grossissement de $\times 40$.

III. Évaluation de l'activité antimicrobienne des hydrolats :

Il n'a pas été possible d'identifier les souches isolées à partir des pailles et de l'air ambiant, par manque de moyens. Pour cette raison, les souches d'anciennes collections ont été utilisées. Ces souches sont identifiées aux genres et espèces suivant :

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Enterococcus faecalis* ATCC 48452, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, R15 : R15 entero ApI, R14 : R14 entero ApI, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC2783, *Klebsiella pneumoniae* IBLC starsbo .

L'activité antimicrobienne des hydrolats a été comparée à celle des huiles essentielles ainsi qu'à celle de produits chimiques utilisées pour la désinfection.

1. Repiquage des souches de la collection :

Prélever à partir des souches conservées sur des géloses nutritives inclinées, en utilisant une anse de platine stérile dans un environnement rendu stérile. Inoculer une boîte de pétri contenant le milieu de culture adéquat, en l'étalant en stries. Incuber à 37°C pendant 24

Matériel et Méthodes

heures. La pureté des souches est vérifiée par examen microscopique après coloration de Gram.

2. Préparation des précultures :

Les précultures sont préparées dans 3 ml de bouillon BHI (cœur-cerveau) contenu dans des tubes à hémolyse stériles. Après incubation 24 h à 37°C, la densité optique de la culture est déterminée à 580 nm en employant un colorimètre. Si nécessaire la DO de la culture est ajusté entre 0.6 et 0.8.

3. Préparation des dilutions des huiles essentielles :

Les huiles essentielles, utilisées en tant que molécules de références auxquelles sont comparées les activités antimicrobiennes des hydrolats, doivent être diluées. Pour cela une solution de Tween 80 à 10 %, diluée dans de l'eau distillée, est préparée et stérilisée. Par la suite, 100 µl de cette solution sont combinés avec 100 µl d'huile essentielle, puis le mélange est homogénéisé pour obtenir la solution mère d'huile essentielle émulsifiée. A partir de cette solution mère des dilutions sont préparées dans le Tween 80 à 10%, selon une progression géométrique. À chaque transfert de 100 µl de la solution récemment diluée dans un tube frais avec 100 µl de tween 80 suivi d'un bon mélange, une nouvelle dilution est réalisée (Figure 12).

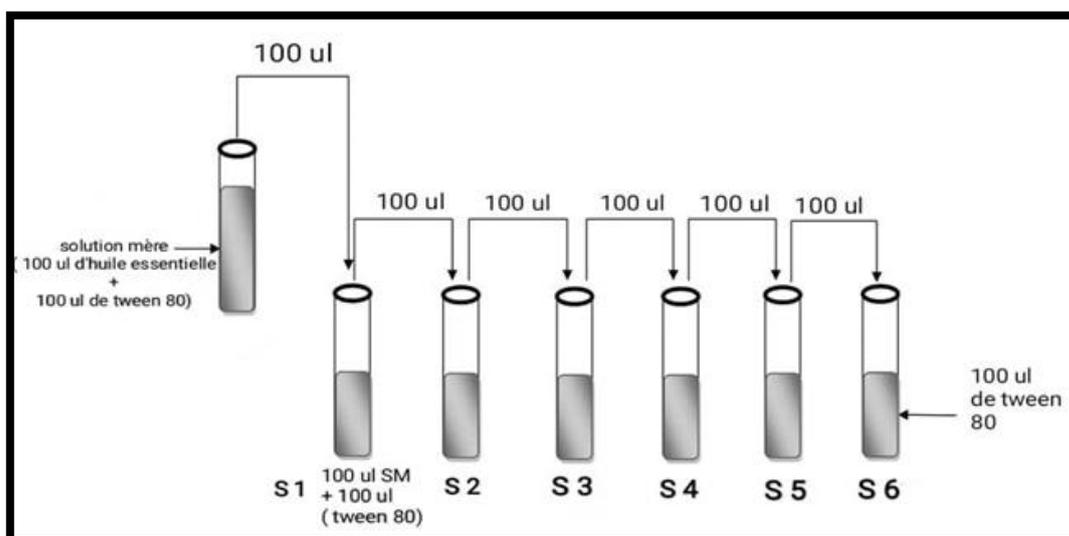


Figure 12 : Représentation schématique de la préparation des dilutions des huiles essentielles

4. Aromatogramme des huiles essentielles et des hydrolats :

La méthode de détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des hydrolats repose sur la diffusion sur disques en milieu gélosé. Cette approche suit le protocole décrit par **Gulluce et al. (2007)**, avec quelques modifications.

Inoculation du milieu Muller-Hinton : Dans des boîtes de Pétri, on verse de manière aseptique 15 ml de milieu de culture gélosé Muller Hinton en surfusion par boîte. Une fois solidifié, un écouvillon stérile, imprégné de suspension bactérienne fraîchement préparée, est appliqué à la surface de la gélose à trois reprises. Entre chaque application, la boîte est tournée à environ 60°, en veillant à faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement se termine en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose pour assurer une répartition uniforme de l'inoculum. Les boîtes sont ensuite laissées à sécher sous une hotte pendant 15 à 20 minutes.

5. Dépôt des disques imprégnés de substances antimicrobiennes

Six disques de papier filtre ou Whatman de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés, sont respectivement imprégnés de 10 µl d'huile essentielle de lavande, romarin, eucalyptus et des différents hydrolats. Les disques sont placés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile. Après avoir scellé toutes les boîtes de pétri avec du para film pour prévenir toute évaporation potentielle des huiles essentielles, elles sont maintenues à 4 °C pendant 2 heures. Ensuite, une incubation à 37 °C pendant 24 heures est effectuée pour les bactéries. La lecture post-incubation est réalisée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition, indiquant la présence ou l'absence de zone claire autour des disques.

6. Aromatogramme des hydrolats mélangés aux désinfectants chimiques

L'activité antimicrobienne des hydrolats en combinaison avec des désinfectants chimiques est déterminée par la méthode de l'aromatogramme. Pour cela, le produit chimique est dilué au 1/10 dans l'hydrolat non dilué, à raison de 0.5 ml dans 4,5 ml d'hydrolats d'eucalyptus, de romarin, ou de lavande. Les produits chimiques utilisés sont : un désinfectant industriel et l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 1 %

Après inoculation des micro-organismes dans les milieux de culture par la technique d'écouvillonnage, chaque disque de papier Whatman est trempé dans les mélanges d'hydrolats et de désinfectant. Les disques trempés sont disposés à la surface des milieux de culture déjà inoculés à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes sont exposées à 4°C pour une durée de 2

heures pour permettre la diffusion des molécules actives, puis incubées à 37°C pendant une période de 24 heures.

IV. Détermination de l'activité anti biofilm des hydrolats

Les hydrolats les plus actifs ont été utilisés pour la désinfection d'une surface contaminée par le biofilm. Pour cela des biofilms expérimentaux ont été préparés *in-vitro* et soumis à l'action des hydrolats. L'effet antibiofilm des hydrolats est déterminé par deux techniques :

- Dénombrement des bactéries survivantes au traitement et calcul de la réduction logarithmique exercée par l'hydrolat.
- Coloration des biofilms traités au cristal violet et observation au microscope en comparaison avec des biofilms témoins obtenus dans les mêmes conditions.

1. Obtention des biofilms *in -vitro* :

1.1.Préparation des cultures bactériennes

Pour la portion A, une suspension bactérienne dans de l'eau physiologique est obtenue après centrifugation à 2000g pendant 20 min, et la densité optique est ajustée à 0,6-0,8. Pour la portion B, une culture bactérienne jeune sur TSB est utilisée.

1.2.Préparation des lames en verre

Des lames sont divisées en deux parties égales, chacune étant marquée au centre par un carré de 2 cm de côté, puis stérilisées.

1.3.Adhésion et formation de biofilms sur les lames en verre

L'inoculation des lames pour favoriser l'adhésion et la formation de biofilm est réalisée selon la méthode décrite par **Maris (1992)** in **Malek (2016)**.

