

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science de la nature et vie

Spécialité : Microbiologie

Intitulé : Microbiologie Appliqué

**Activité antimicrobienne de quelques extraits de plantes
contre certain agent responsable de parodontite**

Présenté Par : TAGHANE Arafa-MESSIKH Ismahane-CHOUALEB Selma-DJEBARI
Rayane sabrine

Membre de Jury:

Mr. BOUHAINÉ Salah (Docteur MCA)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mr. BOUGHANDJIOUA Hicham (Professeur)	Examineur	ENSET – Skikda
Mr. MEZEDJRI Elyamine (Professeur)	Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

SOMMAIRE

Titre	Page
Résumé abstract ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des Tableaux	
Remerciements	
Dédicaces	
I - Introduction	1
RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1- Le microbiote buccale	3
1-1 Les maladies de la cavité buccale	3
1-1-1 Pathogénie de la maladie parodontale	7
1-2 Traitement allopathique « médication »	8
1-2-1 Traitement non-chirurgicale de la parodontite	8
1-2-1-1 Enseignement hygiène bucco-dentaire	8
1-2-1-2 Détartrage-surfaçage radiculaire	8
1-2-1-3 Antibiothérapie	8
2- Les solutions alternative	9
2-1 Effet antimicrobien des huiles essentielles	10
MATÉRIEL ET MÉTHODE	12
I. MATÉRIEL	12
1-1 Matériel végétal	12
1-1-1 Le clou de girofle	12
1-1-2 Lentisque pistachier	12
1-1-3 L'<i>Inula viscosa</i>	13
1-2 Matériel biologique	13
1-3 Matériel et équipement	13
II. MÉTHODE	14
2-1 Préparation du matérielle végétale	14
2-1-1 Extraction de l'huile de clou de girofle	14
2-1-2 Extraction de l'huile végétale de lentisque	15
2-1-3 Extraction aqueuse de l'<i>Inula viscosa</i>	15
2-2 Méthode d'analyse	15
2-2-1 Revivification des souches et préparation du consortium	15
2-2-2 Isolement des bactéries	17
2-2-3 Identification des souches	17
2-2-3-1 Tests préliminaires	17
A- Aspect macroscopique des colonies	17

B- Etat frais	17
C- La coloration de Gram	17
D- Repiquage sur Sabouraud +Chloramphénicole	18
2-2-3-2 Les tests biochimiques	18
A- Identification par vitek 2	18
B- Galerie Biochimique	19
B-1 Galerie API 20 E	19
B-2 Galerie API 20 NE	20
2-2- 4 Activité antimicrobienne	21
2-2-4-1 Activité antibactérienne	21
A- Antibiogramme	21
C- Aromatogramme	21
2-2-4-2 Activité antifongique	22
RÉSULTATS ET DISCUSSION	23
1- Résultats de l'extraction d'huile de clou de girofle par hydrodistillation de type clevenger	23
1-1 Rendement en huile essentielle (R)	23
2- L'huile végétale de lentisque	24
3- Résultat de l'extraction	24
4 -Résultat des consortiums	25
5-Résultats d'identification des souches	25
5-1 Tests préliminaires	25
5-1-1 Aspect macroscopique des colonies	25
5-1-2 Résultats d'état frais et coloration de Gram	31
5-1-3 Résultat du repiquage sur Sabouraud+Chloramphénicole	34
5-2 Résultats des tests biochimiques	34
5-2-1 Résultats d'identification par VITEK2	34
5-2-2 Résultats des galeries biochimique	34
5-2-2-1 Résultat Galerie API 20 E	34
5-2-2-2 Résultat Galerie API 20N E	35
6- Résultats de l'activité antimicrobienne	36
6-1 Activité antibactérienne	36
6-1-1 Résultats de l'antibiogramme et l'aromatogramme	36
6-2 Résultats de l'activité antifongique	40
7- Résultats de l'activité antibactérienne du consortium en anaérobiose	42
Discussion	44
VI -CONCLUSION	49
Référence bibliographique	50

Résumé :

Les maladies parodontales sont l'une des principales affections bucco-dentaires qui représentent un facteur de risque de nombreuses pathologies chroniques et représente un véritable enjeu de santé publique. La médecine douce utilise les extraits de plantes comme solution alternative aux antibiotiques. Ce travail avait pour but d'évaluer l'activité antimicrobienne par aromagramme de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* extrait par hydrodistillation du type clevenger, l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* et l'extrait aqueux d'*Inula viscosa*. L'hydrodistillation de clou de girofle par clevenger a donné un rendement de 2.06%, cette huile essentielle a montré un bon effet inhibiteur sur les 3 souches testées, des valeurs de diamètre de zone d'inhibitions satisfaisantes (39 mm, 28.5 mm, 23 mm) pour les bactéries *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*, *Pasteurella pneumotropica*, *Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis*, respectivement. Ainsi qu'une activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* et *Alternaria alternata*. L'huile végétale de lentisque et l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* ne possèdent pas d'activité antibactérienne mais sont dotés d'un pouvoir antifongique contre *Aspergillus fumigatus* et *Alternaria alternata*.

Mots clé :

Activité antimicrobienne, *Syzygium aromaticum*, *Pistacia lentiscus*, *Inula viscosa*, Huile essentielle, Aromatogramme

Abstract :

Periodontal disease is one of the main oral and dental conditions which represents a risk factor for many chronic pathologies and represents a real public health issue. Alternative medicine uses plant extracts as an alternative solution to antibiotics. This work aimed to evaluate the antimicrobial activity by aromatogram of the essential oil of *Syzygium aromaticum* extracted by Clevenger type hydrodistillation, the vegetable oil of *Pistacia lentiscus* and the aqueous extract of *Inula viscosa*. The hydrodistillation of clove by Clevenger gave a yield of 2.06%, this essential oil showed a good inhibitory effect on the 3 strains tested, satisfactory inhibition zone diameter values (39mm, 28.5mm, 23mm) for the bacteria *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*, *Pasteurella pneumotropica*, *Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis*, respectively. As well as antifungal activity against *Aspergillus fumigatus* and *Alternaria alternata*. Mastic plant oil and aqueous extract of *Inula viscosa* do not have antibacterial activity but have antifungal power against *Aspergillus fumigatus* and *Alternaria alternata*.

Keywords:

Antimicrobial activity, *Syzygium aromaticum*, *Pistacia lentiscus*, *Inula viscosa*, Essential oil Aromatogram

ملخص

تعد أمراض اللثة واحدة من أمراض الفم والأسنان الرئيسية التي تمثل عامل خطر للعديد من الأمراض المزمنة وتمثل مشكلة حقيقية للصحة العامة. يستخدم الطب البديل المستخلصات النباتية كحل بديل للمضادات الحيوية يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات عن طريق الرسم العطري للزيت العطري لنبات *Syzygium aromaticum* المستخرج بطريقة التقطير المائي من نوع Clevenger، والزيت النباتي لنبات *Pistacia lentiscus* والمستخلص المائي لنبات *Inula viscosa*. التقطير المائي للقرنفل بواسطة كليفنجر أعطى محصول 2.06%، أظهر هذا الزيت العطري تأثيراً مثبتاً جيداً على السلالات الثلاثة التي تم اختبارها، وقيم قطر منطقة التثبيط مرضية (39 مم، 28.5 مم، 23 مم) لبكتيريا *Leuconostoc mesenteroides ssp*، الباستوريلا الرئوية، *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*، *cremosis*، على التوالي. فضلاً عن النشاط المضاد للفطريات ضد *Aspergillus fumigatus* و *Alternaria alternata* لا يحتوي زيت نبات المستكة والمستخلص المائي لنبات *Inula viscosa* على نشاط مضاد للبكتيريا ولكن لهما قوة مضادة للفطريات ضد *Aspergillus fumigatus* و *Alternaria alternata*.

الكلمات الدالة:

نشاط مضاد للميكروبات نبات السيزيجيوم العطري، الفستق العدسية، اينولا دبقة، الزيوت العطرية، مخطط عطري

Liste des Abréviations

Abréviation	Signification
ATB	ANTIBIOTIQUE
AMC	AMOXICILLINE+ACIDE CLAVULANIQUE
AX	AMOXICILLINE
SP	SPIRAMYCINE
HE	Huile essentielle
C	Huile essentielle de clou de girofle
L	Huile végétale
E	Extrait aqueux de l' <i>inula viscosa</i>
T	Témoin
MH	Muller Hinton
AFNOR	Association Française de Normalisation
G⁺	Gram positif
G⁻	Gram négatif

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure N°01	Synergie polymicrobienne et dysbiose	8
Figure N°02	Le clou de girofle	12
Figure N°03	<i>Inula viscosa.</i>	13
Figure N°04	Hydrodistillateur type clevenger	15
Figure N°05	Protocole expérimentale	17
Figure N°06	Huile essentielle de clou de girofle	23
Figure N°07	Huile végétale de lentisque	24
Figure N°08	Extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>	24
Figure N°09	Résultats du consortium après incubation	25
Figure N°10	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 1 sur gélose nutritive recto/verso.	27
Figure N°11	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 1 sur Chapman au sang recto/verso	27
Figure N°12	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 1 sur mac Conkey au sang recto/verso	27
Figure N°13	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 1 sur Hektoen au sang recto/verso	28
Figure N°14	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 2 sur gélose nutritive recto/verso	28

Figure N°15	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 2 sur Chapman au sang recto/verso	28
Figure N°16	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 2 sur Hektoen au sang recto/verso	29
Figure N°17	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 2 sur Mac Conkey au sang recto/verso	29
Figure N°18	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 3 sur gélose nutritive recto/verso	29
Figure N°19	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 3 sur Chapman au sang recto.	30
Figure N°20	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 3 sur le milieu Hektoene au sang recto/verso	30
Figure N°21	Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N ⁰ 3 sur le milieu mac Conkey au sang recto/verso	30
Figure N°22	Levure prélevé à partir de la GN de l'échantillon n ⁰ 1 obj x (40)	31
Figure N°23	État frais de l'isolat de l'échantillon n ⁰ 2 prélevé à partir de Chapman obj x40	31
Figure N°24	Coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n ⁰ 2 prélevé à partir de Chapman obj x100	32
Figure N°25	État frais de l'isolat de l'échantillon n ⁰ 3 prélevé à partir de Chapman obj x 40	32
Figure N°26	Coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n ⁰ 3 prélevé à partir de Chapman obj x100	32
Figure N°27	état frais de l'isolat de l'échantillon n ⁰ 2 prélevé à partir de hektoene obj x40	32
Figure N°28	Coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n ⁰ 2 prélevé à partir de l'Hektoen obj x100	32

Figure N°29	État frais de l'isolat de l'échantillon n ⁰³ prélevé à partir de l'Hektoene obj x40	32
Figure N°30	Coloration de la Gram de l'isolat de l'échantillon n ⁰³ prélevé à partir de l'Hektoen obj x100	33
Figure N°31	État frais de l'isolat de l'échantillon n ⁰² prélevé à partir de l'Hektoene objx40	33
Figure N°32	Coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n ⁰¹ prélevé à partir de macConkey obj x100	33
Figure N°33	État frais de l'isolat de l'échantillon n ⁰² prélevé à partir de macConkey obj x40	33
Figure N°34	Coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n ⁰² prélevé à partir de macConkey obj x100	34
Figure N°35	Résultat de la GALRI API 20E après incubation de 24h	35
Figure N°36	Résultat de la GALRI API 20N E après incubation de 24h	35
Figure N°37	résultat de l'antibiogramme <i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	37
Figure N°38	résultat de l'aromatogramme <i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	37
Figure N°39	Résultat de l'effet synergique entre les Antibiotiques et les deux huiles (huile essentielle de clou de girofle C et l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus L</i>) sur <i>Klebsiella pneumoniae ssp. Pneumoniae</i>	37
Figure N°40	Résultat de l'antibiogramme <i>Pasteurella pneumotropica</i>	38
Figure N°41	Résultat de l'aromatogramme <i>Pasteurella pneumotropica</i>	38
Figure N°42	résultat de l'effet synergique entre les antibiotiques et les deux huiles(huile essentielle de clou de girofle C et l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus L</i>) sur <i>Pasteurella pneumotropica</i> .	38
Figure N°43	Résultat de l'antibiogramme <i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis</i>	39
Figure N°44	Résultat de l'aromatogramme <i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis</i>	39

Figure N°45	Résultat de l'effet synergique entre les antibiotiques et les deux huiles (huile essentielle de clou de girofle C et l'huile végétale de <i>Pistacia lenticus</i> L) sur <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>Cremsis</i> .	39
Figure N°46	Observation macroscopique du repiquage de l'isolat de l'échantillon N°2 depuis la surface de l'Hektoene	40

Liste des Tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau N°01	Principaux colonisateurs précoces et colonisateurs tardifs des biofilms buccaux associés à la maladie parodontale	5
Tableau N°02	Résultat du rendement d'HE de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	23
Tableau N°03	interprétation macroscopique des résultats de l'ensemencement	25
Tableau N°04	Observation microscopique des souches testées.	31
Tableau N°05	résultat de l'identification par VITEK2	34
Tableau N°06	Les diamètres d'inhibitions des souches testées après 24h	36
Tableau N°07	résultats macroscopique et microscopique de la boîte du témoin	40
Tableau N°08	Résultat de l'activité antifongique des huiles essentielles étudiée et de l'extrait aqueux	42
Tableau N°09	Résultat de l'antibiogramme et aromatoگرامme avec l'effet synergique sur le consortium en anaérobiose	42

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance envers M^r le professeur MEZEDJRI Elyamine, mon encadreur, pour son soutien inestimable, ses conseils éclairés et sa patience tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Je souhaite également remercier chaleureusement les membres de jury M^r le professeur BOUGHANDJIOUA Hicham et M^r le Docteur BOUHAIN Salah, pour leur expertise, leurs remarques constructives et l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail.

Leurs précieux commentaires ont grandement enrichi ce projet.

Enfin, mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette étude.

Leur appui a été essentielle dans l'accomplissement de ce travail académique.

Merci sincèrement à tous.

Dédicace

A ma famille et mes amies « Rayane et Somaya », merci.

TAGHANE Arafa

Dédicace

Le premier diplômé de ma famille a obtenu son diplôme.

Louange à Dieu en premier et en dernier lieu.

« Mon succès ne dépend que de Dieu Tout-Puissant

Je dédie mon diplôme à celui que Dieu a couronné de prestige et de respect. celui qui m'a appris à donner sans attendre.. à celui dont je porte le nom avec fierté..

mon cher père « Rabeh »

et à mon ange dans la vie... au sens de l'amour et au sens de la tendresse, à ma chère mère, "Souraya"

et à mes chers frères, tu as toujours été un atout et une source de fierté pour moi tout au long de ma vie, "_anis _ malak"

et pour moi-même... ♡

MESSIKH Ismahane

Dédicace

À mon père et ma mère, qui m'ont non seulement soutenu avec amour et sagesse, mais qui ont aussi partagé avec moi des souvenirs inoubliables de mon enfance, des histoires remplies de rires et de leçons de vie précieuses. Votre foi en moi a été une lumière constante dans les moments de doute.

À mes frères et sœurs, mes premiers amis et confidents, avec qui j'ai partagé tant d'aventures, de jeux et de discussions profondes. Votre soutien inconditionnel et votre affection inébranlable m'ont toujours donné la force de persévérer.

Et à mon pilier, pour son amour et son soutien sans faille, sa compréhension et sa patience. Tes encouragements et ta présence ont été des piliers sur lesquels j'ai pu m'appuyer tout au long de ce parcours. Chaque moment passé avec toi est une source d'inspiration et de motivation.

CHOUALEB Selma

Dédicace

A ma mère qui m'a soutenu et encouragé durant ces années des études
qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

A mon père pour son aide et son soutien moral.

A ma sœur et mon petit frère qui ont partagé avec moi tous les
moments d'émotions lors de cette mission

A tous les professeurs qui m'ont enseigné tout au long de mon
parcours

A tous ceux que j'aime

Je dédie ce travail

DJEBARI Rayane Sabrina

INTRODUCION

Chez l'être humain le sourire est un langage universel non verbal « c'est une fenêtre sur l'âme », les philosophes avaient entièrement raison de s'intéresser au sourire car un beau sourire signifie une bonne santé générale.