- Les lames sont placées dans des boîtes de Pétri stériles.
- À l'aide d'une micropipette, 100µl de la suspension et de la culture bactérienne sont prélevés et déposés au centre du carré tracé sur la lame. Ensuite, les lames sont incubées dans une étuve à humidité saturée pendant 2 heures pour permettre aux cellules de s'attacher à la surface de la lame en verre.

Matériel et Méthodes

- Après l'incubation, les lames sont rincées trois fois à l'eau distillée stérile pour éliminer les cellules faiblement attachées. Ensuite, 100 µl de milieu TSB sont ajoutés à l'aide de la micropipette, et les lames sont incubées à 37 °C pendant 24 heures dans une atmosphère saturée en humidité.

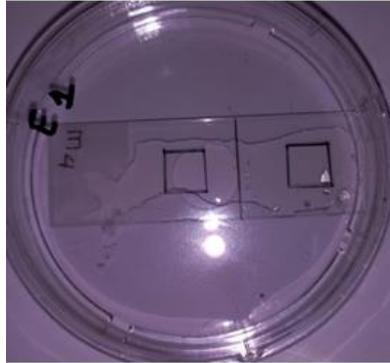


Figure 13 : Photo représentant l'adhésion et formation de biofilms sur les lames en verre

2. Traitement des biofilms avec les formulations à base d'hydrolats :

- Après 24 heures d'incubation, rincer une partie des lames à l'eau distillée (ces lames serviront de témoin non traité).
- Sur les autres lames, déposer quelques gouttes du mélange de lavande avec le désinfectant industriel sur les zones de formation des biofilms et laisser agir pendant 20 minutes.

3. Dénombrement des bactéries sessiles :

Le dénombrement des bactéries du biofilm est réalisé selon le protocole suivant :

- Prélever le biofilm traité et non traité (témoin) en frottant chaque carré avec un écouvillon stérile.
- Immerger les écouvillons dans 9 ml d'eau physiologique ou de TSB et effectuer une agitation au vortex.
- Préparer des dilutions décimales à partir de ces solutions.
- Inoculer les milieux TSA avec les dilutions décimales du témoin et du biofilm traité en prélevant 0,1 ml et en l'étalant uniformément sur la surface du milieu.
- Incuber les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 heures.

Matériel et Méthodes

- Après incubation, dénombrer les colonies bactériennes sur les boîtes et calculer les UFC/ml pour le témoin et le biofilm traité.
- Calculer le pourcentage de réduction des UFC par rapport au témoin non traité pour déterminer l'activité antibiofilm de l'hydrolat.

4. Caractérisation microscopique de l'effet antibiofilm

La caractérisation microscopique des biofilms traités et des biofilms témoins est réalisé selon le protocole décrit par **Malek (2023)**.

- Après le traitement avec l'hydrolat, rincer les lames à l'eau distillée et les laisser sécher.
- Recouvrir les zones de biofilm avec une solution de cristal violet à 0,5% et laisser agir pendant 20 minutes.
- Rincer les lames à l'eau distillée et les laisser sécher à l'air.
- Colorer les biofilms non traités (témoins) et les biofilms traités.
- Ajouter une goutte d'huile à immersion et observer les lames au microscope.

Résultats

Et

Discussion

I. Résultats de l'analyse microbiologique de l'environnement des laboratoires

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'environnement du laboratoire pédagogique sont présentés dans les tableaux 4 -5 et 6.

1. La flore de contamination des surfaces

Les tableaux 4 et 5 montrent les bactéries et les champignons isolés à partir des surfaces sales et même à partir des surfaces récemment nettoyées, indiquant la présence de contamination microbienne malgré le nettoyage récent des surfaces.

Dans le cas des surfaces non nettoyées, les colonies bactériennes observées sur milieu PCA, un milieu riche permettant la croissance d'une grande variété de bactéries, présentent un diamètre compris entre 1 et 3 mm, suggérant une croissance lente et récente. Par contre les colonies isolées à partir des surfaces nettoyées ont un aspect irrégulier à caractère envahissant, suggérant une certaine diversité dans la flore de contamination des paillasses.

De même, l'aspect visuel des colonies ayant poussé sur milieu PDA, un milieu favorisant le développement des levures et des moisissures, diffère selon le nettoyage ou non des surfaces. Des colonies de levures, pigmentées et non pigmentées sont isolées à partir des surfaces sales, alors que les surfaces nettoyées sont contaminées par des champignons filamenteux dominés par un type de colonies caractéristiques. Ces résultats suggèrent une contamination résiduelle importante par divers types de micro-organismes malgré les procédures de nettoyage.

Ces résultats montrent une contamination microbienne des surfaces sales ou nettoyées, principalement par des bactéries et des champignons cultivables sur PCA et PDA. Ceci est cohérent avec de nombreuses études qui ont rapporté la présence d'une flore microbienne variée sur les surfaces si les mesures d'hygiène sont insuffisantes (**Dancer 2014, Russotto et al., 2015**). Certains travaux ont mis en évidence une contamination persistante sur les surfaces hospitalières malgré le nettoyage, avec un risque accru d'infections nosocomiales (**Dancer, 2014**). Les taux de contamination résiduelle varient selon les produits et méthodes de nettoyage utilisés, allant jusqu'à 32% des surfaces échantillonnées pour certains protocoles inadéquats (**Dharan et al., 1999**). Ces études soulignent l'importance cruciale d'appliquer des procédures de désinfection rigoureuses et validées, en utilisant des produits efficaces, pour assurer une hygiène optimale des surfaces et prévenir les risques sanitaires associés aux contaminations microbiennes résiduelle.

Résultats et Discussion

Tableau 4 : Flore de contamination des paillasses non nettoyées

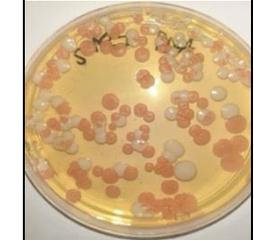
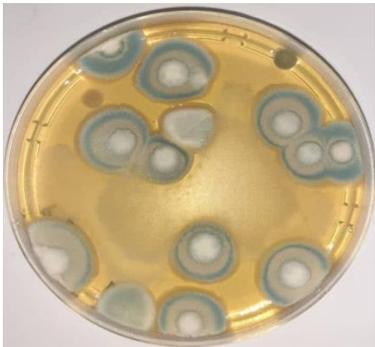
	PCA	MacConkey	Chapman	PDA
Nombre de colonies	28	00	00	> 100
Aspect des colonies sur milieu gélosé				

Tableau 5 : Flore de contamination des paillasses nettoyées

	PCA	PDA
Nombre de colonies	4	14
Aspect des colonies sur milieu gélosé		

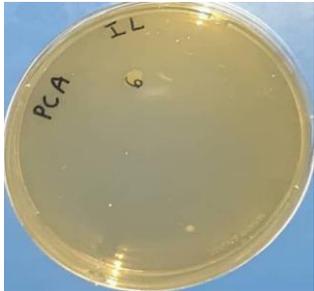
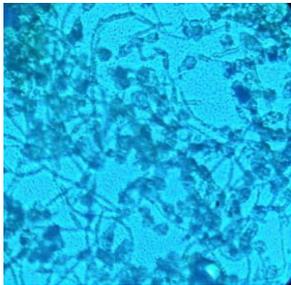
2. La flore de contamination de l'air ambiant

Le tableau 6 montre la flore bactérienne et fongique isolées sur milieux PCA et PDA respectivement, à partir de l'air ambiant. Ce niveau de contamination, bien que faible, n'est pas surprenant car de nombreuses études ont rapporté la présence d'une flore microbienne en suspension dans l'air intérieur, même à faible concentration. **Bauer et al. (2008)** ont montré que l'air des environnements intérieurs contient toujours une certaine quantité de microorganismes, issus de diverses sources comme la peau, les vêtements ou les activités humaines. Bien que cette charge microbienne soit généralement modérée, elle peut varier

Résultats et Discussion

selon les conditions environnementales et les mesures d'hygiène mises en place. Ainsi, les données obtenues sur la flore aéroportée dans cet environnement s'inscrivent dans la continuité des connaissances existantes sur la présence ubiquitaire de microorganismes dans l'air ambiant, même en l'absence de sources de contamination majeures. Cela souligne l'importance de maintenir de bonnes pratiques d'hygiène et de ventilation pour limiter les risques liés à cette flore microbienne.

Tableau 6 : Flore de contamination de l'air ambiant

	PCA	PDA	
Le nombre des colonies	5	10	Morphologie cellulaire
Aspect des colonies sur milieu gélosé			

II. Résultats de l'aromatogramme des hydrolats et des huiles essentielles

Le tableau 7 montre que les huiles essentielles de romarin, d'eucalyptus et de lavande possèdent une activité antibactérienne intéressante sur plusieurs souches d'intérêt clinique. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus varient de 15 à plus de 34 mm. L'huile essentielle de romarin se démarque par son activité inhibitrice élevée à l'égard de 4 parmi les 6 souches testées, suivie par celle de la lavande. L'huile essentielle d'eucalyptus vient en dernière position, son effet inhibiteur s'étant manifesté contre une seule souche de *Citrobacter*. Ces résultats concordent avec de nombreuses études antérieures qui ont rapporté les propriétés antimicrobiennes de huiles essentielles de Citron et d'eucalyptus sur des souches pathogènes telles que *S. carnosus* et *Enterobacter* (Viuda-Martos et al., 2008). De même, Tohidpour et al. (2010) ont observé une bonne activité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contre *S. aureus* résistant à la méthicilline .

En revanche, comme le montre le tableau 7 , les hydrolats n'ont exercé aucune activité inhibitrice de la croissance des souches bactériennes testées, mis à part une seule souche d'*Enterobacter (R14)* qui s'est montrée sensible aux hydrolats du romarin (30 mm) et celui

Résultats et Discussion

de la lavande (32 mm). Il est intéressant de noter que les souches *S. aureus* (Sa.60) et *M. luteus* (ML1), n'ayant montrant aucune inhibition de leur croissance, semblent résistantes à tous les hydrolats et huiles essentielles testés.

Certains travaux attribuent une activité antimicrobienne aux hydrolats alors que d'autres non. A titre d'exemple l'activité antimicrobienne de l'hydrolat de lavande à l'égard de divers pathogènes bactériens et fongiques est reconnue dans de nombreux travaux (Di Vito et al., 2021; Marino et al., 2020). Toutefois, Moon et al. (2006), ont trouvé que l'hydrolat de lavande d'origine australienne n'exerçait aucune activité antimicrobienne alors que l'huile essentielle correspondante s'était révélée efficace dans l'inhibition de nombreux pathogènes.

Tableau 7 : Activité antibactérienne des hydrolats et des huiles essentielles

Produits naturels	Huiles Essentielles (HE) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)			Hydrolats (H) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)		
	Romarin (HER)	Eucalyptus (HEC)	Lavande (HEV)	Romarin (HR)	Eucalyptus (HC)	Lavande (HV)
Plantes Bactéries						
<i>Enterobacter</i> (R15)	> 34	06	15	06	06	06
<i>Enterobacter</i> (R14)	30	06	16	30	06	32
<i>S. aureus</i> (Sa.60)	06	06	06	06	06	06
<i>Citrobacter</i> (C1)	26	32	32	06	06	06
<i>Micrococcus luteus</i> (Mlt1)	06	06	06	06	06	06
<i>Enterococcus faecalis</i> (E1)	32	06	30	06	06	06

Les hydrolats d'autres espèces végétales, notamment *Coridothymus capitatus* se sont également révélés efficaces contre de nombreux champignons et bactéries d'intérêt médical tels que le genre *Candida* et des souches de *S. aureus* résistants à la méticilline (Di Vito et al., 2021 ; Marino et al., 2020). De même, de nombreux hydrolats extraits de diverses espèces végétales ont inhibé efficacement la croissance de nombreuses espèces appartenant au genre *Arcobacter* (Silha et al., 2020). Décrite pour la première fois en 1991 *Arcobacter* est une

bactérie, reconnue comme un pathogène humain et animal, provoquant chez l'Homme des gastro-entérites et plus rarement des bactériémies (**Cartier et al., 2020**).

Par ailleurs, divers hydrolats végétaux se sont révélés efficaces comme désinfectants alimentaires naturels pour réduire *Escherichia coli* O157 :H7 et *Salmonella Typhimurium* sur les carottes et les pommes fraîchement coupées (**Tornuk et al., 2011**).

L'activité antimicrobienne des hydrolats est généralement attribuée à la présence de composés aromatiques tels que les alcools, les esters et les phénols. Ces composés peuvent perturber la membrane cellulaire des bactéries, ce qui entraîne leur mort (**Burt, 2004**).

1. Résultats de l'aromatogramme des formulations désinfectantes à base d'hydrolats

1.1. Combinaison avec un désinfectant industriel

D'après le tableau 8 le désinfectant industriel testé seul exerce une forte activité inhibitrice sur toutes les souches testées. Les diamètres d'inhibition varient de 32 à 60 mm. Cependant, lorsqu'il est dilué dans les hydrolats (1%) son activité diminue considérablement. Les diamètres d'inhibition diminuent de plus de la moitié, à titre d'exemple 50 vs 16 mm dans le cas de la combinaison avec l'hydrolat de lavande. L'effet s'annule complètement dans le cas de certaines souches. La perte d'activité antimicrobienne des combinaisons peut s'expliquer par l'effet de la dilution dans certains cas et par une interférence négative avec les molécules des hydrolats ou effet antagoniste dans les autres cas.

Comparé avec d'autres travaux, des effets antimicrobiens sont décrits pour des combinaisons d'huiles essentielles avec des produits chimiques variés, tels que NaOH (**Valeriano et al., 2012**), les acides organiques : acides acétique, citrique et lactique (**Chai et al., 2016**) ou les antibiotiques et antifongiques, tétracycline et itraconazole (**Morino et al., 2020**). De même, la combinaison des huiles essentielles avec des désinfectants à base d'acide peracétique a montré un effet antagoniste contre les bactéries pathogènes alimentaires comme *Listeria monocytogenes* (**Gutierrez et al., 2008**).

Résultats et Discussion

Tableau 8 : Activité antimicrobienne des hydrolats mélangé à un désinfectant industriel

Produits naturels	Combinaison des hydrolats avec le désinfectant industriel (DI) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)			Désinfectant industriel
Plantes	Lavande (HV - DI)	Romarin (HR - DI)	Eucalyptus (HC - DI)	(DI)
Bactéries				
<i>Enterobacter</i> (R14)	14	06	20	45
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (kp2)	06	06	06	39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (pa1)	06	06	06	35
<i>Enterococcus faecalis</i> (E1)	16	06	06	50
<i>Citrobacter</i> (C1)	06	30	34	52
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa 60)	25	24	20	32
<i>Micrococcus luteus</i> (Mlt1)	20	32	40	60

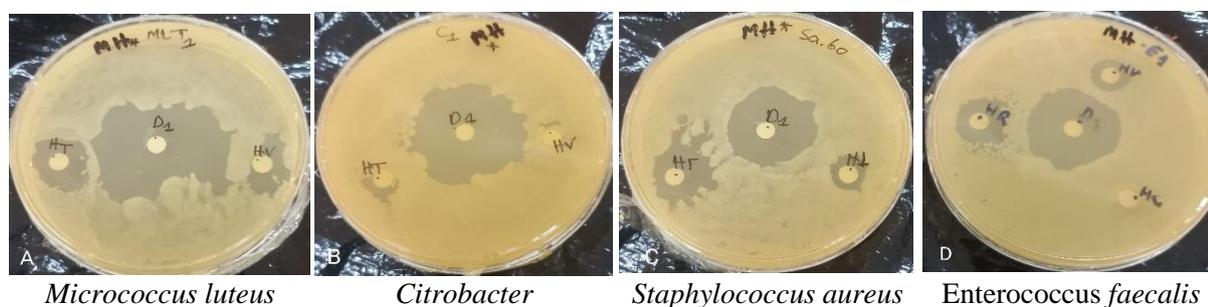


Figure 14 : L'effet antibactérien dû au désinfectant industriel testé seul

1.2. Combinaison avec l'hypochlorite de sodium

Selon le tableau 9, l'hypochlorite de sodium testé seul présente une forte activité inhibitrice contre toutes les souches testées. Les diamètres d'inhibition varient de 32 à 38 mm et sont nettement inférieurs à ceux obtenus avec le désinfectant industriel. Par contre, les diamètres d'inhibition obtenus avec les hydrolats sont variables en fonction des hydrolats et des souches testées. Ils sont légèrement inférieurs dans le cas de l'inhibition de la souche *Enterobacter 14* par la formulation à base de romarin (34 vs 28 mm), conduisant ainsi à un effet neutre. Ils sont nettement inférieurs dans le cas de la souche *Staphylococcus aureus* (32 vs 10 mm) et ils

Résultats et Discussion

s'annulent dans le cas des souches *Citrobacter* et *Micrococcus luteus*. Ces résultats indiquent que la combinaison avec les hydrolats a réduit considérablement l'activité antimicrobienne de l'hypochlorite de sodium engendrant un effet antagoniste évident.