La bouche est une porte d'entrée microbienne et « miroir » de certaines pathologies générale, les maladies parodontales sont à l'origine de plusieurs maladies chronique (**Audrey.,2014**)

La parodontite est l'une des principales complications du diabète, sa prise en charge thérapeutique entraîne un meilleur contrôle de l'équilibre glycémique (**Davido et al.,2014**)

De nombreuses études cliniques et épidémiologiques tendent à valider que les bactéries parodontopathogène sont à l'origine de la plupart des maladies cardiovasculaires dites non congénitales (**Lallemand.,2022**)

De plus, les maladies parodontales sont associées à certaines complications de grossesse comme l'hypertension gravidique, des prématurités ou encore des hypotrophies du nourrisson (**Arnaud.,2016**)

Prévenir et guérir ces maladies parodontales est devenu un souci social et médical car les allopathies utilisées telles que l'antibiothérapie devient de plus en plus inefficace à cause de l'apparition et l'émergence d'une résistance accrue aux antibiotiques au sein de la flore pathogène en raison d'une prescription inadaptée de ses agents antimicrobiens oraux par les praticiens au cours de leur exercice quotidien (**Walter ,2000 ; xi ,2014**)

Pour toutes ces raisons, les chercheurs s'orientent vers de nouvelles alternatives thérapeutiques entraînant moins d'effets secondaires de résistance bactérienne et présentent moins de danger pour la santé.

Des produits d'origine naturelle provenant de plantes aromatiques, comme des huiles essentielles peuvent être considérées comme une bonne alternative thérapeutique.

Plusieurs études ont été réaliser pour tester l'efficacité des huiles essentielles contre les maladies parodontales telles que les travaux de (**Arnaud., 2016**) qui affirment que le mélange composé de l'huile essentielle d'arbre à thé, de gaulthérie, de lavande vraie de sauge officinale et de laurier noble possède une activité bactéricide et bactériostatique sur les parodontopathogène.

On note aussi le travail de **Paola et al., (2023)** indique que l'huile essentielle de *pistacia lentiscus* à un potentiel antimicrobien contre les microorganismes pertinents dans les maladies associées au biofilm oral.

INTRODUCION

Devant l'émergence de l'antibiorésistance on a réalisé ce travail qui a pour objectif d'étudier in vitro le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de clou de girofle et de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* et l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* vis-à-vis quelques souches responsables de parodontite

Nous avons premièrement procédé à l'isolement et l'identification de ces souches et d'évaluer l'activité antimicrobienne de ces extraits.

Notre travail est structuré en deux parties précédés par une introduction :

□ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur deux chapitres :

Chapitre I : Le microbiote buccale

Chapitre II : Les solutions alternative

□ La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres :

Chapitre III : Matériel et méthodes

Chapitre IV : Résultats et discussion

Et enfin une conclusion.

1- Le microbiote buccale :

La cavité buccale se caractérise par des conditions de milieu convenables au développement des bactéries : abondance d'eau, disponibilité de nutriments divers, température et Ph adéquats. Cependant, le flux continu de la salive constitue un facteur antagoniste, en chassant en permanence les bactéries vers l'estomac où elles sont présumées normalement détruites par l'acidité gastrique.

La cavité buccale est parmi les tout premiers sites humains à être colonisés. Chez le nouveau-né, les premières bactéries appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Mais elles sont rapidement accompagnées de bactéries anaérobies strictes, malgré les conditions d'environnement globalement aérobies.

L'apparition et le développement de la dentition, ainsi que l'évolution du régime alimentaire, influent sur la diversité de la microflore buccale, également déterminée par la présence de sites aux conditions physico-chimiques variées : dents, gencives, langue, glandes salivaires...

Au niveau des gencives, la microflore est composée de bactéries anaérobies aérotolérantes et anaérobies strictes : *Prophyromonas* (*P.gingivalis*), *Prevotella* (*P.intermedia*), *Fusobacterium*, *Actinomyces* et des spirochètes (*Treponema denticola*), qui se développe dans l'environnement anaérobie du sillon gingival à la surface des racines dentaires.

Une partie des bactéries buccale est à l'état libre dans la salive mais les populations principales se fixent à l'émail des dents et aux cellules épithéliales des autres compartiments, en formant un biofilm de composition complexe, avec pour composants majeurs des bactéries des genres *Lactobacillus* et *Streptococcus* (*S.salivarius*, *S.sanguis*, *S.mutans*). On note aussi la présence de levures, notamment *Candida albicans*.

Le développement des bactéries à la surface des dents et des gencives est largement impliqué dans la formation de la plaque dentaire, de caries, de gingivites et de parodontites (**Bousaboua., 2005**)

1-1- Les maladies de la cavité buccale :

Les maladies parodontales se définissent en tant « qu'affections des tissus de soutien de la dent (gencive, ciment, ligament alvéolo-dentaire, et os alvéolaire) d'origine microbienne, constitué de lésions inflammatoires sous la dépendance du système de défense de l'hôte entraînant une atteinte partielle ou complète de ses différentes structures » (**Bouchard et al., 2014**).

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

Ces processus pathologiques peuvent atteindre :

- Le parodonte dit superficiel (gencive) à l'origine de gingivites correspondant à une stricte inflammation de la gencive cliniquement décelable sans perte d'attache associée ;
- Le parodonte dit profond (cément, ligament alvéolo-dentaire, et os alvéolaire) à l'origine de parodontites, correspondant non seulement à une atteinte du parodonte superficiel associé à une perte d'attache entraînant une lyse de l'os alvéolaire.

Les maladies parodontales résultent d'un déséquilibre entre les défenses immunitaires de l'hôte et les pathogènes bactériens. On dit que lorsque l'hôte est « permissif », c'est-à-dire que son système immunitaire n'est pas capable de se défendre face aux agressions bactériennes, les maladies parodontales se développent. On parle d'ailleurs aussi d'infections opportunistes. Les maladies parodontales se caractérisent par une rupture de l'homéostasie entre la flore bactérienne buccale et les défenses de l'hôte. Il en résulte une réponse inflammatoire inadaptée face au biofilm.

Tableau N°1 : Principaux colonisateurs précoces et colonisateurs tardifs des biofilms buccaux associés à la maladie parodontale (**Garneau-Tsodikova et al. 2021**)

Espèces bactériennes (par ordre alphabétique de Gram positif et Gram négatif	forme	Gram- positive/Gram- négative	Aerobie/Anaerobie
<i>Actinomyces sraelii</i>	Bacillus +	+	B
<i>Actinomyces naeslundii</i>	Bacillus +	+	B
<i>Streptococcus gordonii</i>	coccus	+	A
<i>Streptococcus Ointermedius</i>	coccus	+	B
<i>Streptococcus mitis</i>	coccus	+	A
<i>Streptococcus mutans</i>	coccus	+	B

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>Streptococcus oralis</i>	coccus	+	A
<i>Streptococcus sanguinis</i>	coccus	+	A
<i>Campylobacter concisus</i>	spirilla	-	B
<i>Campylobacter rectus</i>	bacillus	-	B
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	bacillus	-	B
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	bacillus	-	B
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	bacillus	-	B
<i>Eikenella corrodens</i>	bacillus	-	B
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	bacillus	-	B
<i>Veillonella atypica</i>	coccus	-	B
<i>Veillonella parvula</i>	coccus	-	B
<i>Eubacterium nodatum</i>	bacillus	-	B
<i>Filifactor alocis</i>	bacillus	-	B
<i>Aggregatibacter Actinomycetemcomitans</i>	bacillus	-	B
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	bacillus	-	B
<i>Prevotella denticola</i>	bacillus	-	B
<i>Prevotella intermedia</i>	bacillus	-	B
<i>Prevotella nigrescens</i>	bacillus	-	B

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>Selenomonas flueggei</i>	bacillus	-	B
<i>Tannerella forsythia</i>	bacillus	-	B
<i>Treponema denticola</i>	spiral	-	B

A = Aerobie. B= Anaerobie. + = Gram-positive, - = Gram- négative,.

1-1-1 Pathogénie de la maladie parodontale :

Il n'est plus à démontrer aujourd'hui que les maladies parodontales sont considérées comme des pathologies chroniques inflammatoires d'origine microbienne car : leur étiologie est microbienne ; les micro-organismes parodontopathogènes induisent une réponse immunitaire innée et adaptative ; les bactéries et leurs produits sont retrouvés dans les tissus atteints ; la destruction tissulaire est irréversible ; les signes cliniques de l'inflammation sont observés de façon constante.

Les gingivites sont des réactions inflammatoires du parodonte superficiel à une flore microbienne non spécifique complexe. Ces maladies sont réversibles et on observe un effet-dose : plus la quantité de plaque est importante, plus les signes cliniques associés sont sévères.

Il est aujourd'hui prouvé que la diminution de la quantité de plaque dentaire autour des dents par simple brossage assure une disparition des symptômes cliniques de l'inflammation.

Les parodontites sont quant à elles induites par une communauté bactérienne complexe et spécifique. Ces maladies induisent cliniquement un décollement des fibres de collagène de la surface cimentaire radiculaire et une migration apicale/destruction de l'épithélium de jonction. La perte d'attache conjonctive autour de la dent entraîne la lyse de la partie coronaire de l'os alvéolaire de support. Il convient donc de ne pas considérer les maladies parodontales comme des maladies osseuses mais comme des maladies du système d'attache de la dent, même si inéluctablement cette perte d'attache aura pour conséquence la lyse osseuse alvéolaire. La perte d'attache des tissus mous est considérée comme le signe cardinal des parodontites (**Bouchard et al., 2014**).

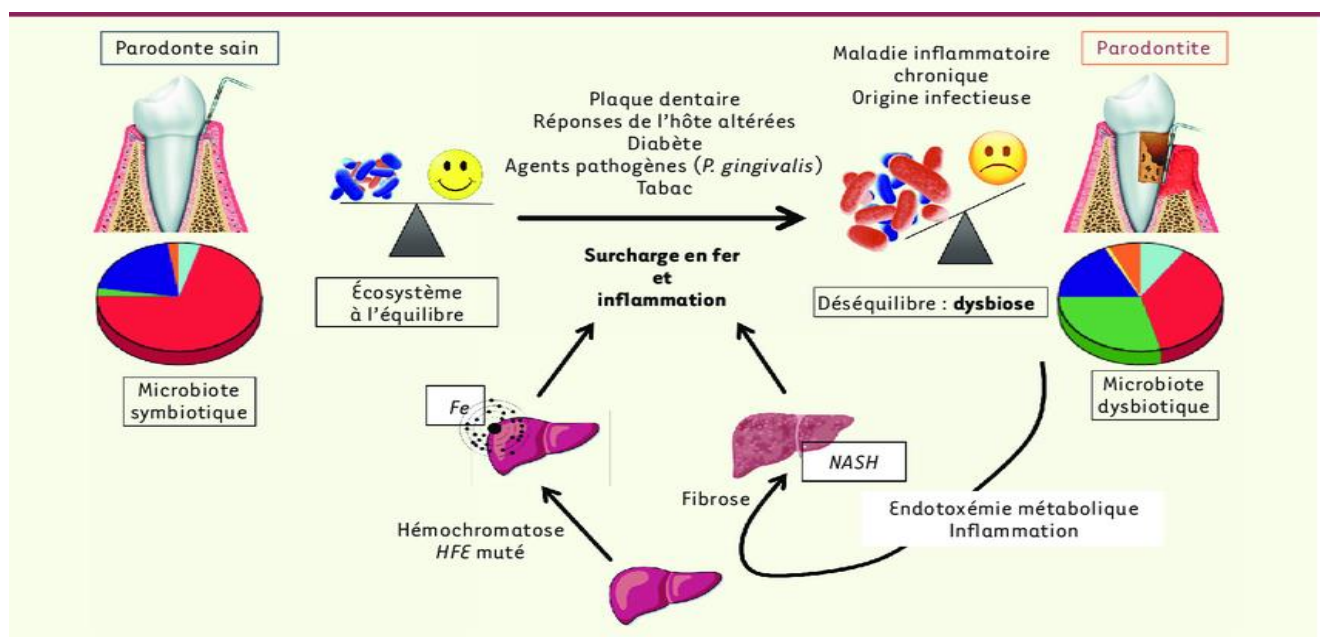


Figure N°01 : Synergie polymicrobienne et dysbiose (10).

1-1- Traitement allopathique « médication » :

Le traitement de la parodontite a plusieurs objectifs, notamment contrôler la maladie et stopper sa progression, puis réparer et régénérer certains tissus parodontaux qui auraient été endommagés. Pour ce faire, la désinfection buccale est nécessaire, suivie d'une procédure de fermeture des poches parodontales et d'une réduction de l'inflammation ainsi que d'un détartrage afin de rétablir une hygiène bucco-dentaire correcte. Dans certains cas, le traitement de la parodontite doit recourir à une opération chirurgicale, si le traitement non chirurgical n'est pas suffisant.

1-1-1- Traitement non-chirurgical de la parodontite :

Le traitement de la parodontite peut se faire sans intervention chirurgicale. Les différents traitements alors proposés sont plus rapides et il est souvent préférable de privilégier les traitements non chirurgicaux à des opérations parfois lourdes pour les patients et porteuses d'un plus grand aléa thérapeutique. Ces traitements permettent notamment de réduire les inflammations à l'intérieur de la bouche, permettent de retirer des tissus contaminés et de restaurer le système d'attache.

1-2-1-1- Enseignement hygiène bucco-dentaire :

Quelle que soit la sévérité de la maladie parodontale, il est indispensable pour le professionnel de rappeler au patient l'importance de l'hygiène bucco-dentaire pour arrêter la progression de la maladie et éviter la récurrence. Sur les poches de moins de 6 mm, cela peut même être l'unique traitement nécessaire. Il est donc primordial pour le patient de se brosser les dents au moins deux fois par jour, voire d'utiliser du fil dentaire ou des brosses interdentaires. Il est également conseillé d'arrêter le tabac pour les fumeurs. Une bonne hygiène bucco-dentaire fait partie des moyens de prévenir la parodontite.

1-2-1-2- Détartrage –surfaçage radiculaire :

Pour effectuer un détartrage-surfaçage, on utilise des instruments comme les ultrasons (détartreurs) ou des moyens mécaniques, comme les curettes. Bien que cette technique soit efficace, il faut plusieurs séances pour arriver à traiter la parodontite. Pour que celle-ci soit bien prise en charge, il faut enlever toute la plaque et le tartre, d'où la nécessité de nettoyer et polir les surfaces des racines colonisées par les bactéries sous le rebord gingival.

1-2-1-3- Antibiothérapie :

Parmi les traitements non chirurgicaux, il existe le traitement antibiotique de la parodontite. On peut administrer deux types d'antibiothérapie : par voie locale et par voie générale.

L'antibiothérapie par voie générale propose de mieux cibler l'antibiothérapie dans le traitement qui permet de soigner les parodontites en fonction des risques d'infection du sujet. Il s'agit de bien choisir l'antibiotique et de respecter la flore commensale. Il faut que le traitement ait un effet sur l'ensemble des bactéries impliquées dans la maladie parodontale. Il faut également que le médicament agisse sur le biofilm et non seulement sur des bactéries isolées. Plus le nombre de bactéries présentes dans la poche est important, moins l'antibiotique est efficace.

Il faut également être vigilant aux différents degrés de risque d'infection du patient en fonction de son profil et de ses antécédents dentaires, qui peuvent modifier le soin de la parodontite par traitement antibiotique.

On distingue plusieurs antibiothérapies :

- celle à base de métronidazole ;
- celle à base de métronidazole, associée à de la spiramycine ;
- celle à base de métronidazole, couplée à de l'amoxicilline ;
- celle à base de doxycycline.

On donne enfin les indications suivantes selon le type de parodontite identifiée.

- Pour une parodontite agressive généralisée, on préconise souvent la spiramycine et le métronidazole, qui permettent une élimination des anaérobies.
- Pour une parodontite agressive localisée, on préconise de la doxycycline, de l'amoxicilline et du métronidazole, qui permettent l'élimination des aérobies (1).

2- Les solutions alternatives :

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ATB) augmente régulièrement que ce soit en milieu communautaire ou hospitalier et constitue un véritable problème de santé publique. Les bactéries développent, de plus en plus, de la résistance en s'adaptant aux thérapeutiques antibactériennes et de ce fait l'échec de traitement.

Environ 90-95% de souches de *Staphylococcus aureus* dans le monde sont résistantes à la pénicilline et dans la plupart des pays asiatiques 70-80% des mêmes souches sont résistantes à la méticilline.

De même, les infections à *Acinetobacter baumannii* multirésistant aux antibiotiques et notamment à l'imipénème ont émergé depuis une dizaine d'années conduisant à des impasses thérapeutiques.

En France, l'enquête nationale menée sur la prévalence des infections nosocomiales en 2006 indique que 12 % de ces dernières étaient résistantes à l'imipénème, ce qui rend de plus en plus difficile, voire impossible, de traiter ce pathogène en raison de l'arsenal pharmaceutique et thérapeutique restreint. Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et de revenir à des solutions alternatives, notamment des médecines dites douces, basées sur les propriétés des plantes médicinales notamment des huiles essentielles (Oussou et al., 2010).