Tableau 9 : Activité antimicrobienne des hydrolats mélangé à l'hypochlorite de sodium

Produits naturels Bactéries	Hydrolats (H) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)			Eau de javel (hypochlorite de sodium) (HS)
	Plantes Lavande (HV - HS)	Eucalyptus (HC- HS)	Romarin (HR - HS)	
<i>Enterobacter 14</i>	25	23	28	34
<i>Staphylococcus aureus (Sa60)</i>	18	10	24	32
<i>Citrobacter (C1)</i>	06	25	26	38
<i>Micrococcus luteus (Mlt1)</i>	25	06	06	36



Figure 15 : L'effet antibactérien dû à l'hypochlorite de sodium testé seul

Le mécanisme général de la toxicité de l'hypochlorite de sodium à l'égard des bactéries est dû à l'augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne aux agents antimicrobiens (**Barrette et al., 1989**). De plus, l'hypochlorite de sodium pourrait dégrader les parois cellulaires bactériennes, les rendant ainsi plus sensibles aux agents antimicrobiens (**Virto et al., 2005**). La combinaison de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* avec l'hypochlorite de sodium à 15% pour le traitement des infections des voies respiratoires a amélioré l'efficacité désinfectante de la formulation ainsi obtenue sans engendrer des lésions pulmonaires chez les rats testés. D'après **Bolatli et al. (2023)**, les huiles essentielles pourraient avoir un effet antioxydant qui protégerait l'hypochlorite de sodium de la dégradation par les enzymes

Résultats et Discussion

bactériennes. Par conséquent, la combinaison des produits naturels avec l'hypochlorite de sodium pourrait être une stratégie efficace pour améliorer l'activité antibactérienne des désinfectants chimiques. Cela pourrait avoir des applications dans le domaine de la désinfection des surfaces, de la conservation des aliments et du cosmétique.

III. Effet de la conservation sur l'activité antimicrobienne des hydrolats

I. Résultats de l'aromatogramme des hydrolats et des huiles essentielles conservés à 4°C

Le tableau 10 présente les résultats de l'activité antimicrobienne des hydrolats et des huiles essentielles conservés à 4°C contre deux souches bactériennes, *Enterobacter* 14 et *Enterococcus faecalis* (E1)

Tableau 10 : Activité antimicrobienne des hydrolats et des huiles essentielles conservés à 4°C

Produits naturels Bactéries	Hydrolats (H) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)			Huiles Essentielles (HE) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)		
	Romarin (HR)	Lavande (HV)	Eucalyptus (HC)	Romarin (HER)	Eucalyptus (HEC)	Lavande (HEV)
<i>Enterobacter</i> (14)	06	06	06	20	13	20
<i>Enterococcus faecalis</i> (E1)	06	06	06	22	06	19

Les hydrolats n'ont montré aucune activité antimicrobienne contre les deux souches bactériennes testées. Cela signifie que les hydrolats conservés à 4 °C pendant deux mois ont perdu la capacité d'inhiber la croissance des bactéries. Cette perte d'activité des hydrolats après un certain temps de stockage peut s'expliquer par la dégradation ou l'évaporation des composés antimicrobiens volatils qu'ils contiennent. Des analyses complémentaires de la composition chimique des hydrolats au fil du temps pourraient aider à comprendre les mécanismes de dégradation et de perte d'activité.

En effet, plusieurs études ont montré que la composition chimique et les propriétés biologiques des hydrolats peuvent évoluer avec le temps et selon les conditions de conservation. **Zheljzakov et astatie (2011)** ont constaté que la composition chimique de l'hydrolat de lavande changeait de manière significative après 6 mois de stockage, avec une

Résultats et Discussion

diminution des composés terpéniques. Ils ont également observé une diminution des propriétés antioxydantes de l'hydrolat avec le temps de stockage. En effet, comme souligné par ces auteurs, plusieurs facteurs peuvent influencer la stabilité des hydrolats, comme la température, l'exposition à la lumière, le type de conditionnement, la présence d'antioxydants.

En revanche, les huiles essentielles ont montré une activité antimicrobienne contre les deux souches bactériennes testées. Les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 13 mm et 22 mm. Ce qui indique que les huiles essentielles ont été capables d'inhiber la croissance des bactéries même après une période de conservation. L'huile essentielle de lavande s'est révélée la plus efficace contre *Enterobacter* 14, avec un diamètre d'inhibition de 20 mm. Quant à l'huile essentielle *Romarin*, elle a montré la meilleure efficacité contre *Enterococcus faecalis* (E1) avec un diamètre d'inhibition de 22 mm.

Les huiles essentielles se sont avérées plus efficaces que les hydrolats contre les deux souches bactériennes testées. Cela s'explique probablement par le fait que les huiles essentielles contiennent une concentration plus élevée de composés antimicrobiens que les hydrolats et que leurs principaux composés antimicrobiens (terpènes, phénols, etc.) sont moins volatils et plus résistants à la dégradation (Burt, 2004).

II. Résultats de l'arommatogramme des hydrolats médicaux conservés à la température ambiante

Le tableau 11 montre que les hydrolats à usage médical fournis par Dr. Saidi et conservés à température ambiante pendant plus d'un an n'ont aucune activité antimicrobienne contre toutes les souches bactériennes testées. Toutefois, ces hydrolats, utilisés en spray se sont révélés efficaces contre la transmission de l'infection COVID 19 (Dr. Saidi, communication personnelle). Cet effet protecteur des hydrolats serait probablement dû à leur activité antivirale. En effet, les plantes médicinales, sont connues pour leur efficacité dans le traitement des rhumes et des états grippaux, en décoction ou en infusion.

Par ailleurs, l'absence d'activité antimicrobienne de ces hydrolats, après une année de stockage, peut s'expliquer soit par le fait que les hydrolats soient à l'origine, dépourvus d'activité antimicrobienne, soit que cette dernière ait été perdue durant le stockage.

Résultats et Discussion

Tableau 11 : Activité antimicrobienne des hydrolats médicaux conservés à température ambiante

Produits naturels Bactéries	Hydrolats (H) (Diamètres des zones d'inhibition en mm)		Eau distillée
	Plantes Lavande (HV)	Thymus (HT)	(ED)
<i>Enterococcus faecalis</i> (E1)	06	06	06
<i>Citrobacter</i> (C1)	06	06	06
<i>Staphylococcus aureus</i> (Sa60)	06	06	06
<i>Micrococcus luteus</i> (MLT 1)	06	06	06

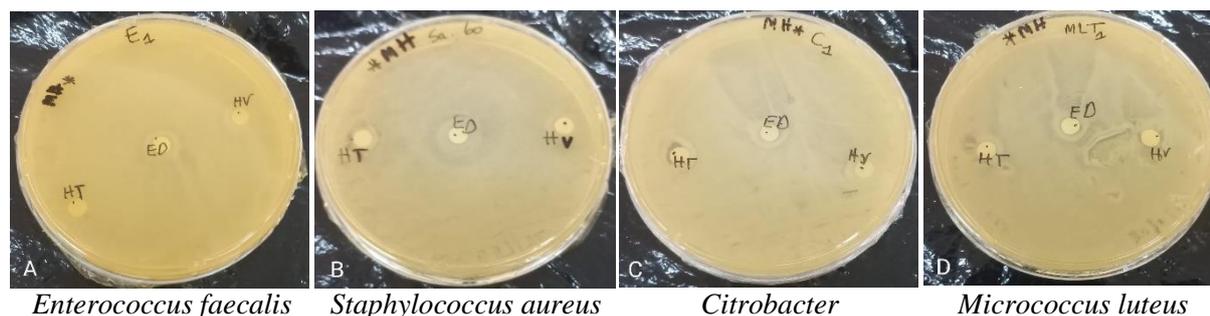


Figure 16 : L'effet antibactérien des hydrolats conservés à température ambiante

- Absence d'activité initiale dès l'extraction

Il est possible que ces hydrolats médicaux soient dépourvus d'activité antimicrobienne dès leur extraction initiale. Cela peut être dû à plusieurs facteurs : la composition chimique ne présentait pas une quantité suffisante de composés antimicrobiens actifs tels que les phénols et les terpènes (**Bakkali et al., 2008**). De plus, les conditions d'extraction utilisées, telles que la température, la durée et le rapport plante/solvant, n'étaient pas optimales pour obtenir les molécules d'intérêt. En outre, il convient de souligner que certains hydrolats ont une activité antimicrobienne plus limitée que d'autres, en fonction de la plante d'origine et de la méthode d'extraction utilisée (**Burt, 2004**).

- Perte d'activité durant le stockage

Il est également possible que ces hydrolats aient initialement présenté une certaine activité antimicrobienne dans les 2 premiers mois suivant leur extraction, mais que cette activité se soit progressivement dégradée au fil du temps jusqu'à disparaître complètement après 1 an. Seule la comparaison des résultats obtenus immédiatement après l'extraction avec ceux obtenus ultérieurement pourrait évaluer la réelle diminution de l'activité des hydrolats, comme exprimés dans **Zheljzakov et Astatkie, (2011)**. En effet, cette perte d'activité pourrait être due à divers phénomènes. La dégradation des composés antimicrobiens par oxydation et hydrolyse, ainsi que la volatilisation des composés actifs pendant le stockage, particulièrement sous des conditions de conservation inadéquates, telles que la température, la lumière et l'oxygène (**Burt, 2004**).

IV. Détermination de l'activité anti biofilm des formulations désinfectantes à base d'hydrolats

L'observation microscopique de biofilm de la souche d' *Enterococcus faecalis* formé sur des lames de verre et colorés au cristal violet après un traitement combinant l'hydrolat de lavande et le désinfectant industriel, est indiquée dans la figure 17 .

1. Caractérisation microscopique des biofilms non traités (témoins)

D'après les observations microscopiques du biofilm témoin (Figure 17 A et B), on distingue de grandes structures irrégulières et agrégées de couleur violette intense. Cette coloration prononcée suggère une forte densité de cellules bactériennes d'*Enterococcus faecalis*, organisées en biofilm mature. Sur la même lame , on observe un biofilm moins dense et plus dispersé. Les amas violets sont plus petits et éparpillés, avec une matrice polymérique extracellulaire plus visible entre les agrégats bactériens. Ces différences d'aspect peuvent refléter divers stades de développement du biofilm selon le site de fixation initial des cellules (**Kostakioti et al., 2013**). En effet, les biofilms évoluent au fil du temps, passant d'une adhésion initiale des cellules à la surface à une maturation avec production de la matrice polymérique protectrice. De plus, les conditions environnementales ont une influence sur la morphologie des biofilms (**Flemming et Wingender, 2010**).

2. Caractérisation microscopique des biofilms traités

Le biofilm résiduel après traitement se présente sous forme de petites taches violettes diffuses et éparses, probablement des débris de la matrice organique (Figure 17 C). Cela suggère qu'une grande partie du biofilm a été éliminée ou désorganisée par l'action combinée de l'hydrolat de lavande et du désinfectant.

De nombreuses études ont exploré l'utilisation d'huiles essentielles et d'extraits végétaux, seuls ou combinés avec des désinfectants chimiques, comme stratégie prometteuse pour lutter contre les biofilms bactériens persistants. Ces travaux corroborent les résultats présentés ici, démontrant l'efficacité du mélange d'hydrolat de lavande et désinfectant industriel contre les biofilms matures d' *Enterococcus faecalis*. **Kwiecinski et al. (2009)** ont montré l'efficacité de l'huile essentielle de l'arbre à thé dans l'élimination de *S. aureus* en phase de croissance stationnaire. **Kalai et al. (2018)** ont mis en évidence l'efficacité de l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* contre les biofilms de *Bacillus cereus* dans l'industrie laitière. De même, **Benaissa et al. (2024)** ont rapporté les effets perturbateurs de l'huile essentielle de *Cistus munbyi* sur les biofilms et la virulence de souches cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*.

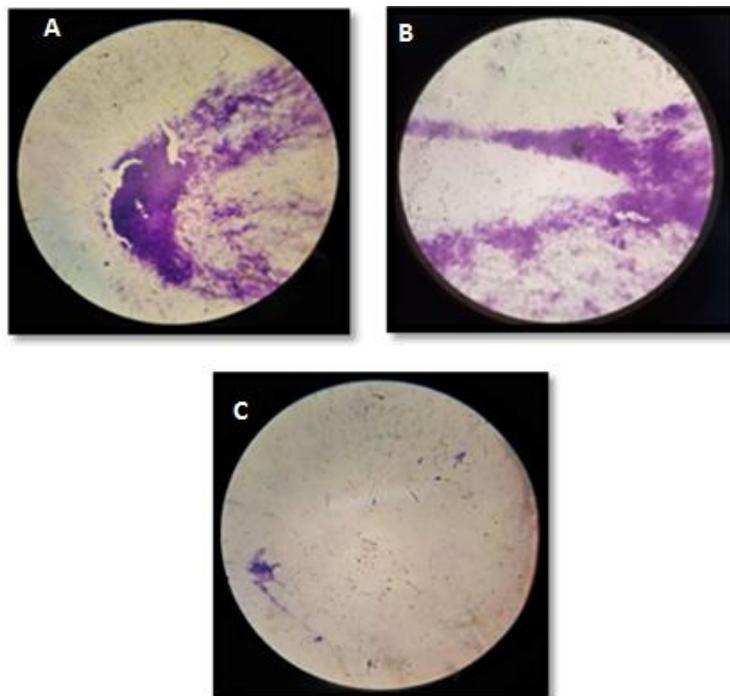


Figure 17 : Observation microscopique de biofilm après un traitement combinant l'hydrolat de lavande et le désinfectant industriel

A et B: biofilms témoins, **C:** Biofilm traité par la formulation désinfectante à base d'hydrolat de lavande.

Résultats et Discussion

Dénombrement des bactéries sessiles survivant au traitement

Les résultats du dénombrement des biofilms formés par les deux souches d'*Enterobacter* (R14 et R15) dans deux conditions : biofilm témoin non traité et biofilm traité avec le mélange d'hydrolat de lavande et de désinfectant industriel, sont présentés dans la figure 18. Ces résultats montrent les caractères culturels des bactéries sessiles survivantes au traitement par le mélange hydrolat de lavande et désinfectant industriel.