2-1- Effet antimicrobien des huiles essentielles :

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires (Amarti et al., 2008 ; Mazari et al., 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012). Pour la même raison, aucune résistance particulière vis-à-vis des huiles essentielles n'a été décrite et il est important de souligner que certaines d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (Rosato et al., 2010).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* et sa résine contre différents micro-organismes a été rapportés par plusieurs chercheurs (Tassou et Nychas, 1995 ; Ben Douissa, 2004 ; Benhammou et al., 2008).

L'huile essentielle de Laurier noble, est avant tout connue pour ses propriétés anti-infectieuses à large spectre et son action antalgique. Sa composition riche en 1-8 cinéole, linalol, alpha-terpinéol et pinène lui permet en effet d'agir directement sur différents germes en lien avec des affections buccales comme les bactéries présentes dans la plaque dentaire ou le *Candida albicans* responsable du muguet buccal. Le linalol lui confère aussi ses propriétés antalgiques tout comme l'acétate de terpényle. La teneur en eugénol et méthyl eugénol est assez faible mais, par un effet synergique, leur présence va venir renforcer l'action anti-infectieuse et antalgique des autres molécules plus concentrées déjà citées (2).

Le clou de girofle est composé de plus de 15% d'huile essentielle et de 70 à 90% d'eugénol, composé antibactérien, antiseptique et antifongique. Il y a, également, entre 9 et 15% d'acétate d'eugénol, qui possède également des propriétés antibactériennes (**Rakotoatimanana et al., 1999**).

L'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candidat albicans*, le *Cryptococcus* néoformés ou l'*Aspergillus fumigatus*. Elle a été particulièrement efficace sur un modèle expérimental de vaginite murine sur un modèle animal (**Goetz et al, 2012**).

-Site d'accueil :

La présente étude a été réalisée au niveau du laboratoire de l'Ecole normale de science et technologie sis à Azzaba commune de la wilaya de- SKIKDA-durant un mois

1- MATÉRIEL :

1-1-Matériel végétal :

1-1-1- Le clou de girofle :

Le clou de girofle appelé *Syzygium aromaticum* (syn. *Eugenia caryophyllata*) est un arbre qui peut atteindre les quinze mètres, de la famille des myrtacées. Originaire d'Indonésie dans les îles Moluques, les boutons floraux qui le composent sont communément appelés « clous de girofle ». Ces derniers comportent quatre pétales blancs jaunâtres et quatre sépales épais. (Figure 2) le feuillage est très dense et persistant. D'abord utilisé en Chine, le giroflier connut un essor considérable en Europe grâce aux Romains qui le découvrent sur la « route des épices », puis par les Arabes dont elle composait l'arsenal thérapeutique. Son odeur, épicée et franche, est immédiatement assimilée à celle des cabinets dentaires ou son utilisation est courante.



Figure N°02 : Le clou de girofle (3)

1-1-2- Lentisque pistachier :

Pistacia lentiscus L., est une espèce appartenant à la famille des Anacardiaceae (syn. Pistaciaceae). Parmi les espèces du genre *Pistacia*,

Le *Pistacia lentiscus* L. est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres de hauteur, à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise

En Algérie, le lentisque se trouve dans les zones forestières sur le long du nord algérien (More et White.,2005). Il occupe l'étage thermo-méditerranéen. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée. On le retrouve sur tout type de

sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride (**Saadoun.,2002**), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (**Belhadj., 2000**).

L'huile essentielle de lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires. Des travaux sur les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. révèlent la présence de certaines activités antalgiques, antioxydantes, anti-inflammatoires, et antimicrobiennes (**Giner-Larza et al.,2000**).

1-1-3- L'inula viscosa:



Figure N°03 : *Inula viscosa*.

Inula Viscosa (L) est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, a odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (composées), elle peut atteindre 50cm a1m de hauteurs et présente de capitules à fleurs jaunes très nombreuses au sommet de la tige. Les feuilles sessiles sont ondulées, dentées, aiguës, rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre. (**Quzel et santa .1963**).

Répandue dans tout le bassin méditerranéen, sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau (**Quzel et santa.,1963**). Largement répandue en Algérie dans les rocailles et les terrains argileux (**Benayache et al.,1991**) vivace topique utilisée dans la médecine traditionnelle. comme anti- gale, anti- inflammatoire (**Danino et al ., 2009**) elle est connue pour ses propriétés

antiseptiques et son efficacité contre les inflammations de la peau (**Hernandez et al.,2007**) antilytique rénal, diurétique, antihypertensive (**Fresquet et al.,1993**).

1-2- Matériel biologique :

L'échantillonnage :

Numéro 1 : prélèvement par écouvillonnage sur un patient sexe masculin trentenaire qui est un fumeur et chiqueur, présente une parodontite.

Numéro 2 : prélèvement par écouvillonnage sur une patiente de 48 ans mariée présente une parodontite.

Numéro 3 : oil pulling avec l'huile de sésame pendant 20 minutes recueilli dans un bocal en verre stérile, patiente âgé de 60 ans.

1-3- Matériel et équipement :

-Bain marie

-Eau physiologique

-Bec bunsen

-Etuve

-Pipette pasteur

-Les milieux de culture : gélose nutritive –Chapman au sang frais –macConkey au sang frais – Hektoene au sang frais

-Bouillon nutritif

-Sabouraud +chloramphénicol

-Muller hinton

-40 boîtes de pétri

2- MÉTHODE :

2-1 Préparation du matériel végétale :

2-1-1 Extraction de l'huile de clou de girofle par Hydrodistillation de type clevenger :

Le clou de girofle est soumis à l'hydrodistillation en se servant du dispositif d'extraction type Clevenger.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles (HE). L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un grand ballon en verre (de 1 litre) contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent à travers le tube vertical, puis à travers le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau distillée. L'HE obtenue est récupérée puis séchée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenu dans l'huile. L'hydrodistillation est réalisée pendant 3 heures. L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon opaque bien scellé à l'abri de la lumière et à température de 4 à 6 C° (4)



Figure N°04 : Hydrodistillateur type clewenger

2-1-2 Extraction de l'huile de lentisque :

Par la méthode traditionnelle chez un artisan de elhadaiek à skikda

2-1-3 Extraction aqueuse par macération de l'*Inula viscosa* :


Cette méthode consiste à laisser macérer une plante dans un solvant (huile, alcool, eau) pour en extraire ses principes actifs. On peut obtenir différents types de macérât selon le solvant utilisé.

Cette technique est souvent utilisée pour les plantes aromatiques peu concentrées en molécules aromatiques ou qui sont sensibles à la chaleur de la vapeur d'eau lors de la distillation tel le jasmin, le frangipanier, etc.... pour obtenir un macéra sous forme d'absolue après solubilisation et filtration (5)

2- 2 Méthode d'analyse :

2-2-1 Revivification des souches et préparation du consortium :

Revivification des souches :

Tube de prélèvement +eau physiologique  suspension

Préparation du consortium :

Tube a essaie+ bouillon nutritive +la suspension  consortium

Exception pour l'échantillon numéro 3 je mets directement une quantité de l'échantillon dans un tube de bouillon nutritif.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

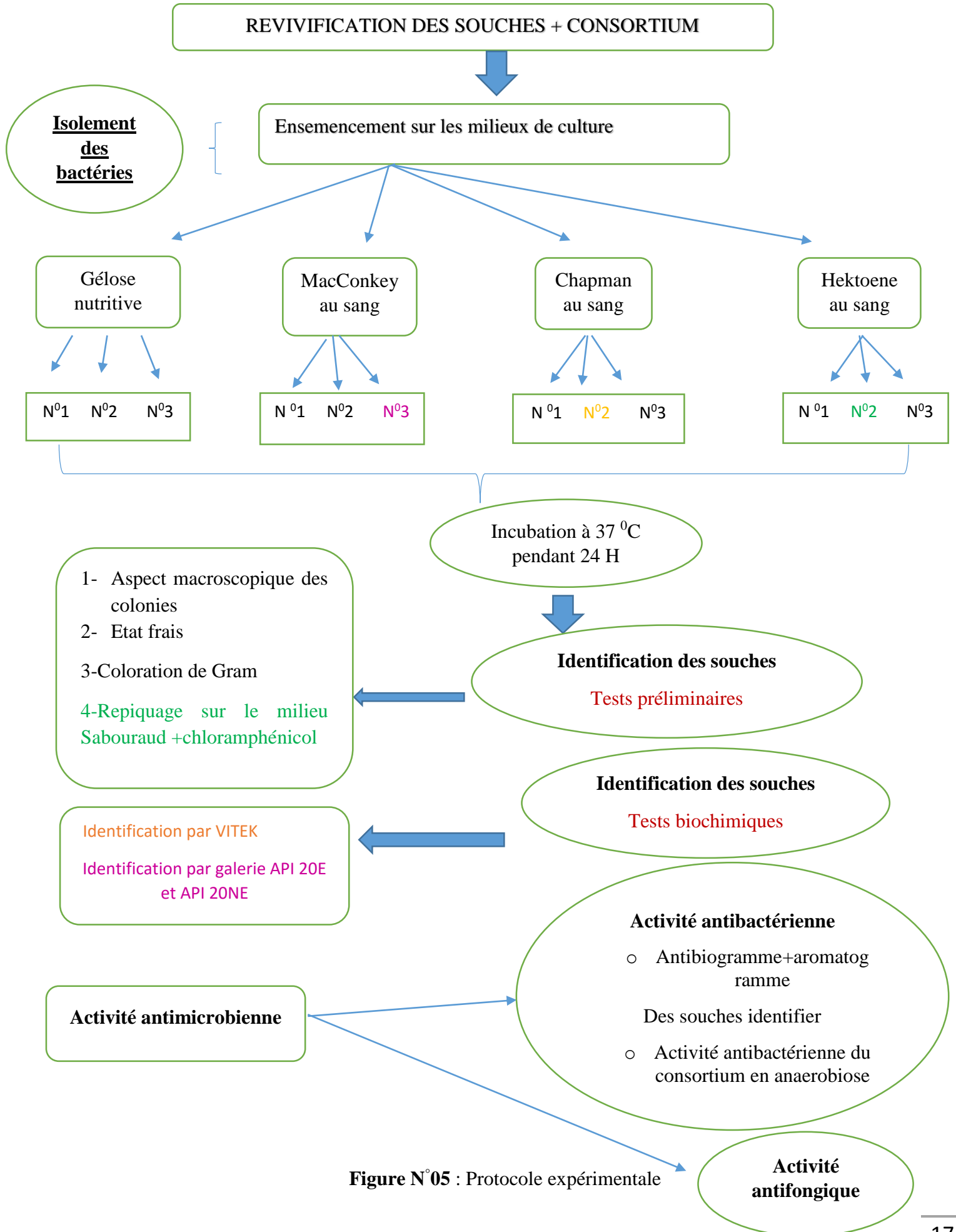


Figure N°05 : Protocole expérimentale

2-2-2 Isolement des bactéries :

Les 3 échantillons revivifiés sont ensemencés sur les milieux de cultures suivantes : gélose nutritive-Chapman au sang frais (on ajoute 4cc de sang frais au milieu de culture) –Hektoene au sang frais macConkey au sang frais, par inondation aux profondeurs et par strie serré au milieu et en surface, incubé à 37 °C pendant 24 h.

2-2-3 Identification des souches :

2-2-3-1 Tests préliminaires :

A- Aspect macroscopique des colonies :

À l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie, la forme du relief, la taille, la couleur, l'odeur et la transparence.

B-Etat frais :

Ce teste permet de vérifier les 3M (Morphologie, Mobilité, Mode de regroupement) il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle, l'observation se fait sur le microscope optique (6)

C-La coloration de Gram :

Principe :

C'est une coloration différentielle liée à la composition chimique de la paroi, elle permet de distinguer la morphologie des bactéries (Cocci et bâtonner) et de les classer en deux grands groupes celui des Gram positifs et celui des Gram négatifs basés sur la composition pariétale en lipides qui est élevée (20%) chez les Gram négatifs et faibles chez les Gram positifs.

Technique :

- Fixer le frottis à la chaleur douce.
- Laisser refroidir la préparation.
- Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane (1 minute).
- Laver rapidement recouvrir le frottis avec le lugol (30secs à 1 minute).
- Laver rapidement à l'eau courante.
- Décolorer avec le différentiateur l'éthanol (30 secs).
- Laver rapidement à l'eau courante.
- Recouvrir le frottis avec la fuchsine (1 minute).

- Laver et sécher le frottis.
- Lecture au microscope, objectif x100 à immersion.

Lecture :

- Les bactéries Gram positives apparaissent violettes.
- Les bactéries Gram négatives apparaissent roses (7)

D- Repiquage sur Sabouraud +Chloramphénicole :

La gélose Sabouraud est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures. Il est additionné de chloramphénicol pour inhiber la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif et de cycloheximide qui inhibe la croissance des champignons saprophytes mais n'a pas d'action sur les champignons pathogènes.

2-2-3-2 Les tests biochimiques :

A-Identification par vitek 2 :

Conçu pour identifier les bactéries et déterminer leur susceptibilité en aussi peu que **5 à 8 heures**³, l'appareil VITEK^{MD} 2 Compacts s'utilise avec les cartes d'identification bactérienne et d'antibiogramme économiques et prêtes à l'emploi VITEK^{MD} 2.

La **sécurité est optimisée** grâce à la préparation minimale de réactif qui est requise, à la réduction de la manipulation et au système clos de l'appareil. Le VITEK^{MD} 2 Compacts est simple à utiliser :

1. Une fois le micro-organisme principal isolé dans un inoculat standardisé, la manipulation est réduite au minimum
2. L'inoculat est placé dans la cassette de l'appareil VITEK^{MD} 2, au niveau de la *Smart Carrier Station*^{MC}
3. La carte VITEK^{MD} 2 et l'échantillon sont reliées par l'intermédiaire d'un code-barres
4. Une fois la cassette chargée, l'appareil prend toutes les étapes subséquentes de l'incubation et de la lecture en charge
5. Aperçu des résultats :
 - Interface intuitive
 - Résultats faciles à consulter grâce aux multiples filtres
 - Connexion bidirectionnelle au système d'information de laboratoire

Validation et transfert automatiques des résultats préliminaires (8)

B-Galerie Biochimique

L'identification biochimique basée sur les tests qui étudient la fermentation des sucres, la capacité d'utilisation le citrate comme une seule source de carbone, la production de gaz, le type respiratoire et la mobilité

B-1-Galerie API 20 E :

La galerie API commercialisée, est un système standardisé pour l'identification de bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de microtubes (10 ou 20 le plus souvent), contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques

➤ **Préparation de la galerie API**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau dans les alvéoles avec pipette pour créer une atmosphère humide.
- Déposer la galerie dans la boîte d'incubation (**Guibert et al., 1981**).

➤ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de « Suspension Médium » ou introduire quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile.
- Avec la pipette Pasteur, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu (**Guibert et al., 1981**).

➤ **Inoculation de la galerie API 20 E**

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests CTI – VP – GEL
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures
- Lecture et détermination : Elle se fait avec le tableau API 20 E. ou à l'aide du logiciel d'identification apiweb (**Guibert et al., 1981**).

B-2 Galerie API 20 NE :

API 20 N'est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non Entérobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*...etc (9). La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

➤ **Inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à ONPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant [9].
- Ouvrir une ampoule d'API aux médiums comme indiqués au paragraphe "Précautions d'utilisation" et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe [9].
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 29°C ± 2°C pendant 24 heures (± 2 heures).

2-2-4 Activité antimicrobienne :

2-2-4-1 Activité antibactérienne :

A-Antibiogramme :

L'antibiogramme permet de catégoriser une souche bactérienne en classe semi-quantitatives (sensible S, résistante R ou intermédiaire I) et d'orienter l'antibiothérapie (**Vedel, 2005**).

Technique :

- nous avons utilisé une gélose Mueller Hinton (MH) dans une boîte de Pétriensemencée par la suspension obtenue (3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile) par des stries bien serrées
- Après étuvage à 37 °C pendant 24 heures nous pouvons obtenir des diamètres sans bactérie (zone d'inhibition) autour des pastilles d'antibiotique.

Diamètres d'inhibition en (mm) de quelques antibiotiques :

AMC (amoxicilline+acide clavulanique) : sensible ≥ 21 , résistant < 14 , Intermédiaire]14-21]

AX(amoxicilline) : sensible ≥ 21 , résistant < 14 , Intermédiaire]14-21]

SP(spiramycine) : sensible ≥ 24 , résistant < 19 , Intermédiaire]19-24] (CASFM. ,2006)

B-Aromatogramme :

L'aromatogramme est un test qui permet d'analyser in vitro l'activité antibactérienne des huiles essentielles et de sélectionner plus précisément ceux qui sont capables de supprimer ou de détruire les germes pathogènes (Damian, 1995).