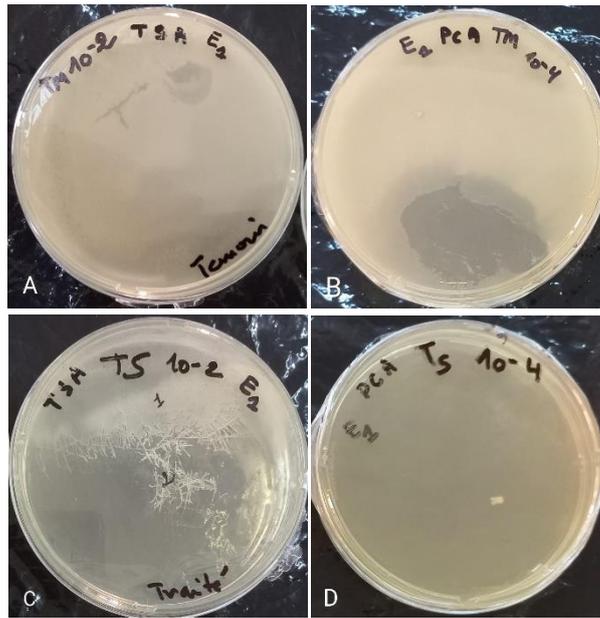


Figure 18 : Aspect des cellules du biofilm traité par le mélange d'hydrolat de lavande et le désinfectant industriel

Biofilm témoin : (A) : *Enterobacter* R15, (B) : *Enterobacter* R14

Biofilm traité : (C) : *Enterobacter* R15, (D) : *Enterobacter* R14

On remarque que les cellules des biofilms non traité (A et B) se présentent se forme d'un tapis bactérienne homogène et épais, indiquant une forte concentration bactérienne.

Pour le biofilm traité (Figure 18 C), il est possible de noter une réduction de la moitié de la culture bactérienne et une modification de la morphologie du tapis microbien résiduel. Ce qui implique un effet bactéricide de la formulation désinfectante. En outre, la modification des caractères culturels peut traduire des altérations morphologiques au niveau des structures cellulaires chez les bactéries survivantes.

Résultats et Discussion

Par contre, pour de le biofilm la figure 18 D, l'effet bactéricide de la formulation désinfectante est total. Ce qui indique une efficacité complète du mélange hydrolat de lavande et de désinfectant industriel dans l'éradication du biofilm de la souche d'*Enterobacter* (R14).

Si l'efficacité antibiofilm des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales est démontrée par de nombreux travaux, celle des hydrolats est peu documentée et même controversée. En effet, selon **Silha et al. (2020)**, l'hydrolat de clou de girofle non concentré réduit significativement la formation de biofilm par *Arcobacter*, tandis que lorsqu'il est concentré il augmente la formation de biofilm chez cette bactérie.

Il est important de souligner que, l'effet antibiofilm de la formulation désinfectante à base de l'hydrolat de lavande, obtenu dans notre étude est probablement dû à l'effet du désinfectant industriel. Il est nécessaire de tester l'effet des hydrolats seuls sur les biofilms pour vérifier leur efficacité avant de les mélanger aux produits chimiques adéquats. Ainsi, des travaux sont nécessaires pour explorer cette piste qui peut s'avérer intéressante, étant donné les caractéristiques des hydrolats qui présentent les avantages de non toxicité, de douceurs et de coût.

Conclusion

Conclusion

Ce travail de recherche a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne des hydrolats d'huiles essentielles dans le but d'améliorer l'hygiène des surfaces hospitalières.

L'analyse de la contamination microbienne de l'air ambiant et de la surface des paillasses du laboratoire pédagogique, choisi comme un modèle d'environnement a révélé une flore riche composée principalement de bactéries environnementales et de levures. Ces résultats indiquent une insuffisance ou une absence de nettoyage et de désinfection adéquats dans ce milieu.

Les tests d'activité antimicrobienne ont montré que les hydrolats testés n'avaient pas d'effet inhibiteur important sur les souches bactériennes de collection, à l'exception d'une souche d'*Enterobacter* dont la croissance a été inhibée par les hydrolats de romarin et de lavande. De plus, la combinaison des hydrolats avec des produits chimiques désinfectants n'a pas permis d'améliorer leur activité antimicrobienne. L'effet antibiofilm enregistré dans le cas de la combinaison de l'hydrolat de lavande avec le désinfectant industriel est plutôt le résultat de l'action de ce dernier, en raison de sa forte action inhibitrice sur toutes les souches bactériennes analysées.

Ces résultats suggèrent que les hydrolats testés seuls ou en combinaison ne semblent pas être des agents antimicrobiens efficaces pour la désinfection des surfaces hospitalières contaminées. Cependant, il serait intéressant d'explorer d'autres pistes, comme l'évaluation de l'activité antivirale des hydrolats, afin de déterminer leur potentiel dans la lutte contre la transmission aéroportée des virus et dans le traitement des infections virales récalcitrantes.

En conclusion, bien que les hydrolats n'aient pas démontré une activité antimicrobienne concluante dans le cadre de cette étude, ils restent une piste intéressante à explorer davantage pour le développement de solutions alternatives et écologiques pour la désinfection des surfaces en milieu hospitalier ou industriel.

Références bibliographiques

1. Alain, R. (2004). Hygiène et soins infirmier. Rayon Paramédical, 57-98-188-200-205.
2. Allal, A., Bellifa, S., Benmansour, N., Selles, C., Semaoui, M., Hassaine, H., & Muselli, A. (2019). Essential Oil and Hydrosol Extract Chemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Potential of *Daphne gnidium* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(5):1277-1288.
3. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
4. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2) : 446-475.
5. Barrette Jr, W. C., Hannum, D. M., Wheeler, W. D., & Hurst, J. K. (1989). General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. *Biochemistry*, 28(23), 9172-9178.
6. Bassolé, I.H.N., Juliani, H.R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*,17(4) :3989-4006
7. Bauer, H., Daxbichler, G., Müller, M., Biedermann, T., & Sedlmayr, P. (2008). Health hazard evaluation of eucalyptus disinfectants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71(7), 464-472.
8. Benaïssa, A., Kucukaydin, S., Latti, N., Benbelaïd, F., Eroglu, B., Bendahou, M., ... Ceylan, O. (2024). Biofilm Disruption and Virulence Attenuation Effects of Essential Oil from Endemic Algerian *Cistus munbyi* (Cistaceae) Against Clinical Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Natural Product Communications*, 19(4), 1-20.
9. Bolatli, G., Taş, F., & Alayunt, N. Ö. (2023). Effects of *Thymus vulgaris* oil on sodium hypochlorite-induced damage in rats. *Molecules*, 28(5), 2164.
10. Bouhenni, R.C., Benslimane, C. (2021). Evaluation d'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles et d'hydrolat de la Sauge «*Salvia officinalis*» Université Ibn Khaldoun Tiaret .
11. Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
12. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
13. CARRÈRE, G. (2017). L'hôpital face à la contamination des milieux aquatiques par les résidus de médicaments: vers une nouvelle responsabilité environnementale. *Cahiers de géographie du Québec*, 61(174), 513-527.

14. Cartier, N., Korali, V., Guinard, J., Guillaume, C., Bret, L., & Courtellemont, L. (2020). *Arcobacter*, un germe entéropathogène à ne pas méconnaître. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(6), S124-S125.
15. Chai C, Lee S, Kim J, Oh SW (2016) Synergistic antimicrobial effect of organic acids in combination with carvacrol against *Shigella Sonnei*. *Journal of Food Safety* DOI:101111/JFS.12251.
16. Chedia, A., Ridha, H., Thourya, A. A., Hayet, K., Nourreddine, B., Kawther, M. T. (2008). *Hygiène hospitalière et lutte contre les infections associées aux soins*. Vol.1. *HYGIENE hospitaliere : concepts, domaines et methodes*.
17. Chibi, A. (2015). *Evaluation de formation de biofilm par Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus isolées de CHU Tlemcen. Mémoire de master. Microbiologie. Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen*.
18. Cozzi, L., Vicenza, T., Battistini, R., Masotti, C., Suffredini, E., Di Pasquale, S., ... & Serracca, L. (2023). Effects of essential oils and hydrolates on the infectivity of murine norovirus. *Viruses*, 15(3), 682.
19. D'Amato, S., Serio, A., López, C. C., & Paparella, A. (2018). Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. *Food Control*, 86, 126–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.030>
20. Dancer, S. J. (2014). Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 665-690.
21. Dharan, S., Mourouga, P., Copin, P., Bessmer, G., Tschanz, B., Pittet, D. (1999). Routine disinfection of patients' environmental surfaces. Myth or reality?. *Journal of Hospital Infection*, 42(2), 113-117.
22. Di Vito, M., Smolka, A., Proto, M. R., Barbanti, L., Gelmini, F., Napoli, E., ... & Bugli, F. (2021). Is the antimicrobial activity of hydrolates lower than that of essential oils?. *Antibiotics*, 10(1), 88.
23. Diarra, Y.M., Tra, F. (2022). *Hygiene Hospitaliere et Prevention des Infections Nosocomiales en Côte d'ivoire : Cas de l'Hôpital General de Dabou*. *European Scientific Journal*, 18 (33) : 281.
24. Dixon, D., Malik, S. (2021). Thermal disinfection and decontamination of medical devices. *Decontamination in Hospitals and Healthcare*, 129-139.

25. Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 21(4) :308-323.
26. Elsharif, S. A., Banerjee, A., & Buettner, A. (2015). Structure-odor relationships of linalool, linalyl acetate and their corresponding oxygenated derivatives. *Frontiers in Chemistry*, 3, 57. DOI: 10.3389/fchem.2015.00057.
27. FERNANDEZ X., ANDRÉ C., CASALE A. (2014) Hydrolats et eaux florales Vertus et applications .Vuibert ,48-158.
28. Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature reviews microbiology*, 8(9), 623-633.
29. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M. Ü. N. E. V. V. E. R., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A. T. A. L. A. Y., ... & Ozkan, H. İ. C. A. B. İ. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food chemistry*, 103(4), 1449-1456.
30. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1), 91-97.
31. HADJADJ, R., NOURI, A. (2022). Etude théorique de l'activité biologique et application des hydrolats des plantes aromatiques.
32. Havet, A. (2019). Impact de la pollution de l'air extérieur sur la santé respiratoire dans deux études françaises. Thèse de doctorat. Épidémiologie. Université de Lille.
33. Hay, Y. O. M. (2015). La complexité des simples- Caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques (Doctoral dissertation).
34. Jakubczyk, K., Tuchowska, A., & Janda-Milczarek, K. (2021). Plant hydrolates – Antioxidant properties, chemical composition and potential applications.
35. Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., & Hultgren, S. J. (2013). Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3(4), a010306.
36. Kwiecinski, J., Eick, S., & Wojcik, K. (2009). Effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. *International journal of antimicrobial agents*, 33(4), 343-347.

37. Labadie, C., Ginies, C., Guinebretiere, M. H., Renard, C. M. G. C., Cerutti, C., & Carlin, F. (2015). Hydrosols of orange blossom (*Citrus aurantium*), and rose flower (*Rosa damascena* and *Rosa centifolia*) support the growth of a heterogeneous spoilage microbiota. *Food Research International*, 76, 576–586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.014>
38. LAICHE, C., MECHERI, M, (2023). EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES ET HYDROLATS.
39. Lionel Hugard, juin 2003. Hygiène et soins infirmiers .2eme ed , pp :6-10-11-16-18,21-32- 37-40-41-46-49.
40. Malek F. , 2021 : cour biofilms microbiens et hygiène des matériaux, à l'usage des étudiants du master 1 microbiologie et contrôle de qualité (<https://elearn.univ-tlemcen.dz/course/index.php?categoryid=692>)
41. Marino, A., Nostro, A., Mandras, N., Roana, J., Ginestra, G., Miceli, N., ... & Tullio, V. (2020). Evaluation of antimicrobial activity of the hydrolate of *Coridothymus capitatus* (L.) Reichenb. fil.(Lamiaceae) alone and in combination with antimicrobial agents. *BMC complementary medicine and therapies*, 20, 1-11.
42. Maris P. Biofilm and disinfection of microorganism carrier-surface method. *Sciences des aliments*. 1992; 12:721-728. In Malek, F., 2016 . Evaluation of a non-submerged cultivation assay combined to ESEM imaging for analysis of biofilm formed by dairy-associated sporeforming bacteria. *African Journal of Microbiology Research*. 10: 1263-1273.
43. Moon, T., Wilkinson, J. M., & Cavanagh, H. M. A. (2006). Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp. *International Journal of Aromatherapy*, 16(1), 9-14.
44. Moravej, H., Salehi, A., Razavi, Z., Moein, M. R., Etemadfard, H., Karami, F., & Ghahremani, F. (2016). Chemical composition and the effect of walnut hydrosol in glycemic control of type 1 diabetic patients. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 14(1). <https://doi.org/10.5812/ijem.34726>.
45. Muluneh, A; Azanaw, A. (2022). Biofilm -Associated Multi-Drug Résistance in Hospital-acquired Infection: A review .5058-5061. Doi: 10.2147.
46. Naudé, Y. Makuwa, R., Maharaj, V. (2016). Investigating volatile compounds in the vapour phase of (1) a hot water infusion of rhizomes, and of (2) rhizomes of *Siphonochilus aethiopicus* using head space solid phase microextraction and gas chromatography with time of flight mass spectrometry. 106:144-148.

47. Niu, C., & Gilbert, E. S. (2004). Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 6951-6956.
48. Petignat, C., Dumas, C.-L., Attinger, M. (2008). Risque de transmission d'infections lors d'un examen endoscopique. *Forum*, (3), 36-39.
49. Petignat, C., Dumas, C.-L., Attinger, M. (2008). Risque de transmission d'infections lors d'un examen endoscopique. *Forum*, (3), 36-39.
50. Piochon, M. (2008). Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université du Québec à Chicoutimi.
51. Poli, J.P. (2018). Recherche des mécanismes d'action des molécules à activité biologique issues des produits naturels. Thèse de doctorat. Biochimie et Biologie Moléculaire. Université de Corse-pascal paoli .
52. Rajeswara Rao, B. (2013). Hydrosols and water-soluble essential oils: their medicinal and biological properties., in J. Govil and S. Bhattacharya (eds), *Recent Progress in Medicinal Plants: Essential Oils I*, 1st edn, Vol. 36, Studium Press LLC, Houston, chapter 1st, pp. 119–140.
53. Ripaqs – Pronalin. (2009). Forum regional sur l'implication des patients et des associations des usagers des établissements de sante dans la promotion de la securite des soins dans les pays de l'Afrique de l'Ouest. Senegal.
54. Russotto, V., Cortegiani, A., Raineri, S. M., Giarratano, A. (2015). Bacterial contamination of inanimate surfaces and equipment in the intensive care unit. *Journal of Intensive Care*, 3(1), 54.
55. Rutala, W. A., Weber, D. J. (2008). Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities.
56. Rutala, W.A., Weber, D.J. (2019). Best practices for disinfection of noncritical environmental surfaces and equipment in health care facilities: A bundle approach. *Am J Infect Control*, 47 : 96-105.
57. Saint S, Chenoweth CE. Biofilms and catheter-associated urinary tract infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2003 Jun 1;17(2):411-32.

58. Schmitt, A., Glasser, N., Steinbach, D., & Meunier, O. (2009). Études expérimentales de l'effet rémanent d'un détergent désinfectant pour surfaces sur une souche d'*Escherichia coli*. *Pathologie Biologie*, 57(6), 463-469.
59. Schmitt, A., Steinbach, D., & Meunier, O., Ayoubi, S. (2008). Etude de l'effet rémanent du BACOBAN,® détergent-désinfectant pour surfaces, 16(5).
60. Šilha, D., Švarcová, K., Bajer, T., Královec, K., Tesařová, E., Moučková, K., ... & Bajerová, P. (2020). Chemical composition of natural hydrolates and their antimicrobial activity on *Arcobacter*-like cells.
61. Singh, S., Singh, S. K., Chowdhury, I., & Singh, R. (2017). Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *The Open Microbiology Journal*, 11, 53-62. doi: 10.2174/1874285801711010053.
62. Taboukoyout H. 2012. Valorisation d'huile essentielle d'Eucalyptus Globuls extraite par deux méthodes différentes. Thèse de doctorat, Université de Djelfa Ziane Achour. Algérie, 23 -52 .
63. Taglienti, A., Donati, L., Ferretti, L., Tomassoli, L., Sapienza, F., Sabatino, M., ... & Ragno, R. (2022). In vivo antiphytoviral activity of essential oils and hydrosols from *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, and *Rosmarinus officinalis* to control zucchini yellow mosaic virus and tomato leaf curl New Delhi virus in *Cucurbita pepo* L. *Frontiers in Microbiology*, 13, 840-893.
64. Tohidpour, A., Sattari, M., Omidbaigi, R., Yadegar, A., Nazemi, J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142-145.
65. Tornuk, F., Cankurt, H., Ozturk, I., Sagdic, O., Bayram, O., & Yetim, H. (2011). Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* Typhimurium on fresh cut carrots and apples. *International Journal of Food Microbiology*, 148(1), 30-35.
66. Valeriano C, et al. (2012). The sanitizing action of essential oil-based solutions against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis S64 biofilm formation on AISI 304 stainless steel. *Food Control*, 25: 673-677.
67. Verinsa, M.F. (2021). Une meilleure conformité à l'hygiène des mains permetelle de réduire significativement le risque d'infections nosocomiales. Mémoire de Master.

Département de microbiologie, infectiologie et immunologie. Faculté de Médecine.
Université de Montréal.

68. Virto, R., Mañas, P., Álvarez, I., Condon, S., & Raso, J. (2005). Membrane damage and microbial inactivation by chlorine in the absence and presence of a chlorine-demanding substrate. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5022- 5028.
69. Viuda-Martos, M., El Gendy, A. E. N. G., Sendra, E., Fernandez-Lopez, J., Abd El Razik, K. A., Omer, E. A., Perez-Alvarez, J. A. (2011). Chemical composition and antioxidant and anti-listeria activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16) : 9063-9070.
70. Yi, L., Jin, M., Li, J. (2020). Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Streptococcus suis*. *Appl Microbiol Biotechnol*.104,86498660.<https://doi.org/10.1007/s00253-020-108739>.
71. Zheljzakov, V. D., & Astatkie, T. (2011). Lavender and hyssop productivity, oil content, and bioactivity as a function of harvest time and drying. *Industrial Crops and Products*, 36 (1) :222-228.

ANNEXES

- **Composition d'eau physiologique (pour 1L)**
 - ✓ NaCl 9 g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
- **Solution de Tween 80**
 - ✓ Tween 80 3 ml
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
- **Composition du milieu TSE (Tryptone-sel-eau) (pour 1L)**
 - ✓ Nacl 8.5g
 - ✓ Tryptone 1g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
- **Milieus de cultures**
 - **Tryptone soja agar (TSA)**
 - ✓ Poudre déshydraté 40g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
 - **Potato dextrose agar (PDA)**
 - ✓ Poudre déshydraté 42g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
 - **Chapman**
 - ✓ Poudre déshydraté 111g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
 - **Mac conkey**
 - ✓ Poudre déshydraté 50g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
 - **Muller Hinton**
 - ✓ Poudre déshydraté 38 g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
 - **BHIB (Brain Heart Infusion Broth)**
 - ✓ Poudre déshydraté 37 g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml
 - ✓ PCA (Plate Count Agar)
 - ✓ Poudre déshydraté 23 g
 - ✓ Eau distillée 1000 ml

Résumé

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité antimicrobienne des hydrolats d'huiles essentielles pour améliorer l'hygiène des surfaces hospitalières. Cette activité est testée sur des bactéries isolées de l'environnement d'un laboratoire d'analyse microbiologique et sur des souches de collections.

Le dénombrement de la microflore totale de l'air a été réalisée sur milieux PCA et PDA, révélant une contamination principalement fongique, dominée par un type morphologique de champignons. L'écouvillonnage des surfaces des paillasses a montré une flore riche composée de bactéries environnementales et de deux types de levures pigmentées et non pigmentées. Ces résultats indiquent une insuffisance ou une absence de nettoyage et de désinfection à l'endroit du prélèvement.

L'activité antimicrobienne des hydrolats a été testée sur des souches de collection identifiées au genre *Enterobacter* et aux espèces: *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*. D'après les résultats de l'aromatogramme, les hydrolats n'ont exercé aucune activité antimicrobienne à l'égard des souches testées, mis à part une souche d'*Enterobacter*, dont la croissance a été inhibée par les hydrolats de romarin et de la lavande avec des diamètres d'inhibition de 30 et 32 mm respectivement. La combinaison des hydrolats avec des produits chimiques: un désinfectant industriel et l'hypochlorite de sodium n'a pas amélioré leur activité antimicrobienne. De même aucune activité antibiofilm n'a été attribuée aux hydrolats testés seuls. L'effet antibiofilm exercé par la formulation désinfectante à base de l'hydrolat de lavande est probablement le résultat de la forte action inhibitrice du désinfectant industriel utilisé en combinaison.

Mots-clés: hydrolats, huiles essentielles, activité antimicrobienne, antibiofilm, désinfection de surfaces.

Abstract

This work aims to evaluate the antimicrobial activity of essential oil hydrolates to improve the hygiene of hospital surfaces. This activity is tested on bacteria isolated from the environment of a microbiological analysis laboratory and on collection strains.

The total microflora count was carried out on PCA and PDA media, revealing a mainly fungal contamination, dominated by a morphological type of fungi. Swabbing the surfaces of the bench showed a rich flora composed of environmental bacteria and two types of pigmented and non-pigmented yeasts. These results indicate insufficient or no cleaning and disinfection at the sampling site.

The antimicrobial activity of hydrolates was tested on collection strains identified with the genus *Enterobacter* and species: *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. According to the results of the aromagram, the hydrolates did not exert any antimicrobial activity with respect to the strains tested, apart from a strain of *Enterobacter*, whose growth has been inhibited by rosemary and lavender hydrolates with inhibition diameters of 30 and 32 mm respectively. The combination of hydrolates with chemicals: an industrial disinfectant and sodium hypochlorite did not improve the antimicrobial activity of hydrolates. Similarly, no antibiofilm activity was attributed to the hydrolates tested alone. The antibiofilm effect exerted by the disinfectant formulation based on lavender hydrosol is probably the result of the strong inhibitory action of the industrial disinfectant used in combination.

Keywords: hydrosols, essential oils, antimicrobial activity, antibiofilm, surface disinfection.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات للماء الزهري للزيوت العطرية لتحسين نظافة أسطح المستشفيات. يتم اختبار هذا النشاط على البكتيريا المعزولة من بيئة مختبر التحليل الميكروبيولوجي وعلى سلالات من المجموعات. تم إجراء تعداد إجمالي النباتات الدقيقة في الهواء على وسائط PCA و PDA، مما يكشف بشكل رئيسي عن التلوث الفطري، الذي يهيمن عليه النوع المورفولوجي من الفطريات. أظهر مسح أسطح المقاعد وجود نباتات غنية تتكون من البكتيريا البيئية ونوعين من الخمائر المصطبغة وغير المصطبغة. وتشير هذه النتائج إلى عدم كفاية أو غياب عمليات التنظيف والتطهير في موقع أخذ العينات. تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات للزيوت العطرية المائية على سلالات المجموعة التي تم تحديدها من جنس *Enterobacter* والأنواع *Staphylococcus aureus*، و *Pseudomonas aeruginosa*. وفقاً لنتائج المخطط العطري، لم تمارس المخاليل المائية أي نشاط مضاد للميكروبات ضد السلالات التي تم اختبارها، باستثناء سلالة واحدة من البكتيريا المعوية، والتي تم تثبيط نموها بواسطة المخاليل المائية لإكليل الجبل والخزامى بقطر تثبيط 30 و 32 ملم على التوالي. مزيج الماء الزهري مع المواد الكيميائية: المطهر الصناعي وهيبوكلوريت الصوديوم لم يحسن النشاط المضاد للميكروبات للماء الزهري. وبالمثل، لم يُعزى أي نشاط مضاد للأغشية الحيوية للماء الزهري التي تم اختبارها وحدها. من المحتمل أن يكون التأثير المضاد للأغشية الحيوية الناتج عن التركيبة المطهرة المعتمدة على الماء الزهري للخزامى نتيجة للعمل المثبط القوي للمطهر الصناعي المستخدم معاً.

الكلمات الرئيسية: الماء الزهري، الزيوت العطرية، النشاط المضاد للميكروبات، الأغشية الحيوية، تطهير الأسطح