Il existe différents types d'aromatogrammes tout dépend des milieux utilisés : solides ou bien liquides. Alors que, dans la pratique quotidienne, le milieu solide est le plus simple et le plus facilement reproductible (Pibiri, 2005).

L'ensemencement de l'inoculum est réalisé en surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Des disques stériles (5 mm de papier Wattman N°1) imprégnés d'une quantité d'H.E. à l'état pur (5 ul) sont déposés au centre des boîtes. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 20 mn puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Après incubation, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur que la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (exprimé en mm). Il est important de noter que la quantité d'H.E. déposée sur le disque varie selon les auteurs, excluant toute comparaison des valeurs des diamètres mesurés (Pibiri, 2006).

Selon Ponce et al (2003) La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des H.E. étudiées est classée selon le diamètre d'inhibition selon les critères suivants :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

Des témoins négatifs utilisant uniquement des disques placés sur gélose inoculée sans l'H.E.

2-2-4-2 Activité antifongique :

Pour les souches fongiques, les tests sont réalisés par incorporation de 1 ml de la dilution dans 9 ml du milieu Sabouraud en surfusion, puis le milieu est coulé dans la boîte. La gélose Sabouraud est ensemencée par un disque mycélien (5 mm de diamètre) prélevé du centre d'un mycélium pré cultivé et déposé au centre de la gélose. Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 27°C, cette durée

MATÉRIEL ET MÉTHODE

permet selon **Gilbert et Woods (2006)** la colonisation de toute la gélose. Tous les tests y compris les témoins sont répétés 03 fois sous les mêmes conditions expérimentales (**Benmeddour et al. ,201**

1-Résultats de l'extraction d'huile de clou de girofle par hydrodistillation de type clevenger :



Figure N°06 : Huile essentielle de clou de girofle

L'huile essentielle de clou de girofle a un aspect liquide mobile, légèrement visqueux de couleur jaune très claire, cependant cette huile à une caractéristique spéciale définie par une odeur distinct « épicée »

1-1 Rendement en huile essentielle (R) :

Le rendement en huile essentielle de clou de girofle extraite par hydrodistillation a été calculé selon la formule suivante (Vagi et al., 2005) :

$$R = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)}} \times 100$$

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N°02 : Résultat du rendement d'HE de l'espèce *Syzygium aromaticum*

Essai N°	Masse du matériel végétal utilisé en g	Volume d'eau distillée utilisé en ml	Masse des huiles essentielles extraites en g	Rendement en huile essentielle %	Rendement Moyen %	Norme AFNOR	
						minimum	maximum
01	100	1000	1.8	1.8	2.06	5	8
02	100	1000	2	2			
03	100	1000	2	2			
04	100	1000	2.2	2.2			
05	100	1000	2.3	2.3			

2-L'huile végétale de lentisque :



Figure N°07 : Huile végétale de lentisque

L'huile de lentisque est de couleur verte foncée, elle n'est entièrement liquide qu'à la température ambiante, à basse température on assiste à la formation d'un dépôt de couleur blanche.

3- Résultat de l'extraction :

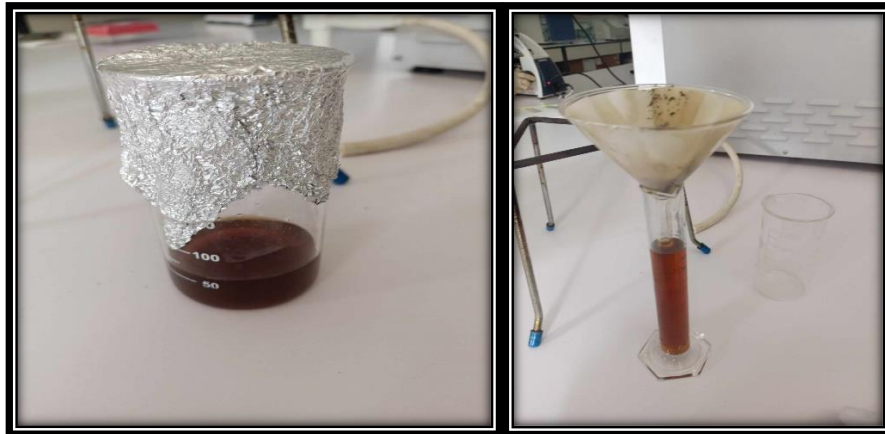


Figure N°08 : extrait aqueux d'*Inula viscosa*

Liquide de couleur marron foncé translucide

4-Résultat des consortiums :

Après une incubation durant 48h à 37°C, nous avons remarqué l'apparition de trouble au niveau de tous les tubes ce qui se traduit par une croissance bactérienne figure suivante :

RÉSULTATS ET DISCUSSION

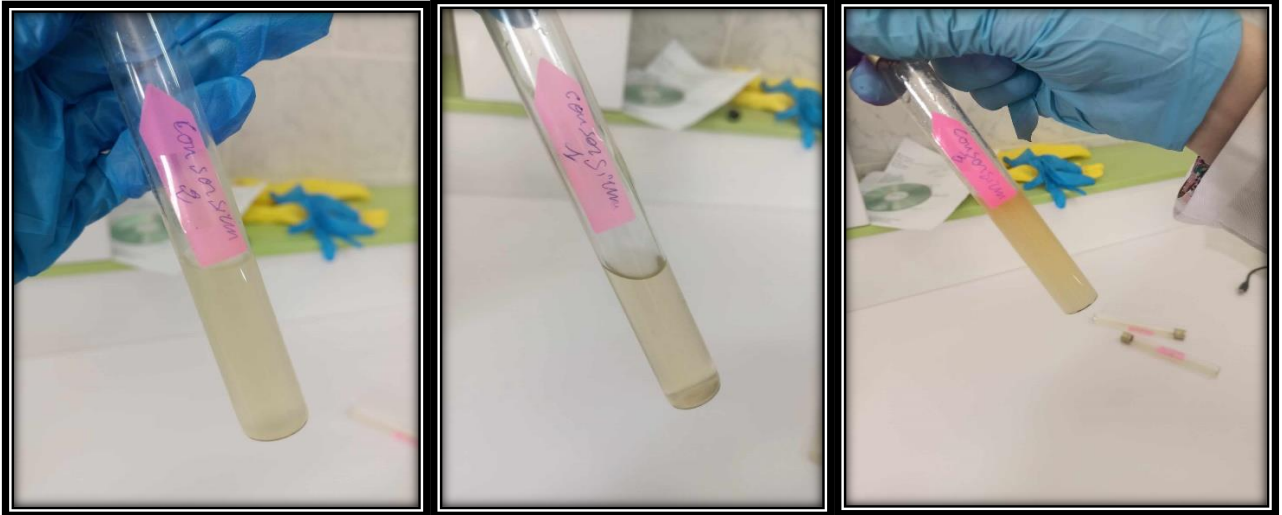


Figure N°09 : résultats du consortium après incubation

-Les 3 tubes présentent une turbidité avec la présence d'un dépôt en profondeur (anaérobies stricts) et un voile à la surface (aérobie strict), cela indique la richesse du consortium en microorganismes et la présence des 3 types respiratoire anaérobie strict, aérobie stricte et aérobie anaérobie facultatif.

5-Résultats d'identification des souches :

5-1 Tests préliminaires :

5-1-1 Aspect macroscopique des colonies :

Après un temps d'incubation de 24h à 37°C, l'examen macroscopique des colonies poussées sur les milieux de cultures utilisés est résumés dans le tableau N°3 :

Tableau N°03 : interprétation macroscopique des résultats de l'ensemencement

milieu échantillons		Gélose nutritive	Chapman	Hektoen	Mac conkey
N°1	En profondeur	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé	Des colonies rondes, couleur brun foncé avec un contour régulier
	Au milieu	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé

RÉSULTATS ET DISCUSSION

	En surface	Tapis blanc d'un aspect cotonneux	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé
N°2	En profondeur	Absence de poussé	Absence de poussé	Des colonies rondes, brun foncé, contour régulier, taille petite	Des colonies rondes, taille petite, brun foncé, contour régulier
	Au milieu	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé
	En surface	Des colonies blanchâtres avec contour irrégulier mucoidale	Petites colonies /couleur blanche contour régulier, bombé	Film qui couvre la boîte avec une odeur nauséabonde colorée en vert	Absence de poussé
N°3	En profondeur	Absence de poussé	Absence de poussé	Des colonies petites taillent couleur brun foncé avec un contour régulier	Des colonies petites taillent couleur brun foncé contour régulier
	Au milieu	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé	Absence de poussé
	En surface	Présence d'une colonie blanche de taille moyenne contour irrégulier	Des colonies taillent moyenne blanche contour irrégulier	Colonies blanche taille moyenne contour irrégulier mucoidale	Des colonies blanches, taille moyenne contour irrégulier mucoidale bombé

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Echantillon numéro 01 :

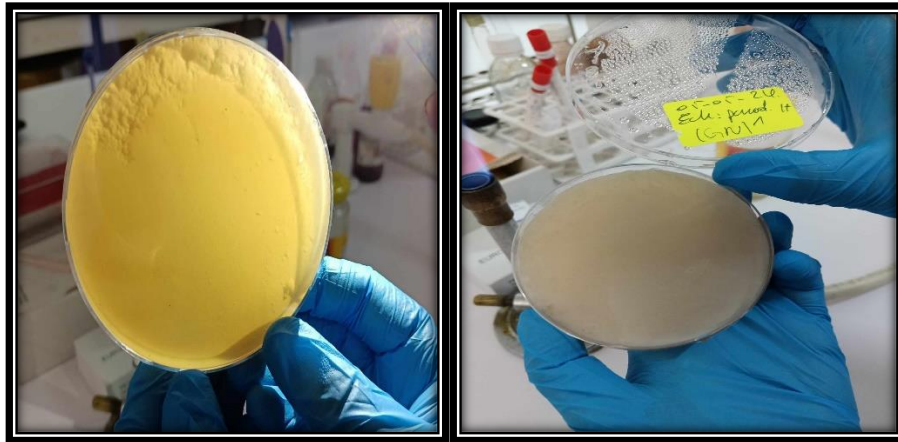


Figure N°10 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°01 sur gélose nutritive recto/verso.

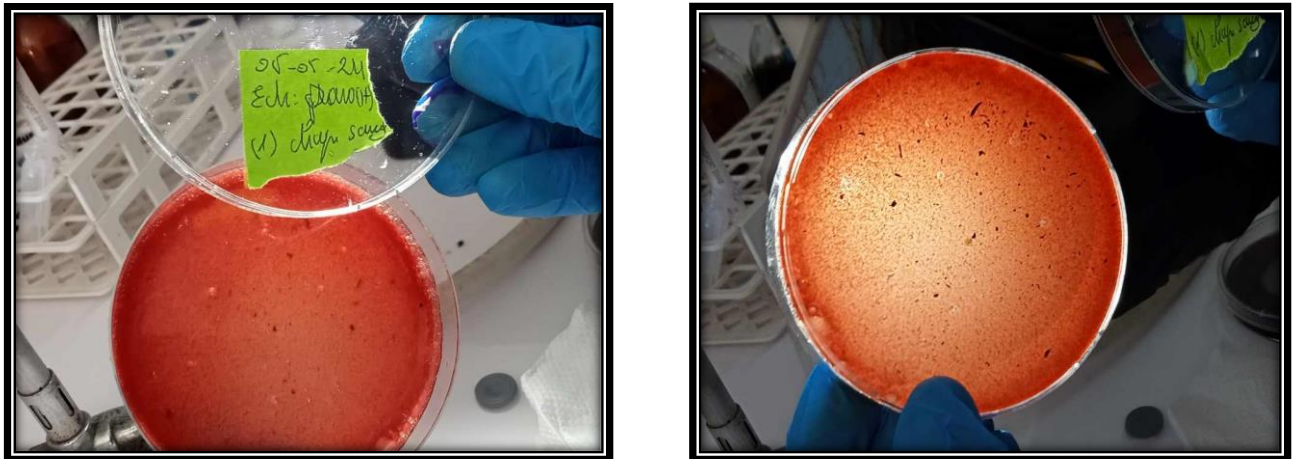


Figure N° 11 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°01 sur Chapman au sang recto/verso

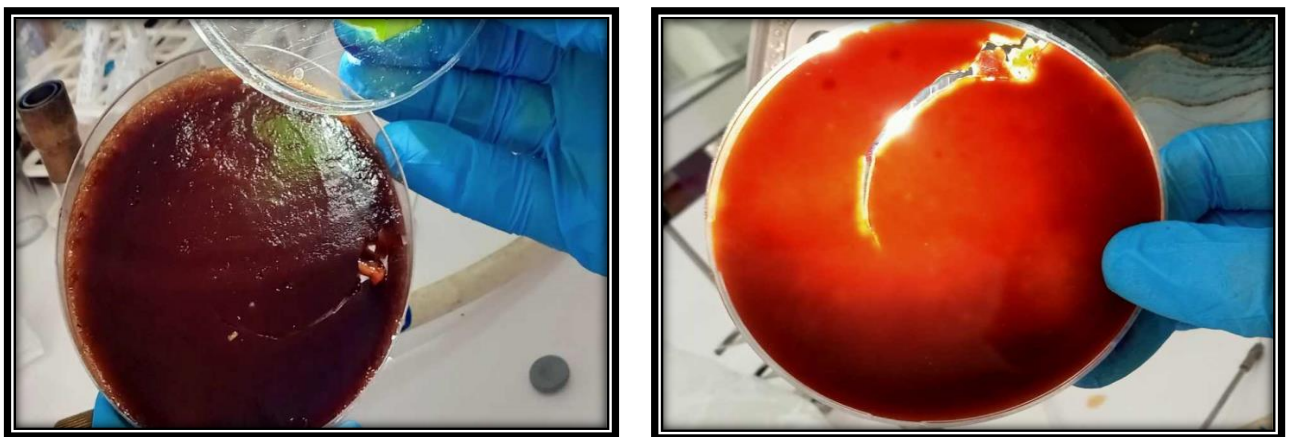


Figure N°12 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°01 sur macConkey au sang recto/verso

RÉSULTATS ET DISCUSSION

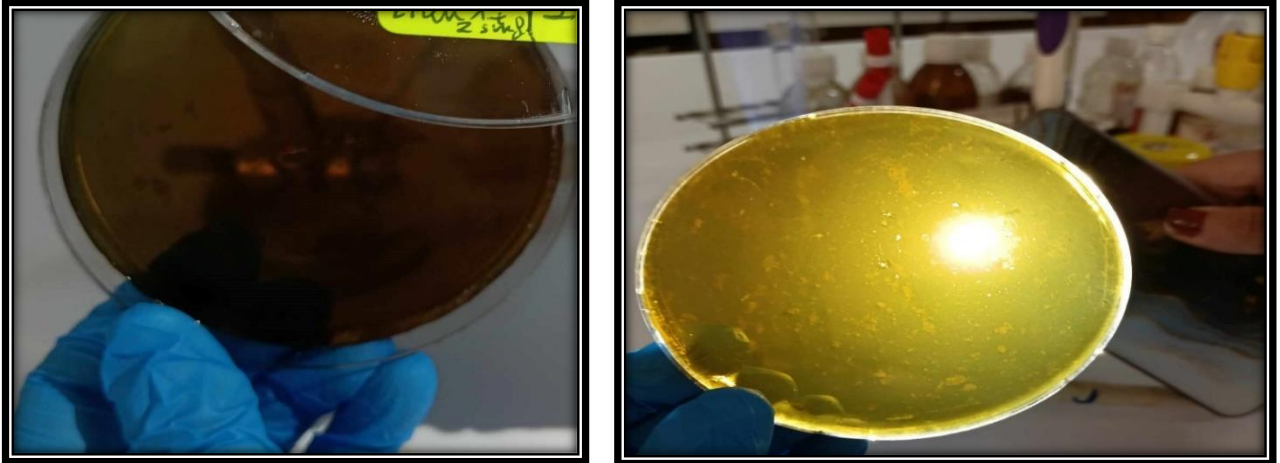


Figure N°13 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°1 sur Hektoen au sang recto/verso

Echantillon numéro 02 :

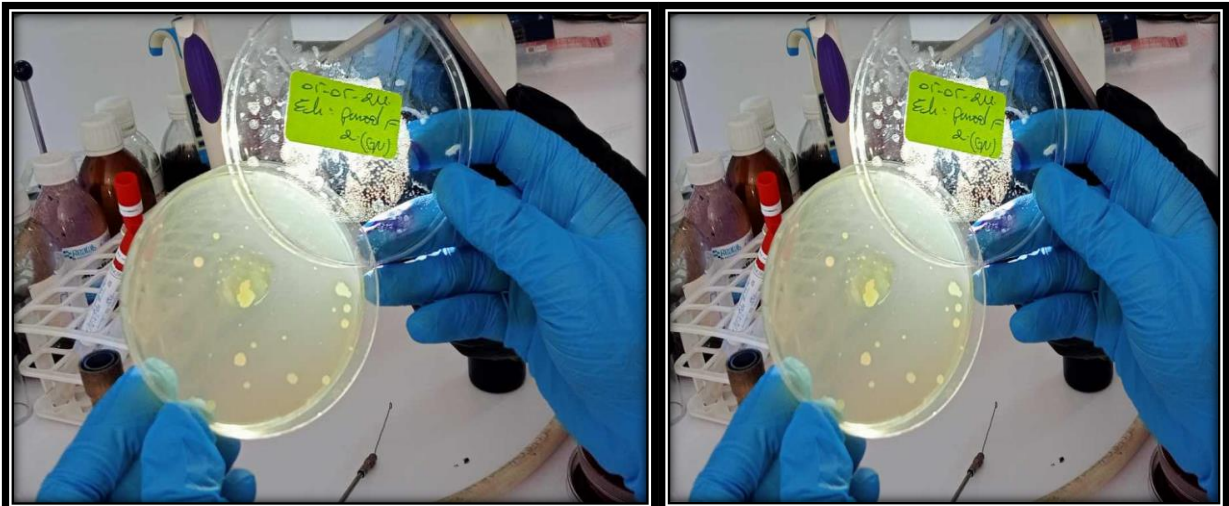


Figure N°14 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°2 sur gélose nutritive recto/verso

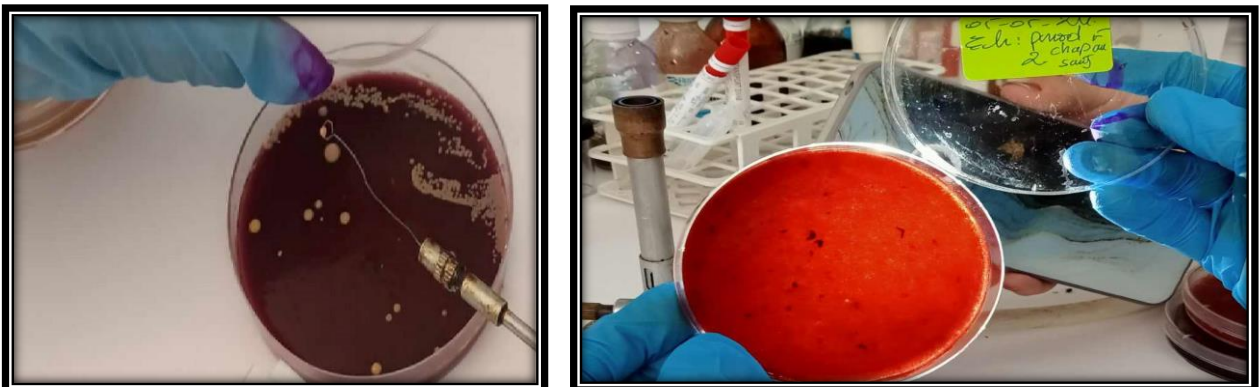


Figure N°15 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°2 sur chapman au sang recto/verso

RÉSULTATS ET DISCUSSION

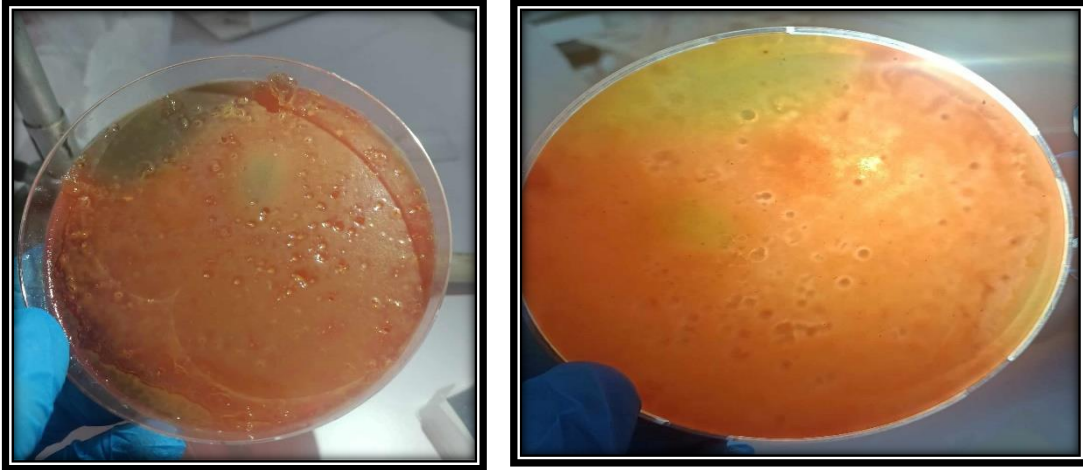


Figure N°16: Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°2 sur Hektoen au sang recto/verso

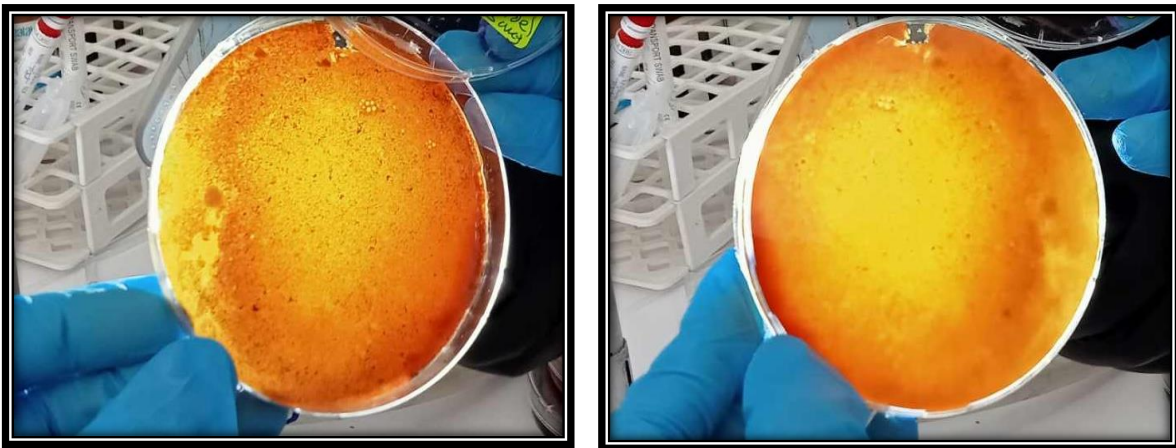


Figure N°17: Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°2 sur MacConkey au sang recto/verso

Echantillon numéro 03 :

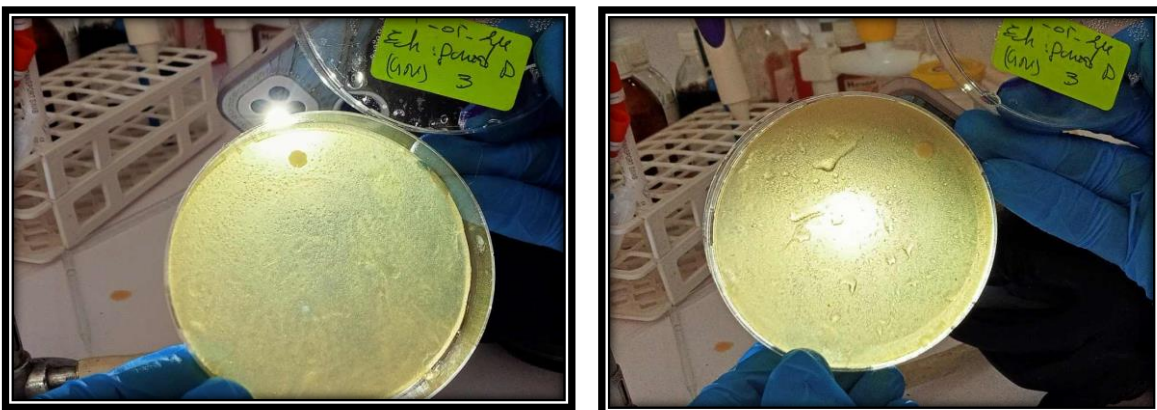


Figure N°18 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°3 sur gélose nutritive recto/vers

RÉSULTATS ET DISCUSSION

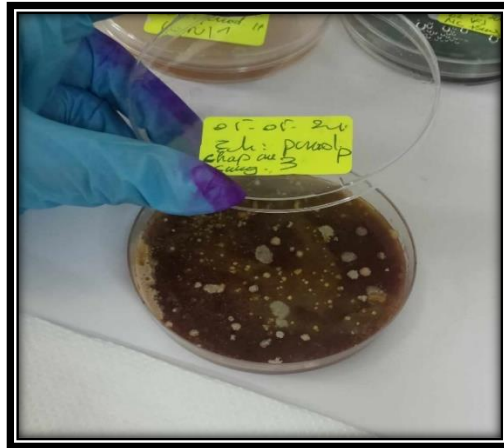


Figure N°19: Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°3 sur Chapman au sang recto.



Figure N°20 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°3 sur le milieu hektoene au sang recto/verso

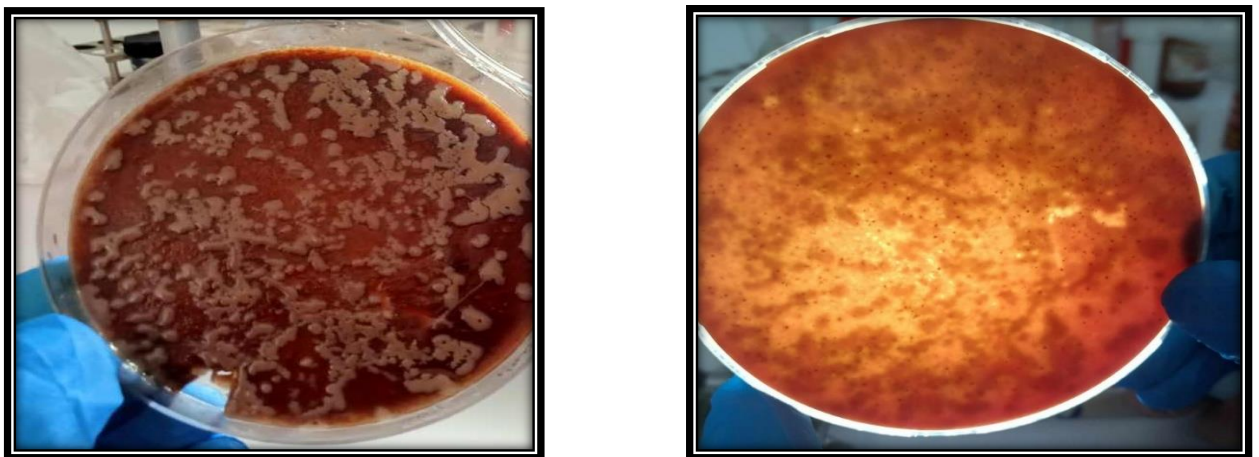


Figure N° 21 : Aspect macroscopique des isolats de l'échantillon N°3 sur le milieu macConkey au sang recto/verso

RÉSULTATS ET DISCUSSION

5-1-2 Résultats d'état frais et coloration de Gram :

Tableau 04 : Observation microscopique des souches testées.

Le milieu		Type d'examen	Etat frais	Coloration de Gram
	Echantillon			
Gélose nutritive	N ⁰ 1 en surface		Cellule eucaryote ,levure	/
Chapman	N ⁰ 2 en surface		Cocci,immobile,en chaînette	G ⁺
	N ⁰ 3 en surface		Cocci,immobile,en chaînette	G ⁺
Hektoene	N ⁰ 2 en profondeur		Cocci, immobile ,regroupé en amas,diplocoque,enchainette	G ⁻
	N ⁰ 3 en profondeur		Bacilles, immobile regroupé en amas	G ⁻
	N ⁰ 2 en surface		Présence de tête aspergillaire avec un hyphe	/
Macconkey	N ⁰ 1 en profondeur		Cocci ,immobile, regroupé en amas ,diplocoque, en chaînette	G ⁻
	N ⁰ 2 en profondeur		Bacilles, immobile regroupé en diplobacille	G ⁻

G⁻ (Gram négatif) G⁺ (Gram positif)



Figure N° 22 :levure prélevé à partir de la GN de l'échantillon n⁰1 obj x (40)



Figure n° 23 : état frais de l'isolat de l'échantillon n⁰2 prélevé à partir de chapman obj x40

RÉSULTATS ET DISCUSSION

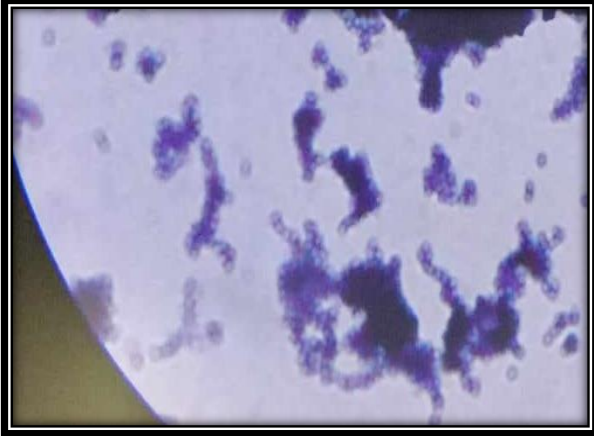


Figure N° 24 : coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n°2 prélevé à partir de chapman obj x100



Figure N°25 : état frais de l'isolat de l'échantillon n°3 prélevé à partir de chapman obj x 40

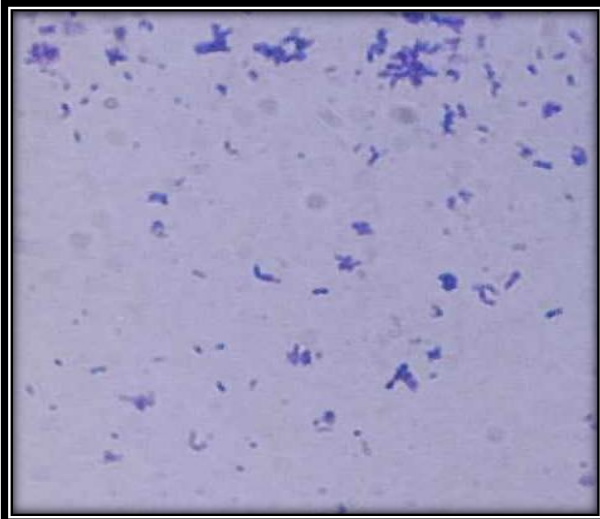


Figure N° 26: coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n°3 prélevé à partir de chapmane obj x100



Figure N° 27 : état frais de l'isolat de l'échantillon n°2 prélevé à partir de hektoene obj x40

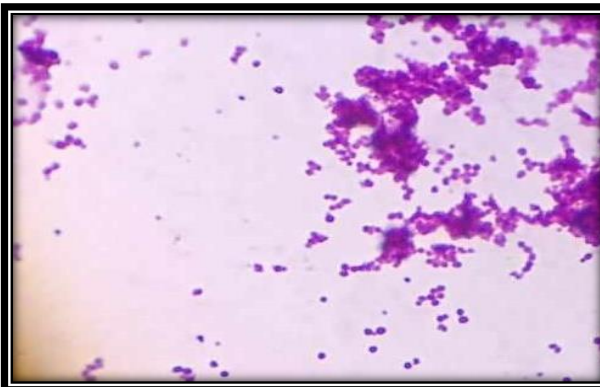


Figure N° 28 : coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n°2 prélevé à partir de l'hektoen obj x100



Figure N° 29 : état frais de l'isolat de l'échantillon n°3 prélevé à partir de l'hektoene obj x40

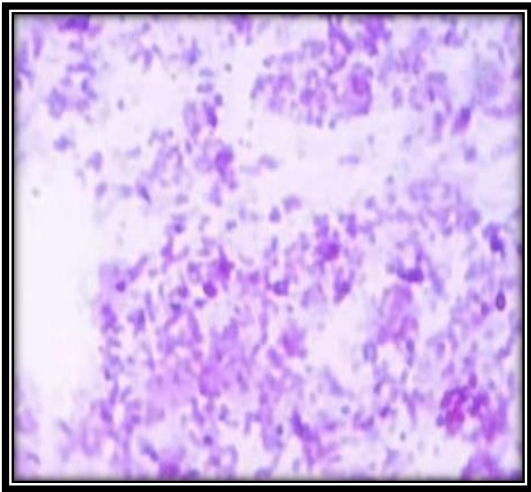


Figure N ° 30 : coloration de la Gram de l'isolat de l'échantillon n⁰3 prélevé à partir de l'hektoen obj x100



Figure N ° 31 : état frais de l'isolat de l'échantillon n⁰2 prélevé à partir de l'Hektoene objx40

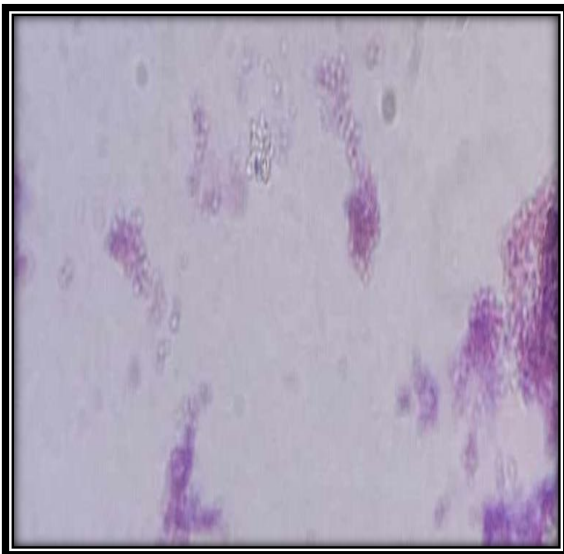


Figure N ° 32 : coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n⁰1 prélevé à partir de macConkey obj x100



Figure N°33: état frais de l'isolat de l'échantillon n⁰2 prélevé à partir de macConkey obj x40

RÉSULTATS ET DISCUSSION

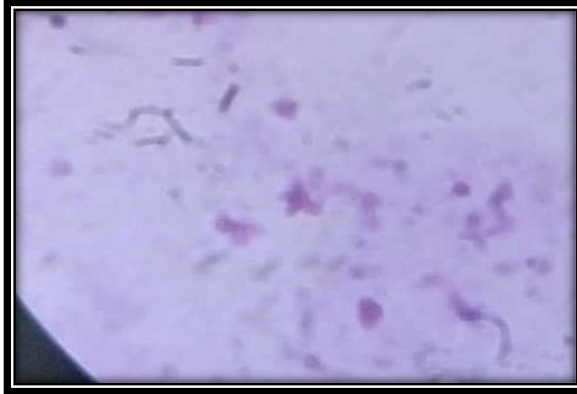


Figure N °34: coloration de Gram de l'isolat de l'échantillon n°2 prélevé à partir de macConkey obj x100

5-2 Résultats des tests biochimiques :

5-2-1 Résultats d'identification par VITEK2 :

Tableau N° 05 : résultat de l'identification par VITEK2

Information sur l'identification	Heure de l'analyse	Etat : final
Germe sélectionné	91% Probabilité	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris</i>
Commentaire sur l'ident.		

5-2-2 Résultats des galeries biochimique :

5-2-2-1 Résultat Galerie API 20 E :

RÉSULTATS ET DISCUSSION



API 20E+ (version 4.1)		Proba	typicité	Incompa.	Test sur proba	Test sur typicité	BUG
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i>	0,980	-1,00	0	Excellente Id	mauvaise typicité	-
2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,01	-1,33	0	mauvaise indentific	mauvaise typicité	-
3	<i>Raoultella terrigena</i>	0,009	-1,33	1	mauvaise indentific	mauvaise typicité	-
4	<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,000	-1,61	0	mauvaise indentific	mauvaise typicité	-
5	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	0,000	-1,67	1	mauvaise indentific	mauvaise typicité	-

API 20 E 4 1 02/2006	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MOB	McC	OF10	OF16
profil	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	?	?	?	?	?	?

Figure N° 35 : résultat de la GALRI API 20E après incubation de 24h

5-2-2-2 Résultat Galerie API 20N E :



API 20 NE 7.0 (02/2006)		Proba	typicité	Incompa.	Te
1	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	0,993	0,44	1	Exc
2	<i>Mannheimia haemolytica</i> / <i>Pasteurella trehalosi</i>	0,006	-0,02	1	mau
3	<i>Photobacterium damsella</i>	0,001	-0,14	1	mau
4	<i>Pasteurella</i> spp	0,000	-0,31	0	mauv
5	<i>Psychrobacter phenylpyruvicus</i>	0,000	-0,33	4	mauv

API 20 NE 7.0 (02/2006)	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	IGLU	IARA	IMNE	IMAN	INAG	IMAL	IGNT	ICAP	IADI	IMLT	ICTI	IPAC					
profil	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Figure N° 36: résultat de la GALRI API 20N E après incubation de 24h

RÉSULTATS ET DISCUSSION

6- Résultats de l'activité antimicrobienne :

6-1 Activité antibactérienne

6-1-1 Résultats de l'antibiogramme et l'aromatogramme :

Tableau N°06 : Les diamètres d'inhibitions des souches testées après 24h

Les souches testées		<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> G-	<i>Pasteurella pneumotropica</i> G-	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis</i> G+
Les boîtes De pétri				
1 ^{er} boîte : Antibiotique + Témoin	AMC (Amoxicilline+ac clavulanique)	17mm intermédiaire	14mm intermédiaire	résistant
	AX amoxicilline	15mm Intermédiaire	11mm résistant	résistant
	SP spiramycine	13mm résistant	07mm résistant	23mm intermédiaire
2eme boîte : Antibiotique +disque des Huiles	AMC (Amoxicilline+ac clavulanique)	20mm intermédiaire	14mm intermédiaire	Résistant
	AX amoxicilline	19mm intermédiaire	11mm Résistant	Résistant
	SP spiramycine	13mm résistant	07mm résistant	23mm intermédiaire
	C+L (Clou de girofle+huile de lentisque)	20mm Extrêmement sensible	24 mm Extrêmement sensible	Résistant
3eme boîte : Les disques des huiles et extrait	(Clou de girofle)	39mm Extrêmement sensible	28.5mm Extrêmement sensible	23mm Extrêmement sensible
	L (huile de lentisque)	résistant	résistant	résistant
	E (Extrait aqueux d' <i>Inula viscosa</i>)	résistant	résistant	résistant

Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae :

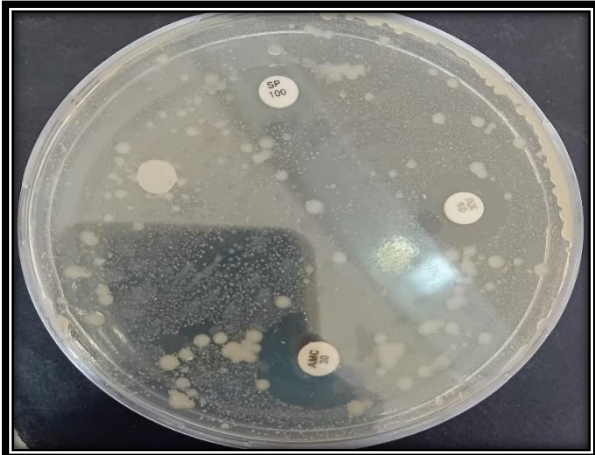


Figure N° 37 : résultat de l'antibiogramme *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*

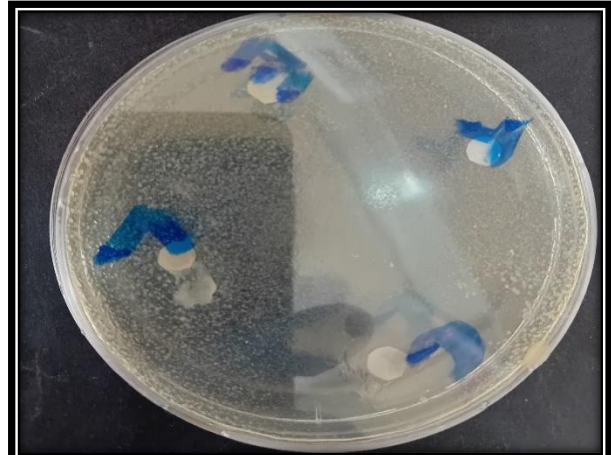


Figure N° 38 : résultat de l'aromatogramme *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*

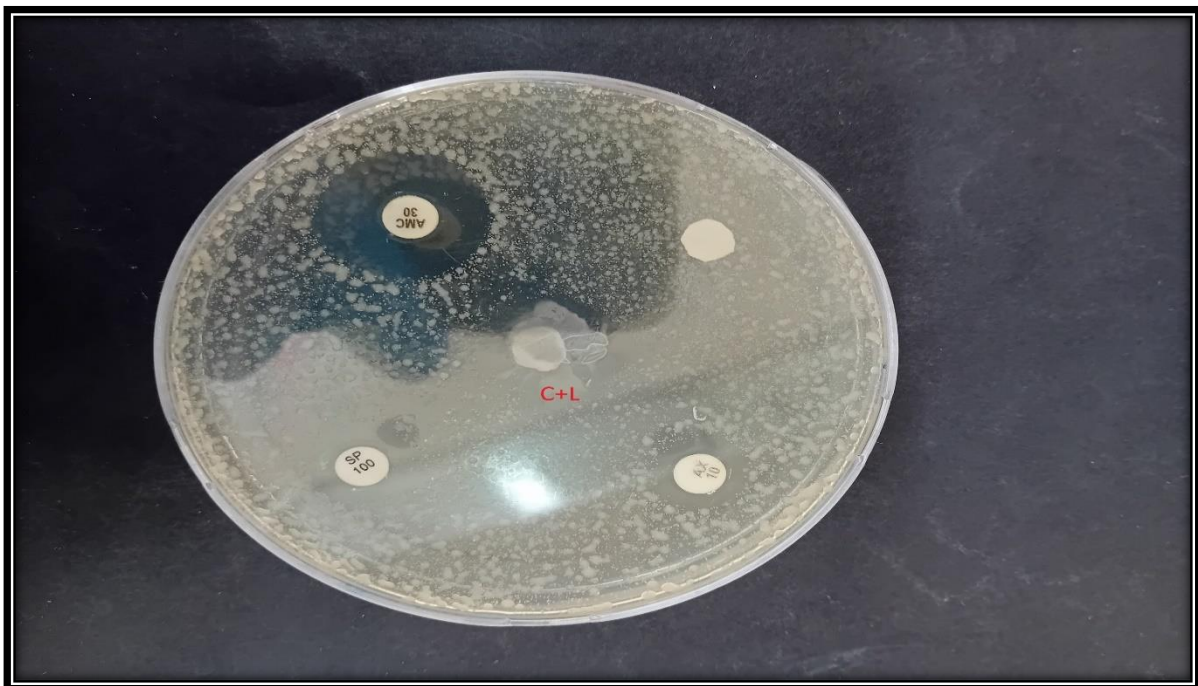


Figure N° 39 : résultat de l'effet synergique entre les Antibiotiques et les deux huiles(huile essentielle de clou de girofle **C** et l'huile végétale de *Pistacia lenticus* **L**) sur *Klebsiella pneumoniae ssp. Pneumoniae*

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Pasteurella pneumotropica :

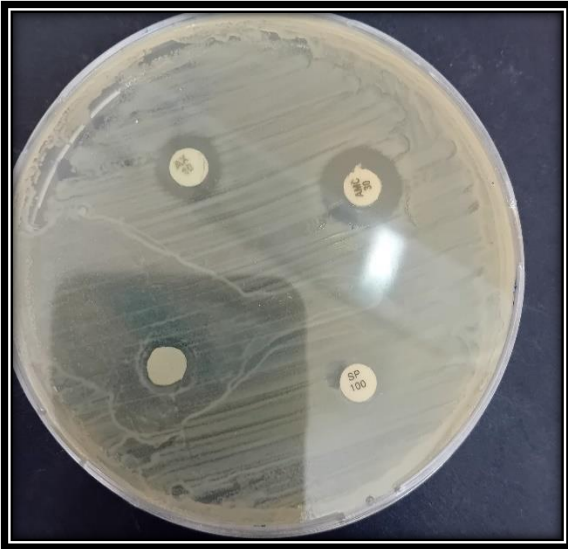


Figure N°40 : résultat de l'antibiogramme *Pasteurella pneumotropica*

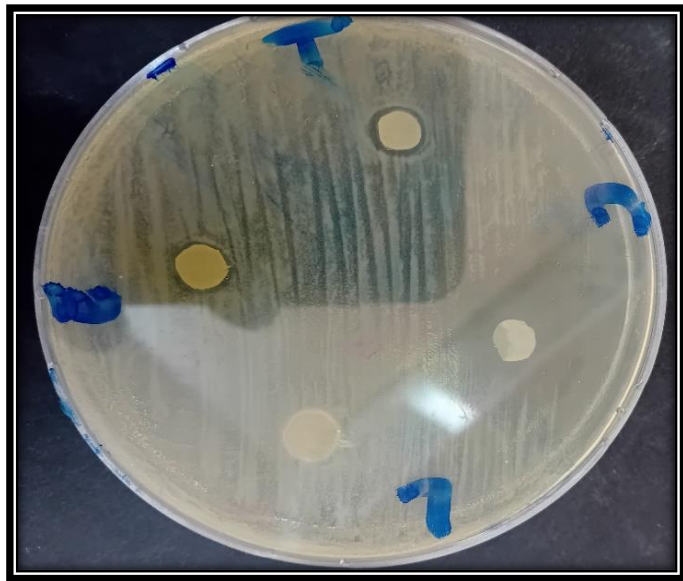


Figure N°41 : résultat de l'aromatogramme *Pasteurella pneumotropica*

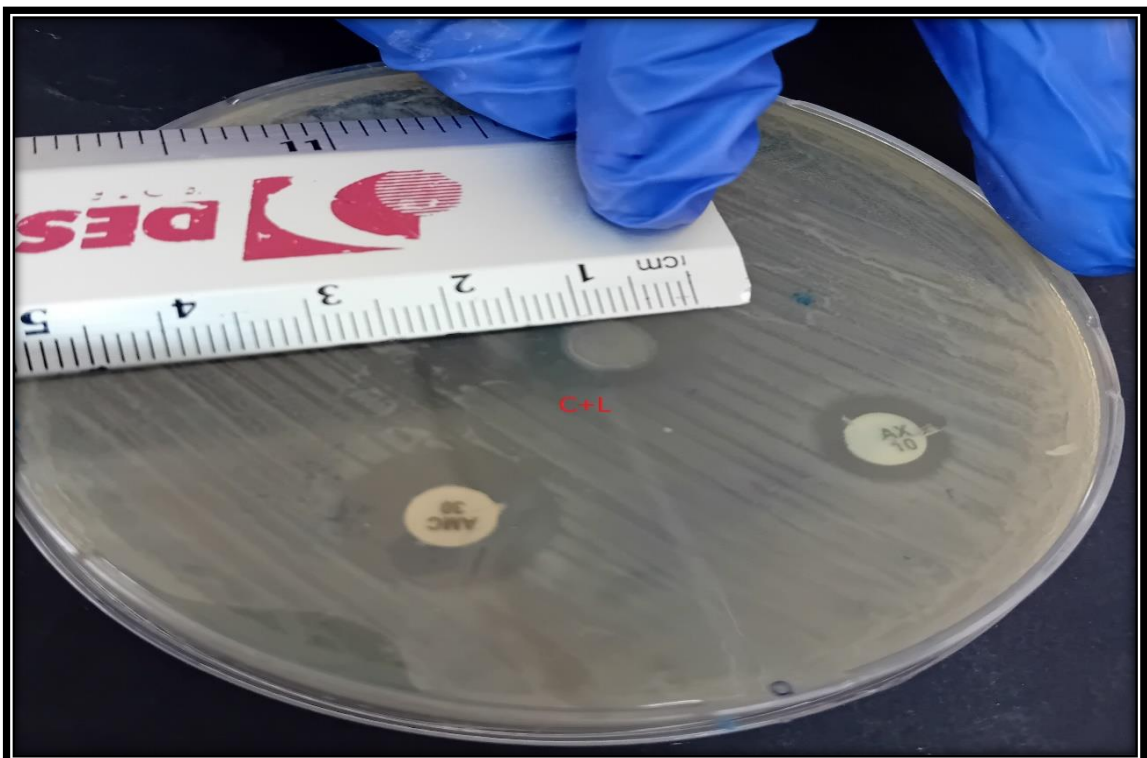


Figure N°42 : résultat de l'effet synergique entre les antibiotiques et les deux huiles(huile essentielle de clou de girofle C et l'huile végétale de *Pistacia lenticus* L) sur *Pasteurella pneumotropica*.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis :

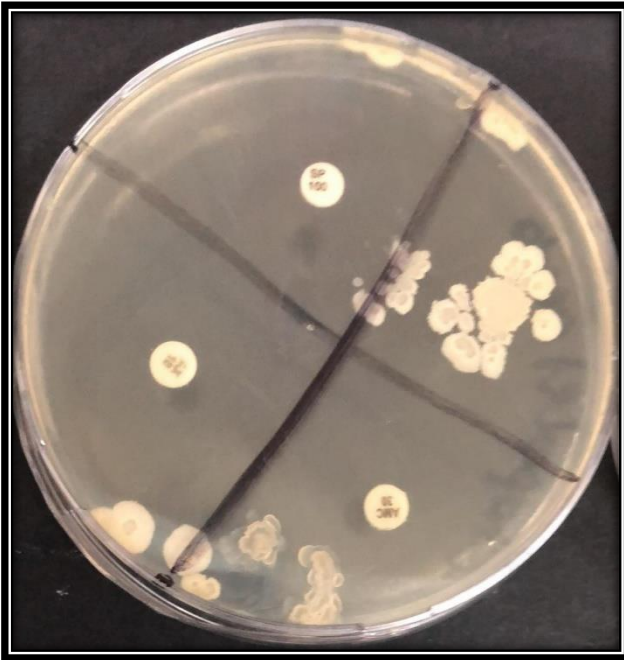


Figure N°43 : résultat de l'antibiogramme
Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis



Figure N°44 : résultat de l'aromatogramme
Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis

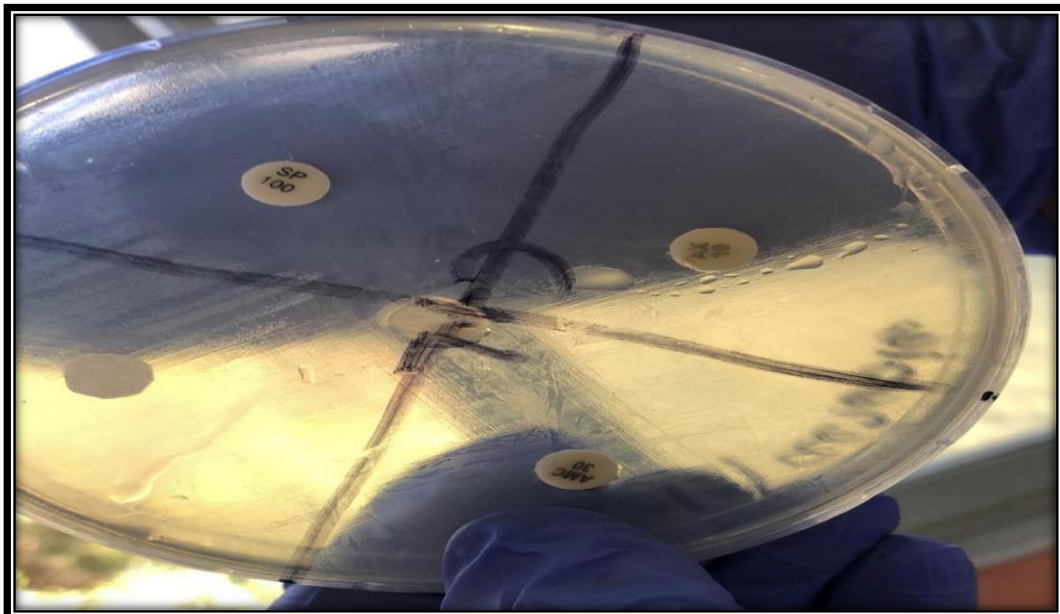


Figure N°45 : résultat de l'effet synergique entre les antibiotiques et les deux huiles (huile essentielle de clou de girofle C et l'huile végétale de *Pistacia lenticus* L) sur *Leuconostoc mesenteroides ssp. Cremosis*.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

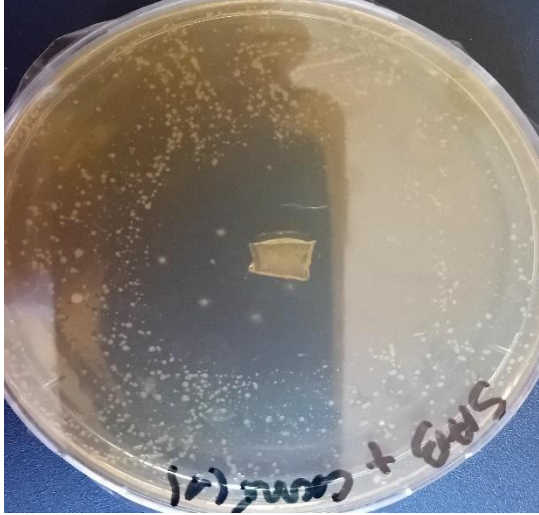



6-2 Résultats de l'activité antifongique :

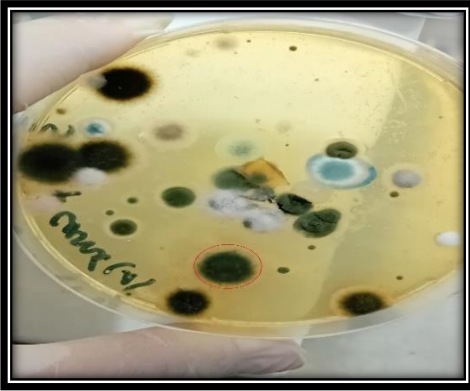
6-2-1 Résultat du repiquage sur Sabouraud+Chloramphénicol :



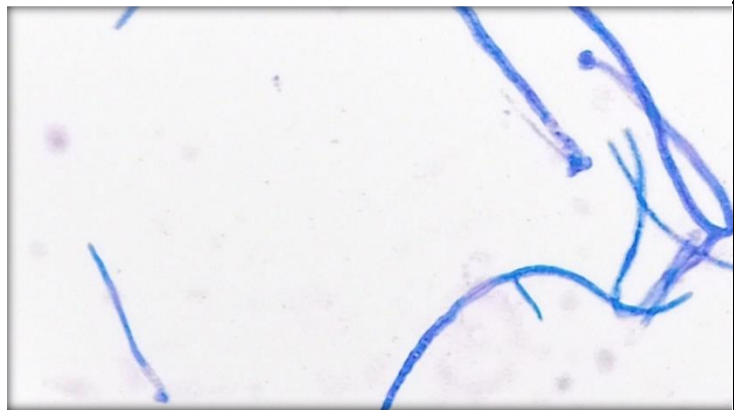
Figure N° 46 : observation macroscopique du repiquage de l'isolat de l'échantillon N°2 depuis la surface de l'Hektoene

Tableau N° 07 : résultats macroscopique et microscopique de la boîte du témoin

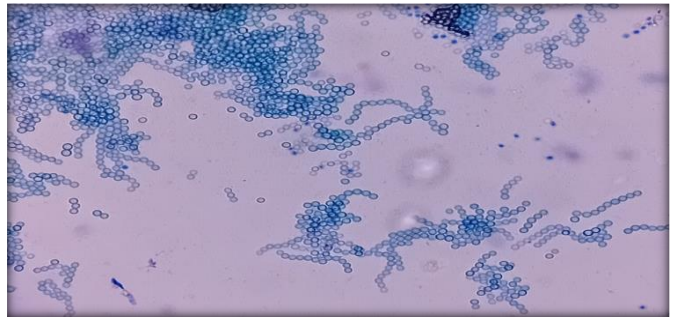
La boîte du témoin	Observation sous microscope
 <p data-bbox="343 1478 710 1612">SAB + CHL (1)</p> <p data-bbox="406 1635 486 1668">J 24H</p> 	 <p data-bbox="738 1512 1390 1601">On observe la présence du champignon <i>Alternaria alternata</i></p>  <p data-bbox="1141 1948 1276 1993">Alternaria alternata - Ahwatukee Allergist</p> <a data-bbox="1348 1960 1428 1993" href="#">Consulter >



J 48H



1 -On observe la présence d'un hyphe septé avec une tête évasée



2-On observe des spores en chainettes



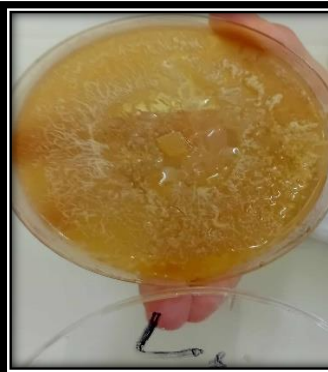

Depuis les observation 1 et 2 et +observation macroscopique qui a donné une coloration verte sur le milieu Hektoen au sang



Et selon Chardin et Barsotti (2006), le champignon peut être rattacher à *Aspergillus fumigatus*

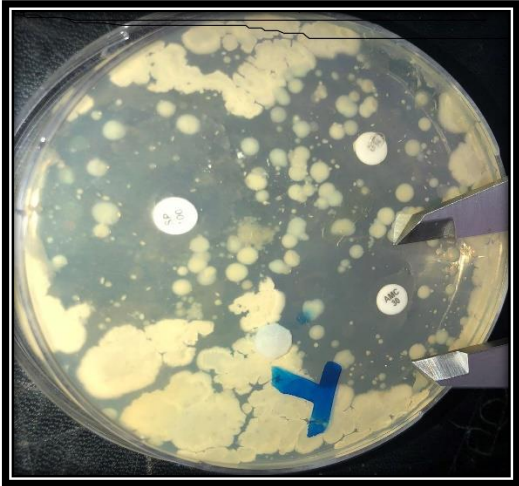
RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau N°08 : résultat de l'activité antifongique des huiles essentielles étudiées et de l'extrait aqueux

TEMOIN	HE CLOU DE GIROFLE	HUILE DE LENTISQUE	EXTRAIT DE L'INNEUL VISQUEUSE
			

7 Résultats de l'activité antibactérienne du consortium en anaérobiose :

Tableau N°09 : résultat de l'antibiogramme et aromatoگرامme avec l'effet synergique sur le consortium en anaérobiose

Observation macroscopique	Les diamètres d'inhibitions
	<p>AMC=29.40mm sensible AMC (amoxicilline+ AC clavulanique)</p> <p>AX=14.14mm intermediaire AX(amoxicilline)</p> <p>SP=résistant SP(spiramycine)</p> <p>T(témoin)</p>

RÉSULTATS ET DISCUSSION



C=18.46 mm très sensible

C (huile essentielle de clou de girofle)

T(témoin)



Résistant

E (extrait aqueux d'*Inula viscosa*)

T(témoin)



Résistant

L (l'huile végétale de lentisque)

T(témoin)

Discussion :

Les résultats obtenus dans le cadre du rendement d'HE de l'espèce *Syzygium aromaticum* « tableau n°02 » montrent que le rendement en huiles essentielles obtenues à partir des clous de girofle est de l'ordre de 2.06 % ce taux semble significativement inférieur par rapport au norme **AFNOR** ,

Les résultats présentés par l'étude de **Louni (2013)** dans la région de Tizi Ouzou en Algérie indique un rendement en huile essentielle de 11% ces résultats sont relativement loin des résultats obtenus à notre niveau « laboratoire de physiologie végétale ENST AZABA commune de SKIKDA ».

Par ailleurs les études réalisées par **Banouh et al (2019)** sur l'espèce provenant de Bouira en Algérie, montré un rendement en huile essentielle de 3.5%.

En revanche, le résultat en rendement inférieur à celui que nous avons obtenu a été rapporté par **Adli (2015) est** de l'ordre de 0.84%

Selon certains auteurs, la composition chimique et le rendement en H.E. varient suivant diverses conditions :

la méthode employée, les parties végétales utilisées et les produits et réactifs utilisés pendant l'extraction, l'environnement, le génotype de la plante, son origine géographique, la période de récolte de cette plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, la température et la durée de séchage, présence de parasites, de virus et mauvaises herbes (**Naili,2013**).

Les résultats obtenus par les galeries biochimiques révèlent la présence de : *Klebsiella pneumoniae* et *Pasteurella pneumotropica* dans la cavité buccale du patient N°3

Selon les études de **Bekkal (2024)** sur les bactéries à Gram négatif isolées de la cavité buccale des enfants sains *Klebsiella pneumoniae* représente 25% des souches isolées.

Tandis que, *Pasteurella pneumotropica* c'est une bactérie qui existe dans le tractus respiratoire supérieur des mammifères et du tube digestif des oiseaux, cette bactérie est responsable de zoonose, transmet à l'être humain par morsure, léchage de plaie ou griffure par un animal de compagnie.

Le résultat de l'identification par VITEK2 récapitulé dans le tableau N°05 indique la présence de *Leuconostoc mesenteroides ssp cremoris*, c'est une bactérie lactique qui se trouve dans les produits laitiers consommés par l'être humain le tableau présenté par **Desmazeaud (1996)** affirme l'utilisation de *Leuconostoc mesenteroides* en alimentation.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les observations microscopiques et macroscopique réaliser depuis la boîte du témoin et récapituler dans le tableau N⁰⁷ révèlent la présence de *Aspergillus fumigatus* et *Alternaria alternata*.

Sur la boîte du témoin après 24h d'incubation, on observe la présence d'un halo autour de l'inoculum à l'extrémité du halo on observe des colonies de bactéries bacillaires à Gram positif et des bacilles à Gram négatif mobile on peut le rattacher au genre *Pseudomonas* vue sa mobilité et le caractère aérobie , après 48h sur la même boite on observe la disparition des colonies bactériennes et l'apparition des champignons de couleur : vert foncé *Alternaria alternata* , blanches *Aspergillus fumigatus*

Ce changement est dû à un phénomène de compétition, les bactéries qui ont poussé de façons prématurées produisent des métabolites qui jouent le rôle d'un inhibiteur fongique

Après 48 h, la croissance bactérienne atteint la phase de déclin ou le taux de mortalité des bactéries augmente et par conséquent la concentration des métabolites diminue ce qui permet la prolifération du champignon *Aspergillus fumigatus*

Les résultats des études de **Anatte et al (2021)** explique ce phénomène sur le plan moléculaire

Le champignon *Alternaria alternata* est omniprésent on le trouve partout, issue principalement du sol, cette levure peut se trouver dans la voie respiratoire supérieure de l'homme selon **Laurence (2012)** *Alternaria alternata* est une espèce toxique et pathogène. Elle peut provoquer chez l'Homme des affections épidermiques, des allergies respiratoires, de l'asthme, des leucopénies (dues aux mycotoxines), des mycoses cutanées et des rhinites.

Les résultats obtenus dans le cadre des diamètres d'inhibitions des souches testées après 24h Tableau N⁰⁶ montre que les souches **G⁻** : *Klebsiella pneumoniae* – *Pasteurella pneumotropica* et la souche **G⁺** : *Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis* sont très sensibles à l'huile essentielle de clou de girofle, avec des diamètres d'inhibition de :39 mm,28.5 mm et 23 mm respectivement.

On note que l'huile essentielle est efficace sur les bactéries à **G⁺** et à **G⁻**, les travaux **d'Arnaud (2016)** indique une activité antibactérienne de l'huile essentielle de clou de girofle sur des bactéries parodontopathogène les souches bactériennes testée étaient *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*. Les résultats ont montré une CMI de 4 µg/ml sur *Actinobacillus actinomycetemcomitans* et *Capnocytophaga gingivalis*, 1 µg/ml sur *Fusobacterium nucleatum*, 2 µg/ml sur *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella intermedia*.

L'huile essentielle de clou de girofle est composée essentiellement de l'eugénol à 75%-85%

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'eugénol dégrade la membrane externe, pénètre dans la bicouche lipidique, se positionne entre les chaînes d'acides gras. Il entraîne une modification de la structure membranaire. Cet endommagement de la paroi cellulaire accroît sa fluidité, et entraîne une inhibition de l'activité des ATP synthases (Gill et al.,2006).

En revanche, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de clou de girofle est plus importante que les antibiotiques utilisés Tableau N^o6, les 3 souches testées sont très sensibles à l'huile essentielle de clou de girofle alors que l'AMC(amoxicilline +acide clavulanique) a un effet intermédiaire sur *Klebsiella pneumoniae* et *Pasteurella pneumotropica* et résistant sur *Leuconostoc mesenteroides ssp cremosis*, AX(amoxicilline) : a un effet intermédiaire sur *Klebsiella* et résistant sur les 2 souches restantes, SP(spiramycine) : a un effet intermédiaire sur *Leuconostoc* et résistant sur *Klebsiella* et *Pasteurella*.

Ces résultats sont dus au phénomène de l'antibiorésistance, mais on observe que l'efficacité des antibiotiques AX(amoxicilline) et l'AMC(amoxicilline+acide clavulanique) sur *Klebsiella pneumoniae* sont améliorées avec la présence du disque huileux(huile essentielle de clou de girofle +l'huile végétale de lentisque) ,le diamètre d'inhibition de l'AMC(amoxicilline+acide clavulanique) passe de 17 mm à 20 mm et AX(amoxicilline) passe de 15 mm à 19 mm sur la souche *Klebsiella pneumoniae*, ces résultats s'expliquent par la présence d'un effet synergique entre l'huile essentielle de clou de girofle et les antibiotiques, selon Hemaiswarya et al (2009) l'interaction de l'eugénol avec dix antibiotiques hydrophobes et hydrophiles différents a été étudiées contre cinq bactéries Gram(-) différentes. Les CMI de l'association eugénols/antibiotiques ont été diminuées d'un facteur de 5 à 1000 par rapport aux CMI individuelles des antibiotiques. Cette synergie s'explique par la capacité d'endommagement de l'eugénol sur la membrane bactérienne, qui potentialise l'action des antibiotiques sur les bactéries anaérobies. En effet, 1 millimole d'eugénol induit une dégradation de 50% de la paroi bactérienne. L'eugénol améliore également l'activité du lysozyme, enzyme qui attaque les peptidoglycanes de la paroi des bactéries. Les antibiotiques hydrophiles, tels que la vancomycine et les β -lactamines, ayant une activité marginale sur ces bactéries Gram (-) présentent une activité antibactérienne améliorée avec une application locale d'eugénol. Cet effet s'explique par la capacité de l'eugénol à endommager les membranes et de permettre une meilleure pénétration des antibiotiques dans les cellules cibles.

Les résultats obtenus présentés dans le tableau N^o9 indiquent l'effet très sensible de l'huile essentielle de clou de Girofle de même que l'AMC (amoxicilline+ acide clavulanique) sur le consortium qui contient une partie de la microflore buccale prélevée de la cavité buccale du patient

RÉSULTATS ET DISCUSSION

N⁰¹ autrement dit l'huile essentielle à un large spectre d'efficacité d'où l'intérêt de déterminer une posologie d'utilisation afin d'éviter des effets secondaires.

L'expérience menée sur l'activité antifongique a révélé des résultats positifs qui sont récapitulés dans le tableau N⁰⁸, l'huile essentielle possède une activité contre *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus*.

Les travaux publiés par **Ighil (2011)** confirme l'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle testé sur *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* et *Fusarium culmorum*

Des travaux similaires ont démontré l'activité antifongique de l'huile essentielle in vitro (**Danielle ,2011**)

Les résultats concernant L'huile végétale de *Pistacia lentiscus* présenté dans le Tableau N⁰⁶ montres que l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* n'a aucune activité antibactérienne contre les 3 souches étudiées

Les travaux réalisés par **Dris (2020)** confirme un bon effet inhibiteur de l'huile essentielle de *P. lentiscus* sur les six souches de référence testées, des valeurs de diamètre de zones d'inhibition satisfaisantes (16,71 ; 20,07 ; 12 ; 19 ; 19,56 et 23 mm) et des valeurs de CMI (0.0625, 0.0625, 0.0625, 0.25, 0.25 et 0.125 %) pour les bactéries : *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*, respectivement.

La différence entre les techniques d'extraction de l'huile est un facteur primordial qui affecte la qualité antibactérienne de l'huile, ce qui explique la différence des résultats obtenus et les résultats apparus selon l'étude de **Dris (2020)**

D'autres expériences réalisées par **Paola et al (2023)** ont mis en évidence l'activité antibactérienne de l'extrait de l'huile essentielle et de la résine de mastic de *Pistacia lentiscus*, contre les microorganismes pertinents dans les maladies associées au biofilm oral.

D'autre part, les résultats exposés dans le tableau N⁰⁸ montres que l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* à un effet antifongique contre *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus*.

Selon **Paola et al (2023)** l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a inhibé la croissance de *Candida albicans*.

Les informations figurant dans le tableau N⁰⁶ révèlent que l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* ne possède pas d'activité antibactérienne contre les souches testées.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Par contre les études réalisées par **Ezzeroug.c (2017)** montrent que l'extrait méthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* a montré l'activité la plus importante, par rapport aux autres extraits contre les souches testées, beaucoup plus contre les Gram positifs ou le diamètre de zone d'inhibition le plus important a été observé pour les SARM « Staphylococcus aureus résistant à la méticilline » (15.33+-0.5 mm).

En outre, il convient de préciser que les travaux de **Rekkal et al (2016)** indiquent que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Inula viscosa* réalisé par la méthode de macération présente une légère inhibition sur la croissance de *E.coli* et *Klebsiella pneumoniae*

Ces résultats controversés s'expliquent par la différence des méthodes d'extraction utilisées, l'extraction méthanolique semble plus efficace que l'extraction aqueuse

Selon le tableau récapitulatif N°8 l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* a une activité antifongique modéré.

Les travaux de **Rekkal (2016)** affirment qu'aucun effet inhibiteur n'a été remarqué sur la souche *Aspergillus niger*

CONCLUSION

Cette étude avait pour objectif d'étudier l'activité antimicrobienne de 3 extraits de plantes : L'huile essentielle de clou de girofle extraite par hydrodistillation type clevenger de la plante *Syzygium aromaticum* et l'huile végétale de lentisque extraite par la méthode traditionnelle depuis la plante *Pistacia lentiscus* et l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* contre 3 souches bactériennes et 2 souches fongiques.

Les résultats de l'aromatogramme ont montré que l'huile essentielle de clou de girofle présente une activité antibactérienne et antifongique à l'égard de toutes les souches testées, ainsi que sur le consortium qui nous conduits a déclaré que l'huile essentielle de clou de girofle à un large spectre d'activité.

Tandis que, l'huile végétale de lentisque et l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* possèdent uniquement une activité antifongique.

Cependant des études complémentaires seront nécessaires :

- Analyse physico-chimique de l'huile essentielle ;
 - Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) ;
 - Teste de la capacité des isolats à produire les EPS ;
 - Approfondir les études pour déterminer les CMI et CMB ;
- Etudier d'autres activités biologiques (antioxydante, antivirale, anti-inflammatoire, insecticide, antiparasitaires ...) des huiles et des extraits.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

[A]

- Adli D., (2015) .Effets prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle) chez les rats wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de Biologie ,114 p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation),. (2000). Recueil des normes françaises 'huiles essentielles' Monographies relatives aux huiles essentielles AFNOR, Paris.
- Amarti F . Satrani B . Aafi A . Ghanmi M . Farah A . Aberchane M . El Ajjouri M .El Antry S et Chaouch A.,(2008). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc *Phytothérapie* 6, 342–347.
- Anatte M.James C. and Kevin Kavanagh.,(2021) . Bacterial Interactions with *Aspergillus fumigatus* in the Immunocompromised Lung. Raquel Sabino, Academic Editor2021 Feb; 9(2): 435.
- Arnaud P.,(2016) .Place des huiles essentielles dans le protocole de prise en charge des maladies parodontales *Sciences pharmaceutiques* .dumas-01531878.
- Audrey Z .,(2014) .L'hygiène Bucco-dentaire. Edition Alpen 2014.

[B]

- Banouh R & azzouz A.,(2019) .Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydant de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). université akli mohand oulhadj – Bouira . Filière : Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie Appliquée p 29.
- Bekkal briki I., (2024). Contribution à l'étude des bactéries à Gram négatif isolées de la cavité buccale des enfants sains. (ville de tlemcen).
- Belhadj S.,(2000) .Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Centre Universitaire de Djelfa, Algérie 108 p.
- Ben Douissa F.,(2004) .Etude Chimique et Biologique de *Pistacia lentiscus* .AbeBooks fr, pp 330-331.
- Benayache S. Benayach F. Dendougui H. Jay M .,(1991) .plantes médicinales et phytothérapie .Tome xxvN°4 170-179.
- Benhammou N. Bekkara FA. Panovska TK., (2008) .Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts .*African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2) : 22 - 28 (3) .
- Benmeddour . T Laouer H. Benabdi, A. Brahimi, S., (2015). Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de trois espèces du genre *Allium* : *A cepa*, *fistulosum* et *sativum* cultivées dans le périmètre agricole de Doussen (Wilaya de Biskra). *Courrier du savoir*, 19, 9-14.
- Bouchard P .Brochery B .Feghali M . Jaumet V . Kerner S . Korngold S et coll., (2014). *Parodontologie & dentisterie implantaire* .Volume 1 Paris : Lavoisier ; XXVII-682 p.
- Boussaboua H.,(2005). *Élément de microbiologie* .2 Emme Edition p 244.
- Bugueno V& Isaac M., (2019). Impact de l'infection par *Porphyromonas gingivalis* sur la réponse inflammatoire locale et systémique .*Microbiologie et Parasitologie* .Université de Strasbourg.

[C]

- Cardin .Barsotti., (2006) .Microbiologie en odonto-stomatologie .Edition Maloine.
- Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie Communiqué 2006 (Edition de Janvier 2006)

[D]

- Danielle C., (2011) .Fiche Technique Bactériologie : Entérobactérie cloacale .Laboratoire de Bactériologie Hygiène Toulouse p1-2.
- Damian P. Damian K., (1995). Aromatherapy : Scent and Psyche ; Using Essential Oils for Physical and Emotional Well-Being .edition Healing Arts Press, 264.
- Davido N . kazutoyo Y.,(2014). médecine orale et chirurgie orale parodontologie .edition Maloine.
- Desmazeaud ., (1996) .cahier agriculture 1996;5:331-43 INRA unité de recherche laitières ,78352 jouy-en-josas codex, France.
- Dris I.,(2020) .Caractérisation chimique des huiles essentielles de Pistacia lentiscus L Evaluation du pouvoir antimicrobien et antioxydant.

[E]

- Ezzeroug C. oucif S.,(2017) .Isolement, identification et profil de résistance de germes isolé à partir de différents sites de prélèvement et l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits d'une plante médicinale Inula viscosa. L'université de Blida.

[F]

- Fresque J L .Aguiirre C . Baguena M.J .Lopez M . Tronchoni J.,(1993). Médicaments et aliments: L'approche ethnopharmacologique 207-214.

[G]

- Gilbert J &Woods S M., (2006). Strategies and considerations for multi-location FHB screening nurseries In: Ban T, Lewis J M, Phipps E E (eds) The global Fusarium initiative for international collaboration: A strategic planning workshop held at CIMMYT. El Batán, Mexico ; March 14 - 17, 2006 CIMMYT, Mexico, pp 93102.
- Gill AO. Holley Ra., (2006). Inhibition of membrane bound ATPases of Escherichia coli and Listeria monocytogenes by plant oil aromatics .International Journal of Food Microbiology 2006 ;111(2) :170-4.
- Giner-Larza EM. Manez S. Giner-Pons RM. Recio MC.Rios JL., (2000) .On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species. Journal of Ethnopharmacology, 73(1-2), 61-69.
- Goetz P & Ghedira K.,(2012). Phytothérapie anti-infectieuse .Edition : Springer Verlag France, Paris Pp 4-194.
- Goetz P & le Jeune R.,(2010) .Syzygium Aromaticum L, Merr and Perry (Myrtaceae) giroflier, phytothérapie .p 37-43.
- Guibert J .Goldstein f-w et al.,(1981) .Infection à entérobactérie EMC, Paris, Maladies infectieuses. p 16, 80,105 1981.

[H]

- Hemaiswarya S & Doble M., (2009) .Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria *Phytomedicine* ;16(11) :997-1005.
- Hernandez V . Recio M. Manaez S .Giner R,Rios J.,(2007). *Sci dir Vol 81(6)* 480-488.

[L]

- Lallemand G., (2022). Rôle de *prophyromonas gingivalis* dans l'étiologie et la progression de l'athérosclérose. université de Lorraine.
- Laurence D., (2012). Morphologie de la levure *Alternaria alternata*. ENS de Lyon Département de Biologie 46, allée d'Italie 69364 LYON CEDEX 07, FRANCE.
- Leroux P. Credet A., (1978) .Document sur l'étude de l'activité des fongicide INRA. Versailles, France, 12 p.
- Louni M., (2013) .Extraction, caractérisation physico-chimique et microbiologique de l'huile essentielle de clou de girofle. université de mouloud maameri TIZI –OUZOU département de chimie p 36.

[M]

- Mazari K. Bendimerad N. Bekhechi C . Fernandez X., (2010) . Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(10), 959-964, 18.
- More D & White J.,(2005) .Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde. 1e édition, Flammarion, 832.

[N]

- Naili N& Kesraoui., (2013). Activité antibactérienne du Cumin velu *Ammodaucus Ntezurubanza*, L,2000 Les huiles essentielles du Rwanda. Ed Laseve, Québec Canada P88.

[O]

- Oussou K R . Kanko C . Guessennd K N . Yolou S . Koukoua G . Dosso M .N'guessan YT . Figueredo G . Chalchat J-C., (2004) . Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d'Ivoire .*C R Chimie*, 7(10-11), 1087-1086p.

[P]

- Pacchioni I . Francolon JC . Morin P., (2014). *Aromathe rapia : tout sur les huiles essentielles : les connaître, les utiliser : beauté, santé, bien-être* Paris. Éditions Aroma thera ; 2014.
- Paola A. Academic Editor. Roberto V. Academic Editor.a Giancarlo A F., (2023). Academic Editor *Antimicrobial Efficiency of Pistacia lentiscus L Derivates against Oral Biofilm-Associated Diseases .A Narrative Review* .
- Pibiri M C., (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de doctorat Polytechniques. Fédérale de Lausanne France.
- Pibiri MC., (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse présentée à la Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit Institut des Infrastructures, des Ressources et de l'Environnement section d'architecture pour l'obtention du grade de Docteur Es-Sciences Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne Suisse.

- Ponce A G.Fritz .Del Valle C. Roura S I.,(2003) .Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss Chard. Food Science And Technology, 36(7), pages :679-684.

[Q]

- Quzel p. santa S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales Edition des centre National de la recherche scientifique. Tome II.

- Rakotoatimanana B V et *al.*, (1999) .Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles .mémoire de fin d'études, Département Génie Chimique, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo ESPA . Université d'Antananarivo.

[R]

- Rekkal M &Maachou O., (2016). contribution à l'étude de l'activité antimicrobien de l'extrait aqueux d'inula viscosa. université mouloud mammeri.

- Rosato A. Piarulli M.Corbo F. Muraglia M. Carone A.Vitali M E .Vitali C., (2010) . In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils Current Medicinal Chemistry 17, 3289-3295.

[S]

- Saadoun S N., (2002). Types stomatiques du genre Pistacia : Pistacia atlantica Desf ssp Atlantica et Pistacia lentiscus L Natural Resources Laboratory . Cité des 300 Logements, Bt. F2, No 183, Boukhalfa, Tizi-Ouzou, Algérie Options Méditerranéennes, Série A, N°63 P 371.

- Sylvie GT et. *al* (2021). Porphyromonas gingivalis : where do we stand in our battle against this oral pathogen? -RSC Medicinal Chemistry.

[T]

- Tassou,C.C & G.Nychas., (1995). Antimicrobial activity of the essential oil of Pistacia lentiscus on gram positive and gram negative bacteria in broth and in model food system International biodétérioration & biodégradation .36 (3) 411-420.

[V]

- Vedel G., (2005). Simple méthode to determine B-lactam resistance phenotype in pseudomonas aeruginosa usingthe disc agar diffusion test. journal of antimicrobialchemothérapie 56(4) :657-664.

- Vagi E. Simandi EB. Suhajda A. Hethelyi E., (2005). Essential oil composition and antimicrobial activity of origanum marorana L extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide . Food Research International, 38, 51-57.

[W]

- Walter C B., (2000). the acquisition of antibiotic resistance in the periodontal Microflorza periodontal .10 pp1-6.

[X]

- Xi Y. Chen,J .He J.,(2014) .Antimicrobial resistance and prevalence of resistance genes of obligate anaerobes isolated from periodontal abscesses. Journal periodontal 85(2), pp 327-334.

WEBOGRAPHIE

- (1) <https://walter-learning.com/blog/sante/chirurgien-dentiste/parodontites/parodontite-traitements>
- (2) <file:///C:/Users/Maitre%20Souhila/Desktop/Comment%20utiliser%20les%20huiles%20essentielles%20pour%20eviter%20le%20dechaussement%20des%20dents%20.html>
- (3) <http://www.gerbeaud.com/jardin/decouverte/quelles-plantes-derriere-nos-epices,1006/.html>. Consulté le 19 juillet 2016.
- (4) elearning.univ-msila.dz/moodle/pluginfile.php/271187/mod_resource/content/1/TP_EXTRACTION_DES_HUILES_ESSENTIELLES_D'EUCALYPTUS.pdf 04
- (5) <https://www.lodaites.com/blogs/news/methodes-dextraction-et-cosmetiques>
- (6) <https://www.univ-chlef.dz/fsnv/wp-content/uploads/Tp-de-Syst%C3%A9matique-Bact%C3%A9rienne-RAHMANI-PDF.pdf>
- (7) <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2833541-coloration-de-gram-protocole-resultats-positif/>
- (8) <https://www.biomerieux.ca/fr/product/vitek-2-compact>
- (9) https://www.mediray.co.nz/media/15781/om_biomerieux_test-kits_ot20050_package_insert-20050.pdf
- (10) <https://www.researchgate.net/figure/Maladie-parodontale-et-microbiote-facteurs-influencant-la-dysbiose-Role-poten>